

Антибіотикорезистентність штамів *H. influenzae*, виділених від хворих із негоспітальними інфекціями дихальних шляхів в Україні

Я.О. Дзюблик

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф.Г. Яновського НАМН України», м. Київ

Уперше в Україні проведений багатоцентровий мікробіологічний моніторинг частоти і структури резистентності штамів гемофільної палички, виділених від хворих з інфекціями дихальних шляхів. Установлено, що частота нечутливих до ампіциліну штамів становила 6%. Абсолютну активність проти даного патогену продемонстрували амоксициліну клавуланат, цефалоспорини, макроліди і фторхінолони. Високий рівень стійкості патогену до ко-тримоксазолу (понад 40%) зумовлює необхідність відмови від застосування цього препарату в терапії хворих з інфекціями дихальних шляхів. Отримані дані можуть бути використані для створення національних рекомендацій з лікування даної групи хворих.

Ключові слова: *Haemophilus influenzae*, антибіотикорезистентність, інфекції дихальних шляхів.

На сьогодні переважну більшість бактеріальних негоспітальних інфекцій дихальних шляхів (НІДШ) спричинюють *S. pneumoniae* та *H. influenzae*. На долю гемофільної палички припадає 5–18% усіх випадків негоспітальної пневмонії (НП) та 20–47% інфекційного загострення хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) [1–3]. За останні десять років у багатьох країнах світу спостерігають збільшення частоти виділення штамів *H. influenzae*, резистентних до антимікробних хіміопрепаратів [4, 5]. Це підтверджують результати не тільки окремих вибіркового досліджень, але й дані постійного мікробіологічного моніторингу із застосуванням стандартизованих методів [6]. Найбільше клінічне значення в світі має стійкість гемофільної палички до бета-лактамінів. Основним механізмом резистентності цього збудника вважають продукцію бета-лактамаз, які інактивують антибіотик шляхом гідролізу одного із зв'язків бета-лактаманого кільця. В окремих випадках ре-

зистентність збудника реалізується за рахунок модифікації мішені (наприклад внаслідок мутації у гені, який відповідає за синтез пеніцилінів'язувального білка) [7]. Зростання частоти резистентності гемофільної палички у світі та збільшення частоти неефективності антимікробної хіміотерапії зумовили проведення цього дослідження і в Україні.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження було побудоване за схемою багатоцентрового порівняльного контрольованого дослідження штамів збудників, виділених у географічно різних регіонах країни. Чутливість виділених штамів *H. influenzae* до антибіотиків визначали централізовано у референс-лабораторії (м. Дніпропетровськ). Необхідно підкреслити, що в Україні подібні дослідження раніше не виконували. Перелік клінічних центрів, у яких було організовано взяття лабораторних зразків у хворих, наведений у табл. 1.

У якості матеріалу для мікробіологічного дослідження використовували мокроту, бронхо-альвеолярні змиви (БАЗ), пунктат придаткових синусів носу, пунктат барабанної порожнини вуха (малюнок).

У даному дослідженні для виділення гемофільної палички використовували кров'яний агар виробництва Oxoid, Велика Британія. Інкубацію культур *H. influenzae* проводили у вологій атмосфері з високим вмістом CO₂ (5–10%) і температури 35–37°C. Ідентифікацію гемофільної палички проводили із урахуванням морфологічних особливостей колоній та використанням наступних тестів:

- тест із сапоніном, або тест на здатність до сателітного росту (метод «годівниць»);
- виявлення β-галактозидази;
- визначення потреби у X- та V-факторах росту.

Таблиця 1

Перелік клінічних центрів – учасників програми вивчення резистентності

Місто	Назва лікувально-профілактичного закладу	Відділення	Відповідальний дослідник
Дніпропетровськ	Міська клінічна лікарня № 6	Терапевтичне	Чл.-кор. НАМН України, проф. Т.О. Перцева
Івано-Франківськ	Обласний фтизіопульмонологічний центр	Пульмонологічне	Проф. М.М. Островський
Київ	ГВКГ МО України	Пульмонологічне	Проф. О.Я. Дзюблик
Київ	Міська клінічна лікарня № 17	Пульмонологічне	Проф. О.Я. Дзюблик
Київ	ДУ "Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України"	Пульмонологічне	Проф. О.Я. Дзюблик
Вінниця	Міська клінічна лікарня № 1	Пульмонологічне	Проф. Ю.М. Мостовий
Запоріжжя	Дитяча клінічна лікарня № 5	ЛОР	Доц. А.О. Вертегел
Сімферополь	Міська клінічна лікарня № 7	Пульмонологічне	Канд. мед. наук М.О. Захарова
Львів	КЗ Львівська обласна клінічна лікарня "ОХМАТДИТ"	ЛОР	Ф.Б. Юрочко

Результати визначення чутливості штамів *H. influenzae* до антибіотиків, CLSI (2013)

Антибіотик	Кількість чутливих штамів		Кількість резистентних штамів		Кількість помірнорезистентних штамів	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Ампіцилін	63	94	3	4,5	1	1,5
Амоксицилін/кла-вуланат	67	100	0	0	0	0
Цефуроксим	67	100	0	0	0	0
Цефтриаксон	67	100	0	0	0	0
Цефіксим	67	100	0	0	0	0
Азитроміцин	67	100	0	0	0	0
Кларитроміцин	67	100	0	0	0	0
Ципрофлоксацин	67	100	0	0	0	0
Левовфлоксацин	67	100	0	0	0	0
Ко-тримоксазол	40	59,7	5	7,5	22	32,8

Методика проведення дослідження чутливості гемофільної палички базувалась на рекомендаціях CLSI (2013), США. Використовували метод серійних розведень у НТМ-бульйоні (основа – бульйон Мюллера–Хінтона із стабілізованим катіонним складом (за іонами кальцію та магнію), до якого додавали дріжджовий екстракт та фактори V і X).

Тестування проводили в об'ємі 1 мл кожного із розведень антибіотика із кінцевою концентрацією гемофільної палички приблизно 5×10^5 КУО/мл. Серійні розведення антибіотика готували із стартового розчину на НТМ-бульйоні, який потім розливали по 0,5 мл у кожен пробірочку. У подальшому під час внесення культури гемофільної палички концентрація антибіотика зменшувалась удвічі. Таким чином, утворювали низку пробірок із розчином антибіотика об'ємом по 0,5 мл, концентрації в яких із кроком у 2 рази відрізнялися одна від одної. Одночасно готували низку розведень антибіотика для тестування контрольних штамів гемофільної і кишкової паличок.

Для приготування інокулому використовували добову культуру *H. influenzae* на шоколадному агарі. Утворювали суспензію колоній мікроорганізму у фізіологічному розчині натрію хлориду до мутності 0,5 за стандартом Мак-Фарланда. Подальше розведення у 100 разів цієї суспензії готували на НТМ-бульйоні, після чого концентрація гемофільної палички становила приблизно 5×10^6 КУО/мл. По 0,5 мл інокулому вносили у пробірочки із 0,5 мл розчину антибіотика та у 2 пробірочки із бульйоном без антибіотиків (негативний контроль і контроль росту).

Далі проводили облік результатів за допомогою візуального оцінювання наявності росту шляхом порівняння кожної тестової пробірочки із пробірочкою «негативний контроль». Мінімальну пригнічувальну концентрацію (МПК) визначали за найменшою концентрацією антибіотика, яка пригнічувала видимий ріст *H. influenzae*.

Визначали чутливість *H. influenzae* до 10 антибактеріальних препаратів, а саме: ампіциліну, амоксициліну клавуланату, цефуроксиму, цефтриаксону, цефіксиму, азитроміцину, кларитроміцину, ципрофлоксацину, левофлоксацину, триметоприму/сульфаметоксазолу. У тестуванні використовували подвійні серійні розведення перерахованих вище антибіотиків (Oxoid, Велика Британія).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

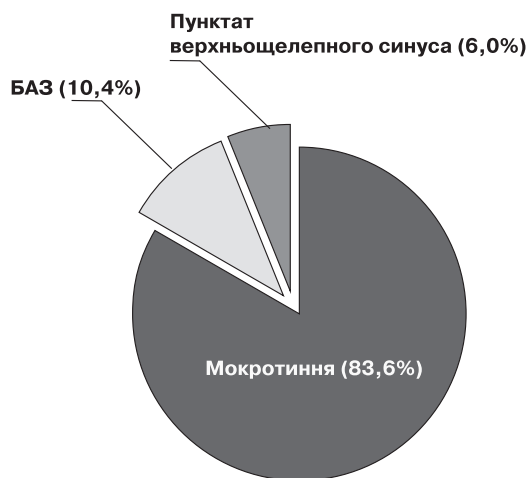
Під час проведення дослідження – з 14 жовтня 2010 р. до 30 травня 2012 р. – в усіх центрах було зібрано 67 штамів *H. influenzae*. Результати чутливості штамів *H. influenzae* до антибіотиків наведено у табл. 2.

Клас бета-лактамних антибіотиків в цілому зберігає досить високий рівень активності відносно гемофільної палички. Стійкими до ампіциліну були лише 6% штамів. У 3 резистентних штамів рівень стійкості був дуже високий – МПК становила 128 мг/л. У проведеному дослідженні ми не виявили штамів *H. influenzae*, резистентних до амоксициліну/клавуланату. Висока активність даного антибіотика по відношенню до збудника підтверджує його статус як препарату вибору в терапії хворих із цими інфекціями.

Традиційно у терапії хворих із НІДШ у нашій країні широко застосовують антибіотики цефалоспоринового ряду. Найбільшого використання набули такі антибіотики, як цефуроксимуаксетил, цефіксим, цефтриаксон. У результаті дослідження чутливості штамів гемофільної палички, зібраних у різних клініках України, було встановлено, що ситуація зі стійкістю відносно препаратів даного класу є досить прийнятною. Практично всі штами даного збудника виявились чутливими до цих препаратів. За критеріями CLSI (2013), чутливість штамів гемофільної палички до цефуроксиму аксетилу, цефіксиму і цефтриаксону складала 100%.

Було встановлено, що по відношенню до гемофільної палички абсолютно активними є також представники сучасних макролідних антибіотиків. Так, чутливість штамів даного збудника щодо азитроміцину і кларитроміцину складала 100%.

Така сама ситуація спостерігалась щодо представників фторхінолонів, які були використані у дослідженні. Серед усіх штамів гемофільної палички, які були протестовані, не



Розподіл клінічного матеріалу, з якого виділено штами *H. influenzae*

було виявлено жодного резистентного штаму. Іншими словами, чутливість ізолятів збудника до ципрофлоксацину і левофлоксацину складала 100%.

Незадовільним слід уважати рівень резистентності гемофільної палички до ко-тримоксазолу. Кількість нечутливих (помірнорезистентних і резистентних) штамів складала близько 40%. Ураховуючи такий рівень стійкості *H. influenzae* до ко-тримоксазолу, даний препарат не може бути рекомендований для використання у лікуванні НІДШ, спричинених цим патогеном. У дослідженні не було виявлено жодного полірезистентного штаму *H. influenzae*, тобто стійкого до трьох або більше класів антибіотиків.

Дані щодо профілю резистентності гемофільної палички по відношенню до основних представників антимікробних хіміопрепаратів, отримані в результаті першого в Україні мікробіологічного скринінгу, є надзвичайно важливими. Найсуттєвішим здобутком необхідно вважати виявлення того факту, що попри збільшення поширеності стійких до антибіотиків штамів цього збудника в світі, ситуація в Україні поки що залишається досить сприятливою. Відсутність у ізолятів *H. influenzae* значущої стійкості до бета-лактамів дозволяє продовжити клінічне використання цих антибіотиків, у першу чергу амінопеніцилінів. Згідно з даними ана-

логічного дослідження ПЕГАС-II (2004–2005), проведеного у Росії, рівень резистентності збудника до ампіциліну склав 5,4% [8]. Як бачимо, результати є досить близькими, що відбиває історичну спільність систем охорони здоров'я наших країн. Так само, як і російські колеги, ми виявили практично абсолютну активність амоксициліну/клавуланату, цефалоспоринів (за виключенням цефуроксиму, проте цей факт має певні методологічні підстави), макролідів та фторхінолонів. Наслідком необґрунтовано широкого використання ко-тримоксазолу в клінічній практиці на території нашої країни наприкінці ХХ сторіччя став високий рівень стійкості *H. influenzae* по відношенню до даного препарату. Зважаючи на цей факт, ко-тримоксазол не може більше використовуватися у лікуванні хворих на НІДШ.

ВИСНОВКИ

Проведене дослідження структури і частоти резистентності *H. influenzae* в Україні не виявило суттєвого рівня стійкості даного патогену до основних груп антибактеріальних препаратів. Проте попри відсутність значних загроз проведення постійного мікробіологічного моніторингу стійкості даного збудника на території нашої країни слід вважати вкрай необхідним.

Антибиотикорезистентность штаммов *H. Influenzae*, выделенных от больных с негоспитальными инфекциями дыхательных путей в Украине Я.О. Дзюблик

Впервые в Украине проведен многоцентровой микробиологический мониторинг частоты и структуры резистентности штаммов гемофильной палочки, выделенных от больных с инфекциями дыхательных путей. Установлено, что частота нечувствительных к ампициллину штаммов составляла 6%. Абсолютную активность против данного патогена продемонстрировали амоксицилина клавуланат, цефалоспорины, макролиды и фторхинолоны. Высокий уровень устойчивости патогена к ко-тримоксазолу (более 40%) обосновывает необходимость отказа от применения этого препарата в терапии больных с инфекциями дыхательных путей. Полученные данные могут быть использованы для создания национальных рекомендаций по лечению данной группы больных.

Ключевые слова: *Haemophilus influenzae*, антибиотикорезистентность, инфекции дыхательных путей.

Antibiotic resistance strains *H. Influenzae*, isolated from patients with community-acquired respiratory tract infections in Ukraine J.O. Dzyublik

For the first time in Ukraine it was held multicentral microbiological monitoring of frequency and resistance patterns of *Haemophilus influenzae* strains isolated from patients with respiratory tract infections. The frequency of strains sensitive to ampicillin was 6%. Absolute activity against this pathogen was showed with amoxicillin clavulanate, cephalosporins, macrolides and fluoroquinolones. High level of pathogen resistance to cotrimoxazole (40%) justifies the need for the non-use of this drug in the treatment of patients with respiratory tract infections. The obtained data can be used in the development of national guidelines for the treatment of these patients.

Key words: *Haemophilus influenzae*, antimicrobial resistance, respiratory tract infections.

Сведения об авторе

Дзюблик Ярослав Александрович – ГУ «Научный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф.Г. Яновского НАМН Украины», 03680, г. Киев, ул. Н. Амосова, 1; тел.: (044) 275-04-02

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Фещенко Ю.И. Фармакотерапия больных с обострениями хронического обструктивного заболевания легких [Текст] / Ю.И. Фещенко, В.К. Гаврисюк, А.Я. Дзюблик // Укр. пульмонолог. журн. – 2008. – № 2. – С. 5–8.
2. Alamoudi O.S. Bacterial infection and risk factors in outpatients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: a 2-year prospective study [Text] / O.S. Alamoudi // *Respirology*. – 2007. – Vol. 12, S. 2. – P. 283–287.
3. Чучалин А.Г. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. Пособие для врачей [Текст] / Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. – М., 2010. – 84 с.
4. Surveillance study of the susceptibility of *Haemophilus influenzae* to various antibacterial agents in Europe and Canada [Text] / W.T. Jansen // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2008. – Vol. 24, S. 10. – P. 2853–2861
5. Susceptibilities of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, including serotype 19A, and *Moraxella catarrhalis* paediatric isolates from 2005 to 2007 to commonly used antibiotics [Text] / C.J. Harrison [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2009. – Vol. 63, S. 3. – P. 511–519.
6. Non-susceptibility trends among *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from community-acquired respiratory tract infections in the UK and Ireland, 1999–2007 [Text] / I. Morrissey // *J. Antimicrob. Chemother.* – Vol. 2008. – Vol. 62, S. 2. – P. 97–103.
7. Diversity of ampicillin-resistance genes in *Haemophilus influenzae* in Japan and the United States [Text] / K. Hasegawa // *Microb. Drug. Resist.* – 2003. – Vol. 9, S. 1. – P. 39–46.
8. Страчунский Л.С. Чувствительность к антибиотикам *H. influenzae*, выделенных у здоровых детей из организованных коллективов [Текст] / Л.С. Страчунский [и др.] // *KMAX*. – 2002. – № 1, Т. 4. – С. 33–41.

Статья поступила в редакцию 23.05.2014