

И.Н. Глинская, Г.Н. Чистенко, Н.Н. Левшина, А.П. Козик, Н.Л. Ключко

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАЕМОРНИЛУС ИНФЛУЕНЗАЕ,
ЦИРКУЛИРОВАВШИХ НА ТЕРРИТОРИИ г. МИНСКА
В ПЕРИОД 1997-2010 гг.**

Изучены отдельные характеристики *Haemophilus influenzae*, выделенных от детей, больных различными формами инфекции, а также от здоровых детей. Удельный вес штаммов, чувствительных к ампициллину составлял 88,3%. Единичные штаммы были резистентны к амоксиклаву. Штаммов, резистентных к цефалоспорином III-IV поколений и карбапенемам выявлено не было. Отмечена высокая чувствительность изученных штаммов к хлорамфениколу (95,7%) и рифампицину (99,4%).

Удельный вес штаммов, чувствительных к ко-тримоксазолу составлял 57,1%. Установлено наличие достоверной тенденции к снижению удельного веса штаммов, чувствительных к ампициллину и ко-тримоксазолу. Большинство изученных штаммов Hib, выделенных как от больных, так и от носителей относились к I, II и III биотипам.

Ключевые слова: *Haemophilus influenzae*, Hib, дети, чувствительность, антибактериальные препараты.

I.N. Glinskaya, G.N. Chistenko, N.N. Levshina, A.P. Kozik, N.L. Kluiko

CHARACTERISTICS OF HAEMOPHILUS INFLUENZAE, CIRCULATED IN MINSK IN 1997-2010

The characteristics of *Haemophilus influenzae* isolated from children with different forms of infection and healthy children. The proportion of strains susceptible to ampicillin was 88,3%. Single strains were resistant to amoxiclav. The high sensitivity was to chloramphenicol (95,7%) and rifampicin (99,4%). The proportion strains sensitivity to co-trimoxazol was 57,1%. Established the trend to increase proportion of strains resistant to ampicillin and co-trimoxazol. Most of stains Hib belonged to I, II and III biotype.

Key word: *Haemophilus influenzae*, Hib, children, sensitivity, resistant, antibiotics.

Среди представителей рода *Haemophilus*, основным возбудителем заболеваний у человека является *Haemophilus influenzae*-гемофильная палочка. Штаммы *Haemophilus influenzae* могут быть капсульными или бескапсульными (не типизируемыми, nontypeable *Haemophilus influenzae*-NTHi). Капсульные штаммы подразделяются на 6 серотипов в зависимости от состава сахаров, входящих в капсулу: a, b, c, d, e, f. Более 95% случаев инвазивных форм заболевания связаны с серотипом b [3]. По способности ферментировать триптофан, мочевины и декарбоксилировать орнитин внутри вида различают 8 биотипов (I-VIII). По результатам исследований на различных территориях доминируют различные биотипы (I и II, I и IV и т.д.) [8].

Спектр антибиотикорезистентности *Haemophilus influenzae* зависит как от географического места изоляции, так и от вида материала, из которого изолирован штамм (мазок из носоглотки, cerebro-спинальная жидкость, кровь или другие среды). Во многих регионах мира отмечается увеличение удельного веса штаммов резистентных к ампициллину, ко-тримоксазолу, хлорамфениколу, появление штаммов резистентных к цефалоспорином, что затрудняет лечение больных, формирует риски для возникновения осложнений и приводит к существенному увеличению стоимости лечения [2, 3].

В нашей стране оценка биологических свойств выделенных *Haemophilus influenzae* не проводилась.

Цель исследования. Изучить чувствительность к антибактериальным препаратам *Haemophilus influenzae* и биотипы Hib, циркулировавших в г. Минске в целях совершенствования системы эпидемиологического надзора, системы профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Материал и методы

Для оценки отдельных характеристик *Haemophilus influenzae* были использованы данные о чувствительности к антибактериальным препаратам и биохимическим свойствам 157 штаммов (в том числе 116 клинических изолятов и 41 назофарингеальный изолят от здоровых детей) *Haemophilus influenzae* (в том числе 137 штаммов *Haemophilus influenzae* типа b и 20 штаммов *Haemophilus influenzae* NTHi).

Выделение возбудителя проводили на шоколадном агаре (BioMerieux, BBL). Для иден-

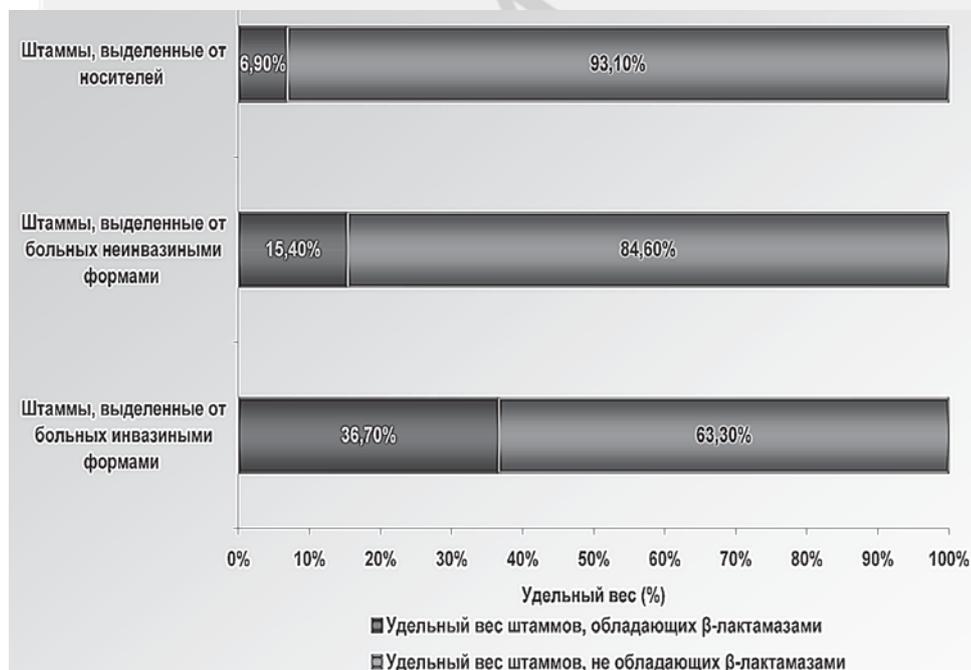


Рисунок 1 Структура штаммов *Haemophilus influenzae* типа b, обладавших β-лактамазами (по расчетным данным)

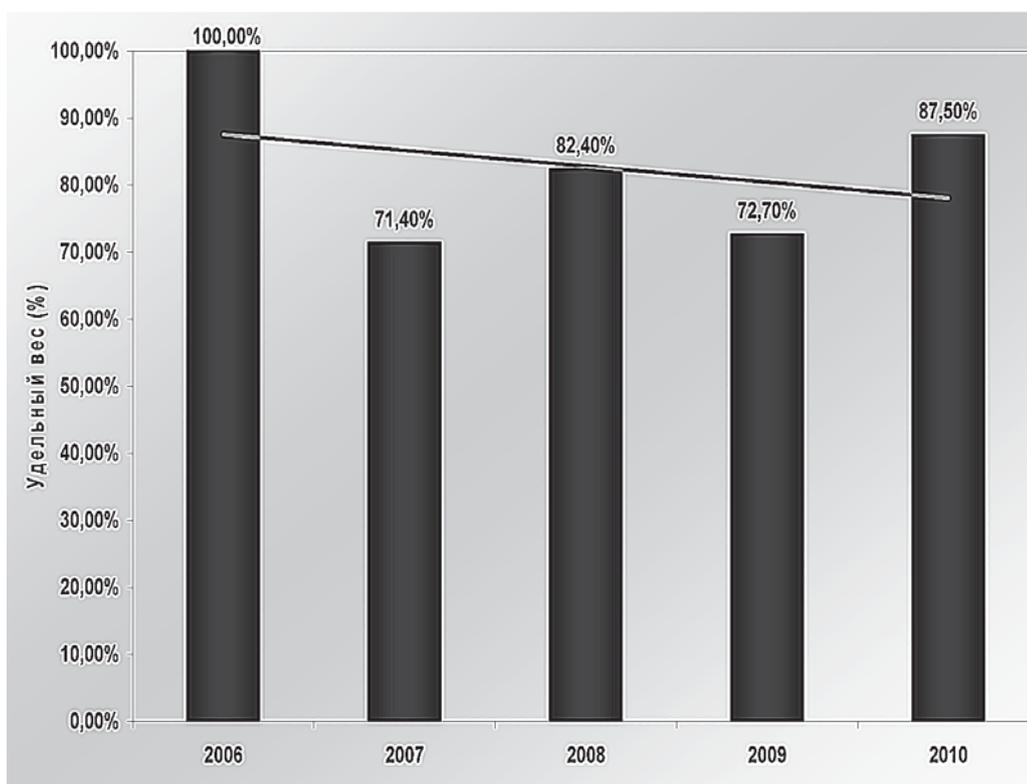


Рисунок 2 Динамика удельного веса штаммов *Haemophilus influenzae* типа b чувствительных к ампициллину за 2006-2010 гг.

тификации *Haemophilus influenzae* и определения его биотипа использовали тест-системы API NH (BioMerieux). Определение чувствительности *Haemophilus influenzae* к антибактериальным препаратам осуществляли с использованием метода пограничных концентраций на коммерческих тест-системах (АТВ Наемо) с применением полуавтоматических анализаторов (АТВ Expression).

Определяли частоту признаков, под которой понимали долю случаев, при которых встречался изучаемый признак. Для каждой частоты рассчитывали 95% доверительные интервалы (ДИ) [9]. Для оценки достоверности различий долей рассчитывали критерий z [9]. Для определения достоверности влияния изучаемого фактора на результативный признак составляли таблицы сопряженности и определяли критерий χ^2 [9]. В целях оценки силы влияния изучаемого фактора на результативный признак рассчитывали коэффициент ϕ [9]. При изучении многолетней динамики удельного веса штаммов *Haemophilus influenzae* типа b чувствительных к отдельным антибактериальным препаратам для оценки роли постоянно действующих факторов определяли многолетнюю эпидемическую тенденцию с помощью метода выравнивания по уравнению линейной зависимости по параболе первого порядка. Многолетнюю эпидемическую тенденцию характеризовали по её направленности и скорости изменений показателей динамического ряда. Достоверность многолетней эпидемической тенденции оценивали с помощью

распределения Пуассона [1]. При проведении расчетов использовали программу IBM SPSS Statistics 19.0.

Результаты и обсуждение

Установлена высокая чувствительность как клинических штаммов *Haemophilus influenzae*, так и назофарингеальных изолятов от здоровых детей к β -лактамным антибиотикам. Установлено, что 88,3% штаммов были чувствительны к ампициллину. До 85,6% (ДИ 78,9; 92,3) клинических штаммов (86,8% (ДИ 76,0; 97,6) штаммов от больных инвазивными формами-менингитами, эпиглоттитам, септицемиями и 84,8% (ДИ 76,1; 93,5) штаммов от больных неинвазивными формами-отитами, синуситами) и 93,1% (ДИ 86,6; 99,6) назофарингеальных изолятов от здоровых детей были чувстви-

тельны к ампициллину. По результатам расчета критерия z с достоверностью 95% было установлено, что полученные доли не имели статистически значимых различий между группами штаммов от больных инвазивными формами, от больных неинвазивными формами и от носителей (далее-группами). Все изученные клинические штаммы *Haemophilus influenzae* NTHi были чувствительны к ампициллину.

В России резистентными к ампициллину были 2,1% штам-

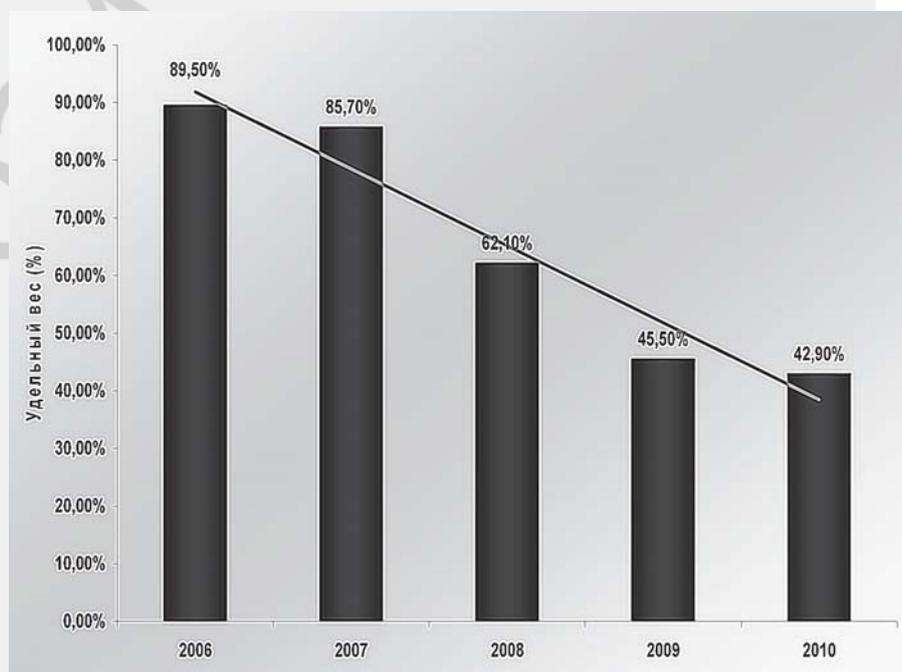


Рисунок 3 Динамика удельного веса штаммов *Haemophilus influenzae* типа b чувствительных к ко-тримоксазолу за 2006-2010 гг.

мов от здоровых детей [4]. По данным, полученным в многоцентровом исследовании Alexander Project, резистентность к ампициллину среди клинических штаммов *H. influenzae* варьировала от 20,6% до 24,3% [12]. Резистентность клинических штаммов *H. influenzae* к ампициллину составляла от 18,1% в Бразилии [8] до 60% в Индии [6].

Основным механизмом развития резистентности к β -лактамам антибиотикам у *H. influenzae* является продукция плазмидных TEM-1 β -лактамазы, которые составляют более 90% от числа всех β -лактамазпродуцирующих штаммов [2, 4]. Помимо плазмидной резистентности у 8% штаммов резистентность к β -лактамам обусловлена синтезом хромосомной β -лактамазы ROB-1 [4, 5]. В последнее время стали появляться данные о штаммах *H. influenzae*, устойчивых к ампициллину и амоксициллину и не продуцирующих β -лактамазы. Такие микроорганизмы получили название BLNAR (β -lactamase-negative ampicillin-resistance). Их устойчивость связана с изменением пенициллинсвязывающих белков или снижением проницаемости наружной клеточной мембраны, в результате чего они становятся резистентными к ингибиторзащищенным пенициллинам и к отдельным цефалоспорином. В 1995 г. появилось первое сообщение о штаммах *H. influenzae*, продуцировавших β -лактамазы, отличавшихся резистентностью к амоксициллину-клавуланату и поэтому обозначенных как BLPACR (β -lactamase-producing and amoxicillin-clavulanate-resistance) [7]. Возможным объяснением этого феномена является гиперпродукция β -лактамаз TEM-1 и ROB-1, продукция измененных β -лактамаз, устойчивых к действию клавулановой кислоты, а также нового типа β -лактамаз, которые не эффективно подавляются клавуланатом, выработка измененных пенициллинсвязывающих белков в дополнение к продукции типичных β -лактамаз TEM-1 и ROB-1 [11].

Среди изученных штаммов единичные клинические штаммы *Haemophilus influenzae* можно было отнести к BLPACR, так как они были резистентны (3 штамма) или проявляли промежуточную чувствительность (1 штамм) к амоксиклаву. Остальные штаммы (97,7% ДИ 95,5; 99,9) были чувствительны к амоксиклаву.

Высокая чувствительность изученных штаммов была отмечена к цефалоспорином.

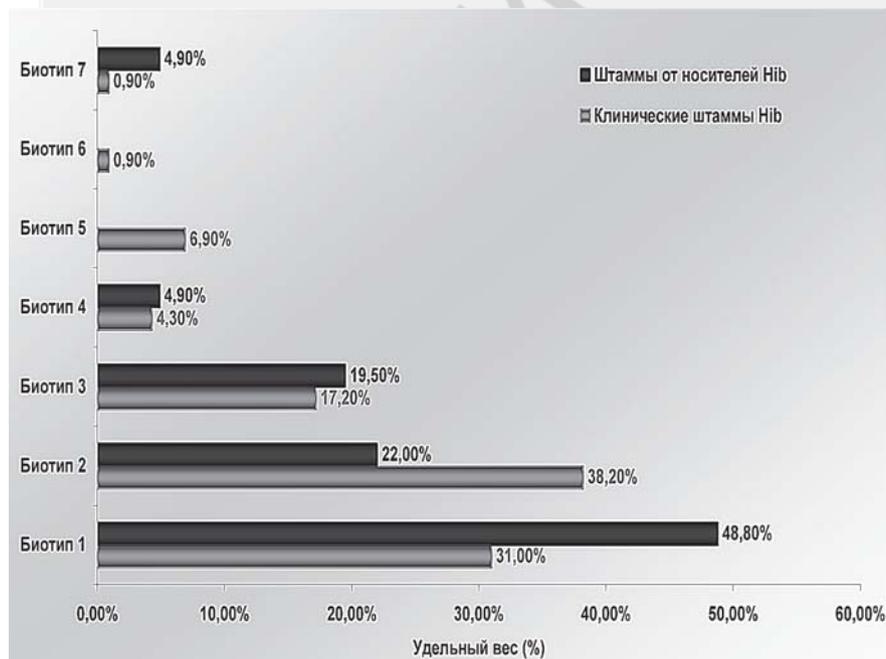


Рисунок 4 Структура штаммов *Haemophilus influenzae* типа b по биотипам, выделенных от больных и носителей за 2006-2010 гг.

Установлено, что единичные штаммы Hib проявляли промежуточную чувствительность к цефалоспорином II поколения (в частности, к цефуоксиму и цефаклору). Остальные 97,8% (ДИ 95,7; 99,9) изученных штаммов были чувствительны к цефуоксиму и 96,7% (ДИ 93,5; 99,9) чувствительны к цефаклору. Полученные доли не имели статистически значимых различий между группами. Штаммов, резистентных к цефалоспорином III-IV поколений и карбапенемам выявлено не было.

По данным, полученным при исследовании назофарингеальных изолятов *H. influenzae* в США, чувствительность к амоксициллину/клавуланату оставалась высокой и составила 94,47%, к цефаклору – 83,3%. По данным Alexander Project, чувствительность клинических штаммов *H. influenzae* к амоксициллину/клавуланату составляла 99,8-100%, а к цефаклору – 83,5-93,3% [12].

Отдельное исследование для определения наличия β -лактамаз у выделенных штаммов *Haemophilus influenzae* типа b не проводилось. Исходя из того, что 90% всех β -лактамазпродуцирующих штаммов обладают плазмидными TEM-1 β -лактамазами [2, 4] и 8% всех β -лактамазпродуцирующих штаммов обладают хромосомной β -лактамазой ROB-1 [4, 5] целесообразно было провести расчет удельного веса штаммов, обладавших β -лактамазами. На основании проведенных расчетов можно полагать, что 18,2% (ДИ 12,8; 23,6) изученных штаммов *Haemophilus influenzae* типа b обладали β -лактамазами. Расчетный удельный вес штаммов, обладающих β -лактамазами достоверно отличался по группам выделенных штаммов: наибольший расчетный удельный вес (36,7%, ДИ 23,2; 50,2) был среди штаммов, выделенных от больных с инвазивными формами Hib-инфекции. Среди штаммов, выделенных от больных неинвазивными формами и носителей расчетный удельный вес штаммов, обладающих β -лактамазами был соответственно 15,4% (ДИ 8,0; 22,8) и 6,9% (ДИ 0,04; 13,4) (рисунок 1).

По результатам расчета критерия z с достоверностью 95% было установлено, что полученные доли имеют статистически значимые различия. По результатам расчета критерия χ^2 с поправкой на непрерывность (16,78) установлено, что с достоверностью 99,9% имеющиеся отличия не случайны (критическое значение χ^2 3,841). По результатам расчета коэффициента ϕ (0,291) установлено, что имеется умеренная связь между расчетной долей штаммов, продуцирующих β -лактамазы и формой Hib-инфекции, при которой был выделен возбудитель. Следовательно, на основании полученных расчетных данных, штаммы Hib, выделенные от больных инвазивными формами Hib-инфекции наиболее часто обладали β -лактамазами и были наиболее резистентными.

В России только 0,3% штаммов от здоровых детей являлись β -лактамазпродуцирующими [4], а во Франции – 41,6%. Даже в пределах одной страны в различных регионах эта частота может существенно отличаться. Так например, во Франции в различных регионах продукция β -лактамаз у штаммов *H. influenzae* варьировала от 0 до 84,1% [10].

Установлено, что 95,7% (ДИ 92,8; 98,6) изученных штаммов были чувствительны к хлорамфениколу, 99,4%-к рифампицину. Наименьшая чувствительность изученных штаммов *Haemophilus influenzae* была к ко-тримоксололу. Ус-

тановлено, что 57,1% (ДИ 49,5; 64,7) изученных штаммов были чувствительны к ко-тримоксазолу. Установлено, что 57,8% (ДИ 48,2; 67,4) клинических штаммов и 55,2% (ДИ 42,4; 68,0) штаммов, выделенных от носителей были чувствительны к ко-тримоксазолу. Полученные доли не имели статистически значимых различий между группами.

В Бразилии резистентными к хлорамфениколу были 19,1% штаммов [8], в Индии – до 60% [6]. По данным исследования клинических штаммов *H. influenzae*, выделенных от детей в г. Екатеринбурге к рифампицину были выделены только умеренно-резистентные (3,1%) и чувствительные штаммы. Резистентных к рифампицину штаммов *H. influenzae* выделено не было. Аналогичная ситуация наблюдалась в Бразилии [8]. При исследовании клинических штаммов *H. influenzae*, по данным Alexander Project, резистентность к ко-тримоксазолу составляла от 1,4% до 50% [12]. В России резистентность к ко-тримоксазолу клинических штаммов *H. influenzae* составляла 20-30% [2].

По результатам изучения чувствительности *Haemophilus influenzae* типа b к ампициллину в динамике установлено наличие достоверной умеренной тенденции ($T_{пр} = -2,86\%$, $I_{min2006} < I_{max2010}$) к снижению удельного веса штаммов, чувствительных к этому антибактериальному препарату (рисунок 2).

Во Франции за период 1996-2001 гг. количество штаммов Hіb устойчивых к β-лактамам антибиотикам увеличилось с 20% до 40% [3].

По результатам изучения чувствительности *Haemophilus influenzae* типа b к ко-тримоксазолу в динамике установлено наличие достоверной выраженной тенденции ($T_{пр} = -20,48\%$, $I_{min2006} < I_{max2010}$) к снижению удельного веса штаммов, чувствительных к этому антибактериальному препарату (рисунок 3).

Установлено, что большинство штаммов Hіb, выделенных как от больных, так и от носителей относились к I, II и III биотипам: 87,1% (ДИ 81,0; 93,2) и 90,2% (ДИ 85,4; 95,0) соответственно (рисунок 4). Реже штаммы относились к биотипам IV, V, VI и VII. Ни один штамм не был отнесен к биотипу VIII.

На современном этапе препаратами выбора при лечении Hіb-инфекции являются цефалоспорины III поколения (цефотаксим и цефтриаксон, проявляющих активность в том числе и в отношении штаммов с пониженной чувствительностью к ампициллину независимо от механизмов устойчивости) [2].

Таким образом, установлена высокая чувствительность изученных штаммов *Haemophilus influenzae* к β-лактамам антибиотикам, хлорамфениколу и рифампицину. Наименьшая чувствительность была к ко-тримоксазолу. На основа-

нии расчетных данных можно полагать, что штаммы Hіb, выделенные от больных инвазивными формами Hіb-инфекции чаще обладали β-лактамазами и были более резистентны. Установлено наличие достоверной тенденции к снижению удельного веса штаммов, чувствительных к ампициллину и ко-тримоксазолу. Установленные характеристики свидетельствуют о повышении актуальности проблемы антибиотикорезистентности *Haemophilus influenzae*, приводят к затруднениям в лечении больных, формируют риски для возникновения осложнений, приводят к существенному увеличению стоимости лечения и являются дополнительным аргументом целесообразности вакцинопрофилактики.

Литература

1. Методы эпидемиологической диагностики: учебно-методическое пособие / М.М. Адамович [и др.]. / Под редакцией Г.Н. Чистенко. Мн. 2003. 184 с.
2. Страчунский, Л.С. Современная антибактериальная химиотерапия: руководство для врачей / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. М.: Боргес, 2002. 432 с.
3. Частная эпидемиология: руководство для врачей / под ред. Б.Л. Черкасского. М., 2002. Т.1. С. 16 – 24.
4. Чувствительность к антибиотикам *Haemophilus influenzae*, выделенных у здоровых детей из организованных коллективов / Л.С. Страчунский [и др.]. // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2002. Т. 4. № 1. С. 33 – 41.
5. Antibiotic resistance in *Haemophilus influenzae*: mechanism, clinical importance and consequences for therapy / R. Groot [et al.]. // Eur J Pediatr. 1991. № 150. P. 534 – 546.
6. Are *Haemophilus influenzae* infections a significant problem in India? A prospective study and review / Invasive Bacterial Infections Surveillance (IBIS) Group of the International Clinical Epidemiology Network // Clin Infect Dis. 2002. № 34 (7). P. 949 – 957.
7. Characteristics of β-lactamase-producing and amoxicillin-clavulanate-resistance strains of *Haemophilus influenzae* isolated from pediatric patients / N. Ishiwada [et al.]. // J Infect Chemother. 1998. № 4. P. 112 – 115.
8. Characterization of *Haemophilus influenzae* isolated from invasive disease in Brazil from 1990 to 1999 / R.C. Zanella [et al.]. // Microb Drug Resist. 2002. № 8 (1). P. 67 – 72.
9. Glantz, S. Primer of biostatistics / S. Glantz // М.: Практика. 1999. 460 с.
10. Phenotypic and genotypic characterization of *Haemophilus influenzae* strains isolates from nasopharyngeal specimens of children in day-care centers in eastern France / D. Talon [et al.]. // Proceedings of 38th ICAAC. 1998. P. 23 – 29.
11. Scaglione, F. Distribution of clarithromycin in intracellular and extravascular sites of infection: an overview / F. Scaglione, G. Demartini, F. Fraschini. // Proceedings of the Second International Conference on the macrolides, azalides and streptogramins. – 1994. – P. 234-237.
12. The Alexander Project 1996-1997: latest susceptibility data from this international study of bacterial pathogens from community-acquired lower respiratory tract infections / D. Felmingham [et al.]. // J Antimicrob Chemother. – 2000.-№45.-P. 191-203.