

## DETERMINATION OF ANTIGENIC AND IMMUNOGENIC ACTIVITY OF A ANTHRAX RADIO-VACCINE

Ivanov A.V., Pankov Ya.G., Pankova E.V.

Federal Center of Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan

By radiation of a vaccinal strain *B. anthracis* 55 using  $\gamma$  - ray  $^{60}\text{Co}$  at a dose 20 kGy the radio inactivated version of a vaccinal strain of *B. anthracis* 55 R was obtained. It is established that immunization of animals by the indicated vaccine provides emergency 80–100 % protection of animals against experimental anthrax within 3–15 days after immunization. Results of indirect hemagglutination test and ELISA on the basis of sensibilized a protective antigen of erythrocytes and enzyme marked protective antigen correlate with survival of the infected animals and titers of blood serum protective antibodies at 3,3–6,6  $\log_2$  in IHT and 4,7–9,9  $\log_2$  in ELISA provide 80–100 % protection of animals from experimental anthrax.

УДК 616.24-001:612.017.1.312

## СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ ХІМІОРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Ковальова Г.О.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України»,  
КЗОЗ Обласний протитуберкульозний диспансер № 1, м. Харків

Питання чутливості та резистентності до хіміопрепаратів завжди супроводжує будь-яке інфекційне захворювання. Відомо, що медикаментозна резистентність з'являється внаслідок генетичних мутацій, що відбуваються з частотою  $10^{-7}$ – $10^{-10}$  на одне поділення бактеріальної клітини, що призводить до появи в бактеріальній популяції одного резистентного мікроба на  $10^6$ – $10^8$  чутливих мікроорганізмів. За даними спеціальних досліджень, якщо генетична мутація відбувається за відсутності антибіотику, до якого вона виникла, то цей штам мікроорганізму не відіграє ніякої ролі в решті мікробної популяції, чутливої до ліків. При застосуванні антибіотиків відбувається селекція саме резистентних штамів, особливо при поширених деструктивних процесах, з дуже великою кількістю мікроорганізмів. За неефективного лікування мікроорганізми продовжують розмножуватись з появою нових резистентних мутантів. При туберкульозі (ТБ) резистентність мікобактерії туберкульозу (МБТ) до антибактеріальних препаратів є особливо несприятливим явищем через обмежену кількість існуючих протитуберкульозних препаратів (ПТП). За даними спеціальної літератури, у хворих, які раніше отримували протитуберкульозну терапію, імовірність наявності хіміорезистентності в 4 рази вище, а розширеної медикаментозної резистентності МБТ – в 10 разів вище, ніж у пацієнтів, які отримують лікування вперше. При хіміорезистентному туберкульозі (ХРТБ) відбувається накопичення мутацій, що закріплюються у 2–3 генах, до окремих препаратів при тривалому розмноженні бактерій. Швидкість поширення мультирезистентного туберкульозу (МРТБ) обумовлена високою репродуктивною здатністю хіміорезистентних штамів МБТ, особливо тих, які належать до Пекінської родини. В'єтнам і Естонія вже доповіли про поширеність такого штаму МБТ на їх територіях [1, 2].

Отже, поява ХРТБ пов'язана з втручанням людини та тварин, що відбувається спонтанно в процесі розмноження МБТ.

Дані щодо розповсюдженості резистентних штамів МБТ в різних регіонах України значно відрізняються. Епідеміологія резистентних штамів МБТ вивчена недостатньо та потребує всебічного дослідження.

**Мета роботи.** Визначення структури та профілю медикаментозної резистентності мікобактерій до I ряду ПТП (ізоніазиду (H), рифампіцину (R), стрептоміцину (S), етамбутолу (E)).

**Матеріали та методи досліджень.** Проведено ретроспективний аналіз результатів тесту медикаментозної чутливості (ТМЧ) мікобактерій до ПТП за результатами культуральних досліджень штамів, виділених від хворих бактеріовиділювачів, які перебували на лікуванні у протитуберкульозних стаціонарах Харківської області в 2006–2012 роках. Проведено аналіз звітів бактеріологічних лабораторій, які мали дозвіл на проведення ТМЧ, та обліково-статистичних форм.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Частоту виявлення МБТ та перерозподіл їх щодо чутливих та стійких проаналізовано за період від початку впровадження DOTS в медичну практику до нині. У Харківській області частота виявлення медикаментозно чутливих штамів становила близько половини і мала тенденцію до достовірного зростання (з 46,3 % у 2006 р. до 58,5 % у 2012 р.) та становила в середньому за роки спостереження 59,2 %. Відсоток медикаментозно резистентних штамів серед бактеріовиділювачів, у середньому за період спостереження, становив близько 42,3 %. Таке явище на перший погляд дещо суперечить загальносвітовим тенденціям перебігу епідемії туберкульозу та природнім законам розвитку резистентності. Однак це можна пояснити впровадженням контрольованого лікування з дотриманням пацієнтами режимів та схем застосування ПТП. Тобто, отримані дані підтверджують відсутність поширення резистентності при раціональному застосуванні ПТП.

У структурі медикаментозної резистентності МБТ в роки спостереження переважали мультирезистентні штами (63,7 %), монорезистентні штами становили найменшу частку (18,8 %). Частота виявлення полірезистентних штамів складала 17,5 %. Зростання мультирезистентних штамів вказує на несприятливий перерозподіл в структурі резистентності.

Досліджено профіль моно-, мульти- та полірезистентності мікобактерій. У профілі монорезистентності найменшою серед кількості стійких штамів МБТ до ПТП I ряду виявилась частота етамбутол- та рифампіцинрезистентних штамів і була достовірно низькою (11,6 % і 15,4 % відповідно). Найчастіше в профілі монорезистентності зустрічалися стрептоміцинрезистентні штами – 47,38 %. Питома вага монорезистентних штамів була найбільшою у вперше діагностованих бактеріовиділювачів (57,7 %). Зменшення монорезистентності серед інших категорій хворих пояснюється збільшенням полірезистентних штамів.

Визначено частоту та профіль мультирезистентності та рівні співвідношення мультирезистентного штаму HR з комбінаціями препаратів I ряду. Так, резистентність до комбінації препаратів HR виявлялась в середньому у 8,16 % серед всіх мультирезистентних, хоча спостерігались різкі коливання частоти виявлення у 2006 та 2007 роках (17,2 % та 4,3 %), на наш погляд, за рахунок неповного охопту постановки ТМЧ. Стієкість вилучених ізолятів до комбінації препаратів HRE виявилась найнижчою (3,1 %). Резистентність штамів до комбінації препаратів HRS зустрічалася в середньому у 24,1 % і мала виражені коливання цього показника у 2007 р. порівняно з іншими роками (13,9 %). У той же час, 23,9 % складала резистентність до комбінації HR з іншими препаратами. Заслужують на увагу показники частоти виявлення в структурі мультирезистентності штамів до комбінації препаратів HRES, які разом складають майже половину (46,1 %) в структурі мультирезистентності, причому різке зростання частоти їх виявлення кон-

статовано у 2009 р. У структурі мультирезистентності найчастіше виявляли штами, стійкі до комбінації препаратів HRES та HRS (46,1 % та 24,1 % відповідно), причому ця закономірність зберігалася серед усіх категорій бактеріовиділювачів.

У структурі первинної медикаментозної резистентності МБТ частка монорезистентних штамів становила 21,6 %, приблизно однаково, як і полірезистентних штамів (20,1 %), мультирезистентних - дещо більше половини - 58,3 %.

У структурі вторинної медикаментозної резистентності при рецидивах бактеріального туберкульозу частота виявлення моно- та полірезистентних штамів була достовірно нижчою, ніж у вперше виявлених бактеріовиділювачів, а мультирезистентних, навпаки, зростала в 1,5 рази. Щодо частоти виявлення полірезистентних штамів МБТ, то ймовірної залежності не встановлено поміж всіма групами спостереження, їх середній рівень складав 16,3 %. У структурі вторинної резистентності констатовано перерозподіл із зростанням частоти виявлення мультирезистентних штамів за рахунок зменшення частки моно- та полірезистентних штамів МБТ.

Бактеріологічний моніторинг чутливості штамів МБТ до ПТП вказує на зростання частоти стійкості штамів до ПТП I ряду. Частота виділення мультирезистентних штамів протягом 2006–2008 рр. мала чітку тенденцію до зростання і стабілізувалась в останні роки на рівні близько 51,61 %.

**Висновки.** Вивчення структури, частоти та профілю медикаментозної резистентності дає можливість своєчасно корегувати схеми лікування бактеріовиділювачів і прогнозувати ефективність їх лікування в стаціонарних умовах. Зростання кількості хіміо-резистентних форм бактеріального туберкульозу в сучасних умовах є несприятливим фактором, який суттєво впливає на перебіг епідемії туберкульозу. Вважають, що профілактика медикаментозної резистентності збудника ТБ до ПТП полягає у дотриманні найважливіших принципів хіміотерапії туберкульозу - застосуванні комбінації принаймні чотирьох ПТП з тривалістю лікування не менше семи місяців. Поширеність медикаментозної резистентності відображує якість хіміотерапії [2, 3]. У розробці ефективних препаратів для лікування дослідники йдуть до синтезу нових лікарських речовин та до модифікації вже існуючих протитуберкульозних засобів, але з новими властивостями. Крім того, пропонують апробацію у фтизіатричній практиці сучасних антимікобактеріальних препаратів широкого спектру дії, які раніше не застосовувалися для лікування туберкульозу. Так, розроблений спосіб фаготерапії туберкульозу із застосуванням літичного мікобактеріофагу D29, ліпосомальну форму якого вводять ендолімфатично. Японські вчені повідомляють, що ними винайдено препарат з робочою назвою OPC-67683, ефективний при стійкому туберкульозі у мишей [4, 5].

Слід зауважити, що розвиток резистентності залежить не лише від раціонального призначення протимікробних препаратів, а й від мікро- та макроорганізму. У сучасних умовах в клітинах збудників інфекційних хвороб дуже швидко відбуваються біохімічні та генетичні процеси, що спрямовані на знешкодження дії лікарських засобів. Тому лише дотримання протоколів лікування не зможе стримати поширення ХРТБ. Для рішення цієї проблеми необхідно дослідити захисні реакції мікробних клітин на молекулярно-генетичному рівні. На сьогодні слід приділити увагу вивченню молекулярних механізмів розвитку лікарської стійкості, способів передачі генетичної інформації, активності молекул, що відповідають за адгезію мікроорганізмів. Зараз відомі генетичні ділянки, мутації в яких викликають появу резистентності. Однак явище це багатофакторне, і тому навіть при відсутності передбачених генетичних змін, можливо фенотипічно отримати стійкість. Наприклад, зміна форми клітини або її певних структур може унеможливити дію ПТП. Також необхідно пам'ятати про процеси взаємодії мікро- та макроорганізму. Відомо, що після перебування в організмі господаря іншого виду, не характерного для конкретного збудника, мікроорганізм змінює свої вірулентні, патогенні та антигенні властивості. Потребують подальшого вивчення механізми цієї взаємодії та можливості їх корекції.

#### *Список літератури*

1. Разнатовська, О.М. Хіміорезистентний туберкульоз легень – актуальна проблема фтизіатрії [Текст] / О.М. Разнатовська // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010. – Т. XXIII, № 4. - С. 116–118.
2. Ефективність левофлоксацину в комплексному лікуванні хворих на мультирезистентний туберкульоз та туберкульоз із розширеною резистентністю мікобактерій туберкульозу [Текст] / С.О. Черенько [та ін.] // Укр. пульмонолог. журн. – 2010. - № 3. - С. 22–26.
3. Лепшина, С.М. Проблемы химиорезистентного туберкулеза на современном этапе [Текст] / С.М. Лепшина // Архив клинич. и эксперим. медицины. – 2008. – Т. 17, №1. – С. 77–80.
4. Сучасні наукові дослідження і стратегії у фтизіатрії [Електронний ресурс] / Ю. І. Фещенко. – Режим доступу : <ftp://ftp1.ifp.kiev.ua/original/2011/feschenko2011.pdf>. – 24 лютого 2011. – Заголовок з екрану.
5. Фещенко, Ю.І. Стратегія профілактики, діагностики і лікування хворих на мультирезистентний туберкульоз легень [Текст] / Ю.І. Фещенко // Укр. хіміотерапевт. журн. – 2003. - № 2(17). – С. 10–20.

### **MODERN STATE OF DRUG-RESISTANT TB**

**Kovalyova G.O.**

*SE «Institute of microbiology and immunology the name of I. I. Mechnikov National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Regional TB- dispensary № 1, Kharkiv*

*Chemoresistance today is one of the leading characteristics of the epidemic process of TB in the world. In Kharkiv region as in Ukraine as a whole, there was a trend to an increase in allocation of multiresistant strains, which amounted to 63.7 % of the total array. Among untreated patients is steadily increasing the number of medication selection of resistant forms of the pathogen (51.6 % in 2011 against 36.6 % in 2006). Search of ways overcome drug resistance should be based on the study of the molecular-genetic mechanisms of its development.*