

М.Н.Зубков, Е.Н.Гугуцидзе, В.Е.Ноников

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*

НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, Центральная клиническая больница, Москва

Haemophilus influenzae относится к достаточно распространенным возбудителям первичных и вторичных эндогенных и, реже, экзогенных инфекций. Обладая способностью преодолевать физиологические барьеры организма на уровне клеточных мембран слизистых оболочек, *H.influenzae* является частой причиной воспалений верхних дыхательных путей (назо- и ларингофарингитов, острых и хронических синуситов, средних отитов) и бронхолегочных заболеваний (хронических бронхитов, пневмоний); нередко случаи септических артритов и подострого септического эндокардита, вызванных этим инфекционным агентом [8]. Кроме того, *H.influenzae* входит в число трех основных возбудителей гнойного менингита. Наибольшей опасности возникновения инфекции подвержены дети до трех лет, лица с нарушенным иммунитетом, больные алкоголизмом и психосоматическими заболеваниями, пациенты пожилого и старческого возраста с сопутствующими болезнями (сахарный диабет, заболевания сердечно-сосудистой и мочевыделительной системы и др.). По нашим данным, *H.influenzae* часто встречается при хронических бронхолегочных инфекциях у больных старше 60 лет, а ее удельный вес в структуре бактериальной микрофлоры бронхиального секрета может достигать 12,5%, уступая лишь пневмококку [1].

Следует отметить, что бактерии рода *Haemophilus* прихотливы к питательным средам и труднодоступны для выделения из патологических материалов, а их идентификация с использованием X-и V-факторов роста (гемин и НАД) становится возможной лишь при наличии фирменных дисков, которые у нас, несмотря на остроту проблемы, не выпускаются. Аналогично обстоит дело с серотипированием *H.influenzae*. Поскольку из шести известных сероваров вариант "b" считается наиболее этиологически и эпидемиологически значимым, отсутствие отечественных типоспецифических антисывороток сдерживает проведение контроля за распространением этого вида инфекции. В силу указанных причин остается недостаточно изученным вопрос о тенденциях формирования антибиотикорезистентности у клинических изолятов *H.influenzae*. Единичные отечественные

публикации, посвященные данной проблеме [3], лишь частично компенсируют информационные пробелы, а полученные ранее результаты требуют верификации с позиции современных методических подходов, к числу которых относится определение ингибирующих концентраций (МИК) антибиотиков с помощью "Е-теста" [6].

В отличие от общепринятого в рутинной практике полуколичественного диско-диффузионного метода в агаре "Е-тест" не уступает по информативности и точности количественному методу серийных разведений антибиотика в разных его модификациях [5]. Используют готовые полоски из тонкого инертного пластика шириной 5 мм и длиной 50 мм, внутренняя поверхность которого пропитана антибиотиком в градиенте концентраций от 0,016 до 256 мкг/мл, соответствующих шкале показателей на наружной стороне полоски, вмещающей 15 двукратных разведений антибиотика. При соприкосновении Е-тестовой полоски с инокулированной культурой поверхностью агара происходит быстрая диффузия антибиотика в среду. После инкубации посевов на фоне видимого роста бактерий наблюдается симметричная эллипсовидная зона задержки роста, границы которой пересекают полоску; место их пересечения соответствует значению МИК на шкале.

Настоящая работа проводилась в течение 1992 года в рамках Международной программы по слежению за антибиотикорезистентностью возбудителей оппортунистических инфекций. Генеральным спонсором программы для стран Восточной Европы являлась фирма "Eli Lilly" (США).

Было изучено 50 клинических изолятов *H.influenzae*, отобранных по числу обследованных стационарных больных мужского (28) и женского (22) пола в возрасте от 1 года до 78 лет (средний возраст 42 года) с инфекциями нижних (НДП) и верхних (ВДП) дыхательных путей (табл. 1).

Согласно Протоколу исследования, материалы (мокрота, отделяемое носоглотки, смывы из гайморовых пазух) засеивали на агар *Mueller Hinton* (BBL, США), обогащенный

Таблица 1

Источники выделения

Возраст пациентов	НДП		ВДП		Всего
	Хр. бронхит	Пневмония	ОРВИ	Синуситы	
1—14 лет	—	1	3	6	10
21—59 лет	10	7	2	3	22
Старше 60 лет	16	2	—	—	18
Всего...	26	10	5	9	50

гемоглобином (1%) и Isovitalex (1%), с добавлением бацитрацина (300 мг/мл) в качестве селекционного агента. Посевы инкубировали 24 ч при 37°C в атмосфере 5% CO₂. При наличии роста изолированные колонии суспензировали в 0,85% растворе NaCl и осуществляли посев стерильным тампоном на агар Mueller Hinton; на подсушенную поверхность среды помещали диски с X-, V- и XV-факторами роста (инкубацию проводили при тех же условиях). Выросшие вокруг XV-диска колонии *H. influenzae* типировали в реакции агглютинации на стекле с "b"-антисывороткой и определяли наличие бета-лактамазы по стандартной методике, используя диски с цефиназой (BBL). Для проведения "Е-теста" готовили суспензию *H. influenzae* в 0,85% растворе NaCl в концентрации 0,5 по стандарту МакФарланда и засеивали культуру тампоном на агар Mueller Hinton с 1% Isovitalex, используя чашки диаметром 14 см; на подсушенную поверхность среды помещали 6 полосок с антибиотиками (ампициллин, цефаклор, цефалотин, хлорамфеникол, эритромицин, тетрациклин) в градиенте концентраций, описанных выше. Посевы инкубировали 24 ч при 37°C в обычной атмосфере. В качестве контроля "Е-теста" на каждые 8—10 изолятов *H. influenzae* использовали эталонный штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Среди изученных изолятов *H. influenzae* 42% штаммов принадлежало к серовару "b", а 1 культура продуцировала фермент бета-лактамазу, что определяло ее высокую резистентность одновременно к трем антибиотикам: ампициллину, цефаклору и цефалотину (МИК > 256 мкг/мл). Суммарные данные действия антибиотиков на *H. influenzae* представлены в табл. 2.

Выявленная с помощью "Е-теста" высокая эффективность хлорамфеникола и тетрациклина согласуется с данными диско-диффузионного метода, полученными нами за период 1982—1989 гг. при изучении 289 клинических изолятов *H. influenzae* (соответственно, 98 и 94% чувствительных штаммов), в то время как чувствительность к ампициллину, который ранее наиболее широко применялся в нашей практике для лечения инфекций верхних и нижних дыхательных путей, в 80-х годах была менее выражена (28% резистентных культур), в сравнении с настоящим периодом ($p < 0,01$; см. табл. 2). Различия в показателях ампициллинорезистентности *H. influenzae*, полученных в разные сроки наблюдений, лишний раз подтверждают, что изменение тактики антибиотикотерапии за счет вне-

Таблица 2

Чувствительность клинических изолятов *H. influenzae* к антибиотикам

Антибиотики	Чувствительные, % (мкг/мл)	Промежуточные, % (мкг/мл)	Резистентные, % (мкг/мл)
Ампициллин	90 (≤ 1)	8 (1,5—3)	2 (≥ 4)
Цефаклор	98 (≤ 8)	0 (12—24)	2 (≥ 32)
Цефалотин	82 (≤ 8)	16 (12—24)	2 (≥ 32)
Хлорамфеникол	100 (≤ 2)	0 (3—6)	0 (≥ 8)
Эритромицин	0 ($\leq 0,5$)	48 (1—6)	52 (≥ 8)
Тетрациклин	100 (≤ 2)	0 (3—6)	0 (≥ 8)

рения новых антибактериальных препаратов может способствовать постепенному восстановлению чувствительности популяции возбудителей и химиопрепаратам, ранее утратившим свою эффективность.

Устойчивость *H. influenzae* к эритромицину, по данным зарубежных авторов [2], существенно варьирует, достигая 30—50%. Наши результаты свидетельствуют о 100% промежуточной и абсолютной резистентности клинических изолятов *H. influenzae* к этому антибиотику, что можно объяснить как региональными различиями, так и увеличением частоты применения макролидов при пневмониях легионеллезной и микоплазменной этиологии, достигающий в отдельные эпидемически неблагоприятные годы 7,4 и 30%, соответственно [3].

Особый интерес вызывают данные по чувствительности *H. influenzae* к цефалоспорином, семейство которых насчитывает около 50 препаратов трех поколений, различающихся по фармакологическим свойствам, антимикробному спектру и способам применения [4]. Цефалотин и цефаклор, использованные в данной работе, принадлежат к 1-й генерации цефалоспоринов, однако последний, имеющий преимущества перорального применения, часто относят ко 2-му поколению из-за его более высокой активности в отношении грамотрицательных бактерий. Выявленные достоверные ($p < 0,05$) различия между ними в антимикробной активности к *H. influenzae* (98 и 82%; см. табл. 2) кажутся не столь существенными в сравнении с цифрами (97 и 65%), представленными группой отечественных исследователей на 6-м Международном Конгрессе в Праге [10], проводивших аналогичные исследования в рамках настоящей региональной программы. Однако, как показывает тщательный анализ чувствительных к цефалотину штаммов *H. influenzae* (рис. 1), у них намечается явная тенденция к формированию резистентности за счет увеличения средних значений МИК цефалотина в пределах установленных для него границ чувствительности (6,8 мкг/мл), что в 3,5 раза превышает аналогичный показатель у цефаклора (1,96 мкг/мл). Подобная картина не наблюдается при сравнении хлорамфеникола и тетрациклина (рис. 2).

Таким образом, учитывая широкое разнообразие цефалоспоринов, выбор антибиотиков из этой группы при подозрении на инфекцию с участием *H. influenzae* должен проводиться с учетом его конкретной анти-

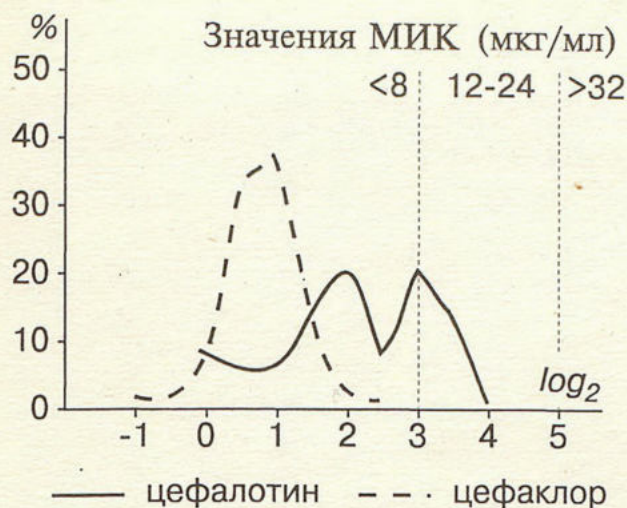


Рис. 1. Сравнительная оценка эффективности цефалотина и цефаклора.

Здесь и на рис. 2. по оси ординат отмечен процент чувствительных изолятов *H. influenzae*; по оси абсцисс — значения логарифмов двукратных разведений антибиотиков.

микробной активности и данных региональных исследований по слежению за формированием антибиотикорезистентности клинических изолятов, поскольку микробиологический мониторинг индивидуального больного не всегда доступен, связан со сроками, а лаборатории располагают ограниченными возможностями для определения расширенной антибиотикограммы возбудителя в условиях рутинной практики.

Аналогичные исследования одновременно с Россией проводились в Польше [7], Чехии [9] и Венгрии [11], где было отмечено нарастание удельного веса штаммов *H. influenzae*, продуцирующих β -лактамазу (что наблюдалось нами лишь в 1 случае из 50 изученных культур), и увеличение резистентности к ампициллину, цефалотину и, в меньшей степени, к цефаклору. Обращает внимание намечающаяся тенденция к снижению чувствительности *H. influenzae* к тетрациклину в Польше и значительная вариабельность эффективности эритромицина — от сравнительно высокой в Венгрии, до менее выраженной в Чехии. Согласно результатам наших исследований, ситуация с антибиотикорезистентностью *H. influenzae* в России представляется более благоприятной благодаря достаточно широкому выбору химиопрепаратов для лечения заболеваний, вызванных данным возбудителем.

Выводы

1. Клинические изоляты *H. influenzae* сохраняют чувствительность к хлорамфениколу и тетрациклину, а из цефалоспоринов 1-го поколения цефаклор имеет преимущества перед цефалотином как по эффективности, так и по способу применения.

2. Определение фермента β -лактамазы у *H. influenzae* является информативным экспресс-методом для решения вопроса о целесообразности применения β -лактамов антибиотиков.

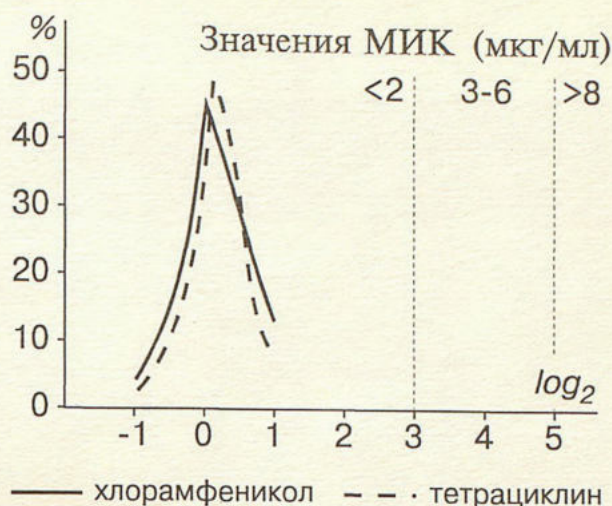


Рис. 2. Сравнительная оценка эффективности хлорамфеникола и тетрациклина.

3. Данные ретроспективного анализа антибиотикорезистентности *H. influenzae* в конкретном регионе являются основой для проведения ранней рациональной химиотерапии (и химиопрофилактики) данного вида инфекции до получения результатов микробиологического обследования больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубков М.Н. Бактерии родов *Moraxella* и *Acinetobacter* и их роль в патологии человека: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1989.
2. Леофонт П. Антибактериальная терапия инфекций нижних дыхательных путей // Пульмонология. — 1992. — № 2, приложение. — С.52—60.
3. Ноников В.Е., Зубков М.Н., Никушенкова Л.И., Гугуцидзе Е.Н. Острые пневмонии на фоне хронического пиелонефрита у лиц старше 60 лет // Тер. арх. — 1987. — № 1. — С.97—101.
4. Яковлев В.П. Цефалоспорины // Пульмонология. — 1993. — Приложение. — С.7—11.
5. Baker C.N., Stocker S.A., Culver D.H. et al. Comparison of the E Test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria // J. Clin. Microbiol. — 1991. — Vol.29, № 3. — P.533—538.
6. Dereck F.J., Brown L. Evaluation E. Test a novel method of quantifying antimicrobial activity // J. Antimicrob. Chemother. — 1991. — Vol.27. — P.185—190.
7. Hryniewicz W. et al. Resistance patterns of *Staphylococcus aureus* and *Haemophilus influenzae* isolates to antimicrobial agents as evaluated by E-Tests—results of multicenter study in Poland // International Congress for Infectious Diseases, 6-th. — Prague, 1994. — P.169.
8. Kilian M. *Haemophilus* // Manual Clinical Microbiology / Ed. A.Balows. — 5-th Ed. — Washington, 1991. — P.463—470.
9. Sechser T. Czech republic and summary of results // International Congress for Infectious Diseases, 6-th. — Prague, 1994. — P.169.
10. Sidorenko S.V., Navashin S.M., Speranskaya O.N. Resistance patterns of *Haemophilus influenzae* and *Staphylococcus aureus* in Russia // International Congress for Infectious Diseases, 6-th. — Prague, 1994. — P.170.
11. Thege M.K. et al. Resistance of *Haemophilus influenzae* and *Staphylococcus aureus* in Hungary // International Congress for Infectious Diseases, 6-th. — Prague, 1994. — P.169.

Поступила 31.10.94.