

# PROBLEME ACTUALE PRIVIND CHIMIOREZISTENȚA MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

O. Bercea\*

În ultimii ani tuberculoza tinde să revină în primul plan al actualității, impunându-se drept o serioasă problemă de sănătate publică în numeroase țări ale globului, inclusiv în cele industrializate din Europa și America. Declinul endemiei tuberculoase, semnalat încă de la începutul secolului și accelerat în anii postbelici de generalizarea chimioterapiei antituberculoase a făcut loc în anii 80, stagnării urmate de creșterea semnificativă și continuă a indicatorilor săi epidemiologici.

În SUA incidența tuberculozei, în continuă scădere în ultimele decenii, a înregistrat în 1986 o creștere cu 2,6% iar în orașul New York ea s-a dublat între 1980 și 1990 (4, 18). O situație similară a fost semnalată în țările Occidentului european, printre care și Olanda, unde incidența foarte scăzută la care ajunsese tuberculoza (sub 10%000) contura perspectiva eliminării ei ca preocupare a sănătății publice (12). În țările Est-europene, inclusiv fosta URSS, incidența bolii s-a aflat în 1992 la un nivel (20-60 %000) ce a depășit pentru majoritatea lor media europeană a anului (27,9 %000) (4,7).

În România, incidența bolii, în creștere încă din 1985 dar din ce în ce mai ridicată după 1989, a atins în 1993 valoarea de 89,4%000, cea mai înaltă valoare înregistrată în regiunea Europa a Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) iar în unele județe a depășit chiar 100%000. Situația din România este în mod particular gravă deoarece numai 10 din cele 217 țări ale lumii au raportat în 1992 la OMS o incidență și un număr de cazuri noi mai mari decât țara noastră (5).

Natura și ponderea factorilor cu rol în deteriorarea situației tuberculozei diferă în funcție de zona geografică și țara în cauză. În SUA și multe țări africane, recrudescența tuberculozei este corelată cu prevalența ridicată a SIDA; în țările Europei de Vest și SUA se incriminează creșterea unor grupe de populație cu risc mărit de îmbolnăvire (șomeri, persoane fără domiciliu, toxicomani, etilici) precum și valul de imigranți din țări cu endemie tuberculoasă severă, iar în țările Est-europene impactul socio-economic al dificultăților perioadei postcomuniste.

Există, însă, un acord general asupra rolului atribuit curenților programelor de control al tuberculozei (prematur părăsite în unele țări), defectuos concepute și/sau aplicate sau chiar absente în altele. În cadrul acestor programe, chimioterapia antituberculoasă reprezintă metoda de bază, cu o înaltă eficiență curativă, apropiată de 100% în condiții

de tratament corect și complet și cu un puternic impact profilactic prin suprimarea surselor de difuziune a tuberculozei.

Chimiorezistența populațiilor bacteriene din leziunile tuberculoase este un produs al imperfecțiunilor aplicării chimioterapiei în practica asistenței antituberculoase. Prevalența chimiorezistenței bacilare constituie în acest sens un indicator esențial în monitorizarea eficienței programelor de chimioterapie și unul din criteriile epidemiologice ale tendințelor endemiei tuberculoase.

## Mecanismul rezistenței

În populațiile bacteriene dezvoltate din tulpini "sălbatică" de *M. tuberculosis* (niciodată expuse medicamentelor antituberculoase) celulele rezistente sunt fie foarte rare fie absente.

Bacilii Koch devin rezistenți exclusiv prin mutații cromozomiale produse în cursul fiecărui ciclu reproductiv, rezistența plasmidică nefiind până în prezent demonstrată la micobacterii.

Mutațiile în cauză sunt spontane; ele nu pot fi induse de contactul cu medicamentele specifice. Rezultatul lor este apariția de mutanți rezistenți cu o frecvență constantă pentru fiecare medicament. Probabilitatea fenomenului variază în limite largi de la un medicament la altul:  $10^{-6}$  -  $10^{-10}$  pentru izoniazidă (H), rifampicină (R), streptomycină (S) și etambutol (E), medicamente de uz curent în chimioterapia tuberculozei (tab. I) și  $10^{-2}$  -  $10^{-5}$  pentru medicamentele "de rezervă" etionamidă, cicloserină, viomicină ș.a.) la care se face apel când primele și-au pierdut eficacitatea sau nu sunt tolerate.

**Tabel 1. Frecvența apariției mutanților chimiorezistenți în tulpinile sălbatice de *M. tuberculosis* (9)**

Medicament	Frecvența per diviziune celulară
Etambutol (E)	$10^{-7}$
Izoniazidă (H)	$10^{-8}$ - $10^{-9}$
Streptomycină (S)	$10^{-8}$ - $10^{-9}$
Rifampicină (R)	$10^{-10}$

În cifră absolută populațiile bacilare lezionale conțin

\*Conf. Dr. O. Bercea - Institutul de Pneumoftiziologie "Marius Nasta", București

cu atât mai mulți mutații rezistenți, cu cât viteza multiplicării celulare este mai mare, populația bacteriană mai numeroasă și rata mutațiilor mai ridicată. Caverna tuberculoasă în evoluție, leziune care găzduiește o populație bacilară enormă ( $10^7 - 10^9$ ) este, sediul obișnuit al selecției mutațiilor rezistenți înlesnită de tratamentele incorecte (vezi mai jos).

Acest risc este mai scăzut pentru medicamentele cu rată de mutație redusă și mult mai mare pentru restul lor.

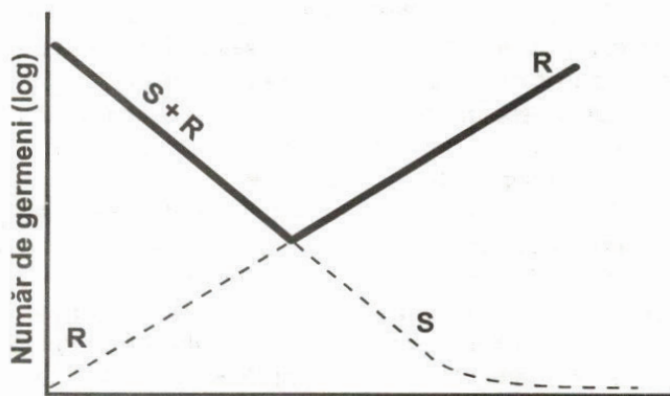
**Tabel 2. Probabilitatea dezvoltării rezistenței *M. tuberculosis* la medicamentele antituberculoase (14)**

Redusă	Medie	Înaltă
Rifampicină	Isoniazidă	Tiacetazonă
	Streptomicină	Etionamidă
	Etambutol	Capreomicină
	Kanamicină	Viomicină
	PAS	Cicloserină

Pirazinamida (Z) medicament de uz curent se află în ultima categorie.

### Selecția mutațiilor rezistenți

Expunerea la concentrații medicamentoase active poate conduce la conversiunea tulpinilor sensibile în rezistente, prin selecția mutațiilor spontan rezistenți.



**Figura 1. Dinamica selecției mutațiilor rezistenți din populațiile bacilare în curs de replicare**

Expunerea la concentrațiile bactericide dintr-un anumit medicament determină scăderea numărului de germeni sensibili (S). Proliferarea celor rezistenți (R) reface numeric populația schimbându-i însă structura (S->R)

Dinamica procesului, identică în vitro și in vivo (fig. 1), evidențiază o fază inițială de scădere a numărului de bacili,

dominată de dispariția celulelor sensibile, urmată de una de creștere, dominată de proliferarea mutațiilor rezistenți ("fall and rise phenomenon").

Selecția nu este posibilă decât dacă bacilii sunt în curs de replicare (față de cei "dormanți" medicamentele sunt inactive) și dacă populația bacteriană e numeroasă (paucibacilaritatea rarefiază până la dispariție mutații rezistenți). În tuberculoza umană ambele condiții sunt realizate în caverna pulmonară activă. O altă condiție este ca expunerea să aibă durată necesară finalizării procesului de selecție.

Riscul selecției mutațiilor rezistenți este maxim în condiții de monoterapie. Astfel, după 3 luni de tratament cu izoniazidă 64% din culturile izolate din spută sunt rezistente iar după 6 luni 93% (15). Continuarea monoterapiei, dar schimbând succesiv medicamentele are drept rezultat adăugarea de noi rezistențe prin "selecție serială". Dimpotrivă, actualele regimuri de chimioterapie de scurtă durată (6 luni) având ca "nucleu" cuplul izoniazidă + rifampicină (RHSZ, RHZ) au o rată de succes terapeutic de peste 95%, cu puține recăderi subsecvente (sub 5%), în majoritate cu germeni chimiosensibili (8).

Între locii cromozomiali ai rezistenței nu există relații de asociere (linkage) astfel încât mutațiile generatoare de rezistență la un singur medicament sunt evenimente independente, a căror probabilitate nu se influențează reciproc.

Probabilitatea rezistenței multiple (la 2,3...n medicamente) este, în consecință, multiplicativ calculabilă prin produsul probabilităților monorezistențelor asociate. Admițând că rata mutațiilor este  $10^{-6}$  pentru fiecare medicament, probabilitatea unei rezistențe duble va fi de  $10^{-12}$  iar a unei rezistențe triple de  $10^{-18}$ . Se poate deduce că în populațiile bacilare din leziunile tuberculoase ( $10^5 - 10^9$ ) șanse de a găsi mutații rezistenți la 2-3 medicamente este infimă iar în populațiile paucibacilare ( $10^3 - 10^5$ ) practic nuă.

Cele de mai sus definesc structura tulpinilor de *M. tuberculosis* sensibile, alcătuite dintr-o masă de celule pe care concentrații mici de medicamente antituberculoase (mcg/ml) le inhibă sau le omoară. În sânul acestei populații bacilare mutații rezistenți reprezintă accidente biologice care, deși se produc cu o frecvență definită, sunt atât de rare încât nu alterează caracteristica generică a tulpinilor. În alți termeni, tulpinile sălbatice de *M. tuberculosis* sunt tulpini natural sensibile. Ele pot fi însă transformate în tulpini rezistente prin expunere la medicamentele specifice.

Chimioresistența dobândită prin selecția bacililor rezistenți suprimă practic activitatea medicamentului sau medicamentelor în cauză. În practică se constată o corelație strânsă între frecvența eșecurilor terapeutice și extensia chimioresistențelor preterapeutice: până la 20% în cazul sensibilității sau monorezistențelor, 57% pentru bi- sau tri-rezistente și 100% pentru rezistențele la 4 sau mai multe medicamente (11).

### Tipuri de rezistență

Rezistența primară este definită prin frecvența rezistenței la bolnavi încă netratați cu medicamente antituberculoase. Originea ei este contaminarea anterioară îmbolnăvirii cu bacili proveniți de la un eliminator de germeni chimiorezistenți.

Rezistența inițială este definită prin prezența rezistenței la bolnavi noi, înainte de instituirea tratamentului. Este o definiție care ține cont de limitele recunoașterii anamnestice, a absenței oricărui tratament specific anterior. Această categorie include atât bolnavi cu rezistență primară cât și bolnavi cu rezistență dobândită prin tratamente anterioare care însă ignoră, nu își amintesc sau ascund deliberat aceste tratamente. O anamneză superficială poate mări considerabil numărul acestor cazuri.

Rezistența secundară (dobândită), apare în cursul tratamentelor inadecvate sau defectuos aplicate care favorizează selecția germeilor rezistenți. Chimiorezistența secundară este o cauză majoră de eșec al tratamentelor sau retratamentelor cu medicamentele omoloage rezistențelor. Sub aspect epidemiologic o prevalență ridicată a rezistenței secundare este un stigmat al programelor antituberculoase ineficiente (16).

### Prevalența chimiorezistenței

Relația cauzală dintre carențele chimioterapiei tuberculozei și chimiorezistență este ilustrată de distribuția geografică neuniformă a acesteia. În numeroase țări în curs de dezvoltare prevalența rezistenței a scăzut în perioada 1962-1985 dar în prezent se află din nou în creștere (16). Prevalențe înalte sunt înregistrate mai ales în țările în care prescripția și controlul administrării medicamentelor sunt defectuoase sau unele medicamente sunt liber comercializate pe piață. Prin contrast, în unele țări în curs de dezvoltare cu programe antituberculoase bine organizate, ca Benin sau Tanzania, chimiorezistența este relativ rară (12), în Algeria programele naționale de chimioterapie standardizată aplicate începând din 1967 au condus la scăderea rezistențelor secundare de la 81,9% în 1965-1967 la 35,7% în 1981-85 (4 bis). O evoluție similară s-a înregistrat în România unde programul de chimioterapie aplicat după 1970 cazurilor cronice eliminatoare de germeni rezistenți la H și/sau S, prin tratament cu asociația RE, a determinat o scădere dramatică a rezistențelor secundare de la 62% în 1974 la 37% (1979), urmată de o stagnare în anii următori (37% în 1986) (2,6).

În ultimii ani chimiorezistența *M. tuberculosis* a devenit o sursă de preocupare și în țările avansate. În SUA, o anchetă recentă (1991) a evidențiat rezistența la 26,6% din cazurile deja tratate precum și o frecvență globală alarmantă a cazurilor cu rezistența la H și/sau R (9,5%) sau la H și R (3,5%). (3).

Rezistența primară a suscitât un viu interes încă din

primii ani ai chimioterapiei clasice bazate pe asociația HSP (1950-70) considerându-se că eventuala ei creștere în urma tratamentelor incorecte ar putea avea un impact negativ asupra eficienței tratamentelor inițiale.

Monitorizarea rezistenței primare întreprinsă în câteva țări (Anglia, India, Japonia, SUA ș.a.) a infirmat însă această ipoteză. Tratamentul inițial corect al cazurilor noi s-a dovedit eficace nu numai la eliminatorii de germeni sensibili dar și la o bună parte din cei cu mono-, bi, sau chiar tri-rezistențe (15). Explicațiile propuse au invocat: erorile antibiogrammei inițiale, rezistențele primare joase și/sau parțiale și, mai ales, acoperirea sistematică a rezistențelor prin asociații medicamentoase (2-3 medicamente). Prin comparație cu tratamentele incorecte, rezistența primară s-a dovedit o sursă minoră de eșecuri terapeutice.

Datele statistice disponibile arată că între 1950-1980 frecvența rezistenței primare nu s-a modificat semnificativ în țările dezvoltate (2-5%) în timp ce în cele în curs de dezvoltare nivelul ei s-a menținut înalt (10-15% sau mai mult), cu variații mari de la o țară la alta în funcție de condițiile locale ale organizării chimioterapiei tuberculozei (16). În România cele 4 anchete naționale asupra rezistenței *M. tuberculosis* efectuate în intervalul 1965-1986 a evidențiat o scădere a incidenței rezistenței primare de la 19,3% (1965) la 7,6% (1979) urmată de o creștere în 1986 (9,9%). Valori înalte ale frecvenței rezistenței la cazurile noi de tuberculoză s-au înregistrat și în SUA în 1991: 8,2% la H (față de 5-6% în 1982-86) și 4% la R (sub 1% în 1982-86) (6).

### Rezistența multiplă

Rezistența multiplă vizează cel puțin două medicamente antituberculoase. Considerată multă vreme drept caracteristica tuberculozelor cronicizate prin tratamente repetate fără succes rezistența multiplă a îmbrăcat în ultimii ani aspecte noi și alarmante care au readus-o în primul plan al actualității.

Punctul de plecare l-a constituit apariția mai multor epidemii nosocomiale înregistrate în SUA la bolnavi prezentând în proporție de peste 90% infecții cu HIV. Germenii izolați prezentau rezistență la ambele medicamente majore, H și R, deseori însoțită de rezistență la alte medicamente de uz curent (E,S,Z). Unele tulpini erau rezistente la 7 din medicamentele testate. 70-90% din bolnavi au decedat (13). Grupuri similare de bolnavi au fost semnalate în închisori și în unități de tratament al toxicomanilor.

Reexaminarea datelor statistice disponibile a arătat că, pe plan mondial, după 1980 s-a manifestat o tendință de creștere a rezistențelor la cele două medicamente majore, iar dimensiunile acestui fenomen au fost deseori subevaluate. Rezistențele secundare multiple s-au consolidat în urma tratamentelor inadecvate. În SUA a fost incriminată "relaxarea" măsurilor de control ale tuberculozei,

iar în alte țări insuficiențele programelor antituberculoase aplicate. Contribuția infecției HIV pare a fi semnificativă în unele țări dezvoltate (SUA), nu însă și în altele (Olanda).

În schimb infecția cu HIV pare a favoriza puternic rezistența multiplă primară prin riscul major de contaminare și îmbolnăvire de la un eliminator de germeni multirezistenți din mediul spitalicesc sau extraspitalicesc. Ecoul șocului produs de explozia epidemică a rezistențelor multiple mai sus menționate a fost surprinzător. Normele clasice de prevenire și combatere a tuberculozei au fost resuscitate în țările dezvoltate din Europa și America, unde tuberculoza era considerată drept o boală infecțioasă învinsă. Pe plan internațional se consideră în prezent că tuberculoza a fost o boală prematur minimalizată, iar definiția termenului de rezistență multiplă (multi-drug resistance) tinde să fie restrânsă la apariția rezistenței la medicamentele majore, H și R, asociate sau nu cu alte rezistențe (16).

### Comentarii finale

Organizația Mondială a Sănătății a propus recent drept obiectiv prioritar al programelor antituberculoase vindecarea prin chimioterapie a cel puțin 85% din bolnavii de tuberculoză cu sputa microscopic pozitivă (17). Realizarea acestui obiectiv vizează nu numai reducerea imediată a prevalenței bolii și, în perspectivă, a incidenței acesteia dar și reducerea nivelului rezistenței secundare.

Importanța prevenirii rezistenței secundare prin chimioterapie inițială corectă și eficientă este amplificată de faptul că retratamentul bolnavilor cu chimiorezistență secundară comportă în practică mari dificultăți (medicamente neuzuale, cost ridicat, efecte adverse frecvente ș.a.).

Tuberculoza prin germeni cu rezistență primară nu afectează rezultatele chimioterapiei moderne decât în cazul pierderii sensibilității la medicamentele majore (H și R). Date recente semnaleză însă pericolul tuberculozelor din această categorie, produse prin transmisie interumană la persoanele cu stări imunodepresive (în primul rând infecția cu HIV), tuberculoze rapid evolutive și foarte frecvent fatale (3,13). Aceste date au reactualizat importanța izolării surselor de infecție cu germeni rezistenți în spitale și la domiciliu (12).

Magnitudinea actuală a problemei chimiorezistențelor M.tuberculosis impune, deasemenea, monitorizarea surselor de infecție cu germeni rezistenți prin anchete periodice efectuate pe eșantioane reprezentative de bolnavi precum și o bună organizare a diagnosticului bacteriologic al tuberculozei, inclusiv a testării in vitro a chimiosensibilității bacililor prin metode de laborator standardizate (16).

### Rezumat

Chimiorezistența bacililor tuberculoși apare exclusiv prin mutațiile cromozomiale, a căror frecvență este atât de mică ( $10^{-6}$  -  $10^{-10}$  pentru medicamentele esențiale), încât în

tulpinile sălbatice cvasitotalitatea celulelor bacteriene sunt chimiosensibile. Rezistența secundară (dobândită) apare la bolnavii supuși tratamentelor incorecte, prin selecția mutațiilor rezistenți. Rezistența primară, observată la bolnavii încă netratați este consecința contaminării de la o sursă secundar-rezistentă.

Frecvența chimiorezistenței a scăzut în numeroase țări în perioada 1962-1985, dar în prezent ea s-a aflat din nou în creștere. Concomitent s-a observat o alarmantă creștere a incidenței tuberculozei în mai multe țări avansate. În ultimii ani rezistența multiplă (la H și R) a ridicat serioase probleme la bolnavii cu infecții HIV.

Drept rezultat, organizațiile internaționale (OMS și UICTMR) consideră în prezent revigorarea programelor antituberculoase drept o sarcină prioritară în toate țările lumii.

**Cuvinte cheie:** M. tuberculosis, chimiorezistență, chimioterapie.

### Abstract

Drug - resistance of tubercle bacilli occurs only by chromosomal mutations whose rate is so small ( $10^{-6}$  -  $10^{-10}$  for the first line drugs) that wild strains are in fact drug-sensitive strains. Drug-resistance can be acquired by selection of resistant mutants in patients during inadequate treatment (acquired or secondary drug-resistance). Primary resistance of untreated patients follows contamination from drug-resistant sources.

Drug-resistance rate has decreased in many countries over the 1962-1985 period while resistance is increasing now. Concomitant alarming reversal of the downward trend of the tb-incidence was observed in quite a lot of advanced countries. In recent years multidrug resistance (to H and R) rised serious problems in patients with HIV infection.

As a result international organisms, such as WHO and IUATLD, claimed as an urgent task, the revising of the antituberculous programmes allover the world.

**Key words:** M. Tuberculosis, chemioresistance, chemotherapy.

### BIBLIOGRAFIE

1. Bercea O., - Surse de informație asupra sesibilității micobacteriene în chimioterapia tuberculozei pulmonare în "Fiziologie clinică". Ed.Didactică și Pedagogică, București 1972, p.293-314.
2. Bercea O., Diaconescu Cornelia - Chimiorezistența M.tuberculosis și implicațiile ei terapeutice (observații pe marginea rezultatelor anchetei naționale de chimiorezistență primară, și

- secundară). Practica luptei antituberculoase București, 1988, p.148-151.
3. Bloch A.D., Cauthen G.M., Onorato M.IDA, Dansbury K.G., Kelly D. Gloria, Driver R. Cynthia, Snider E Dixie - Nationwide Survey Drug-Resistant Tuberculosis in the United States. JAMA 1994, 271, 665-71
  4. Bloom B.R., Murray CJL. - Tuberculosis commentary on a reemergent killer. Science 1992, 257, 1055-64.
  - 4B. Boulahbal F, Khaled S., Tazir M - Interet de la surveillance de la resistance du bacille tuberculeux pour l'evaluation d'un programme. Bull UICT, 1989, 64, 23-25.
  5. Corlan Emil, - Tuberculoza, o realitate preocupantă în lume și mai ales în România: ce avem de făcut ? (sub tipar).
  6. Diaconescu Cornelia, Bercea O., Corlan E., Tachici A., Anastasatu C: Anchetă națională asupra chimiorezistenței primare și secundare a M.tuberculosis. Probleme de tuberculoză, 1988, 22, 69-86.
  7. Didilescu C., Marica C - Tuberculoza în România, Breviar epidemiologic. Ed.Curtea Veche SRL, 1993.
  8. Fox W : Whither short-course chemotherapy. Brit.J.Dis.Chest, 1981, 75, 331-57.
  9. Grange J.M: Drug resistance and tuberculosis elimination. Bull IUATID, 1990, 65, 57-59.
  10. Hong Kong tuberculosis Treatment Service/ Birtish Medical Research Council Investigation. Am.Rev.Resp.Dis. 1972, 106,1, citat de Tomah K.
  11. Manola F., Tan F., Sbarbaro J.A., Iseman D: Community-based short-course Treatment of Pulmonary Tuberculosis in a Developing Nation Am.Rev.Res.Dis. 1990,142, 1301-1305.
  12. "Multidrug-Resistant Tuberculosis" Committee of Royal Netherlands Tuberculosis in the Netherlands, Hague 1993 .
  13. Neville K., Bromberg A., Bromberg R., Bonk S., Hanna A.B., Rom V.N.: The Third Epidemic-Multidrug-resistant Tuberculosis. Chest 1994, 105 45-48.
  14. Shimao T - Drug resistance in tuberculosis control. 'l'ubercle 1987, 68 (suppl). 5-15.
  15. Toman K: Depistage et chimiotherapie de la tuberculose. Masson, 1980
  16. Vareldzis B.P., Grosset J., Kantor de I., Crofton J., Laszlo A., Felten M., Raviglione M.C., Kochi A - Drug-resistant tuberculosis: laboratory issues (WHO recommendations). Tubercle and Lung Disease 1994, 75, 1-7.
  17. WHO/Tub/91.161 - Guidelines for tuberculosis treatment in adults and children in national tuberculosis programmes.
  18. WHO/tb/94.175 - Tuberculosis Notification Update, December 1993.