

Бактериальные менингиты, вызванные *H. influenzae* «b», в Екатеринбурге

Л. Г. Боронина

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Россоцздрава

Резюме

С 1986 по 2005 гг. проведено обследование 786 образцов спинномозговой жидкости (СМЖ) и 356 образцов крови от детей в возрасте от 10 дней до 14 лет с подозрением на первичный (внебольничный) гнойный менингит и менингококковую инфекцию. Бактериальный менингит, вызванный *H. influenzae*, занимает второе место после гнойных менингитов, вызванных менингококком. В Екатеринбурге среди всех детей до 14 лет с диагнозом «первичный гнойный менингит» *H. influenzae*, диагностирован не более, чем у 9%. *H. influenzae* «b», выделенные из ликвора, были чувствительны к ампициллину, амоксициллину/клавуланату, офлоксацину, цефуроксиму, цефалору, хлорамфениколу и резистентны к цефалоспорином первого поколения.

Ключевые слова: *H. influenzae*, гнойный менингит, резистентность к антибиотикам.

Введение

H. influenzae является одним из возбудителей гнойно-септических инфекций: острой пневмонии, острого бронхита, конъюнктивита, острого среднего отита, сепсиса, хронических заболеваний легких. Грамотрицательная палочка *H. influenzae* имеет как бескапсульные так и капсульные варианты, наиболее патогенным является *H. influenzae* сероварианта «b» (Hib), вызывающий менингит, эпиглоттит, целлюлит. Из множества гнойно-септических заболеваний бактериальные менингиты занимают особое место в связи не только со сложностью лечения, но и с тяжестью социальных и медицинских последствий.

H. influenzae типа «b» — самая распространенная причина бактериальных менингитов в США в конце прошлого века. Заболеваемость инвазивными *H. influenzae*-инфекциями в течение 1970–1980-х годов в США и Канаде составила от 40 до 100 случаев на 100 000 детей до 5-летнего возраста [13]. По результатам европейских исследований в до вакцинальный период показатель заболеваемости Hib-менингитом в большинстве стран составляет 11,5–30,3 на 100 000 в возрасте до 5 лет, что существенно ниже, чем в странах американского континента, где этот показатель от 30,3 до 94,6 [13]. В странах Северной Европы в структуре этиологии гнойных менингитов у детей роль *H. influenzae* в разные периоды времени и на разных территориях существенно отличается

[12]. Информации о заболеваемости бактериальными менингитами *H. influenzae*-этиологии в СССР до 80-х годов в доступной литературе представлено не много. До 1973 г. считали, что *H. influenzae*-менингитом заболевают в основном дети до одного года, ослабленные частыми катарам верхних дыхательных путей и пневмониями. Т. М. Зубик с соавторами в 1983 г. описали *H. influenzae*-менингит у солдат-новобранцев [4]. В течение многих лет в нашей стране истинная распространенность Hib-менингитов оставалась неизвестной, чему способствует отсутствие регистрации менингитов с учетом этиологии. Результаты исследований в СССР этиологии гнойных менингитов, опубликованные в 1984 г. А. А. Деминой и В. И. Покровским, показали, что бактериальные менингиты вызваны *H. influenzae* в 5% случаев всех менингитов, чаще в возрасте от шести месяцев до 1,6 лет [3]. По данным ретроспективного анализа наблюдений за гнойными бактериальными менингитами в период 1980–1989 гг. *H. influenzae* менингиты составили 4,1%. Из 163 детей, заболевших *H. influenzae* менингитом, 94% составили дети до 14 лет, из них в 89,6% — дети до пяти лет [3]. По данным исследования в четырех городах Российской Федерации (Архангельске, Екатеринбурге, Москве, Санкт-Петербурге) в 1997 г. из 54 больных *H. influenzae* типа «b» менингитами — умерли 7 человек (13%), в то время как от менингококковой инфекции погибло 10,7% больных [3]. Заболеваемость Hib — менингитами в Москве, по данным А. Е. Платонова и И. С. Королевой, за период 1999–2001 гг. составила

Боронина Любовь Григорьевна — доцент кафедры клинической лабораторной и микробиологической диагностики ФУВ и ПП УГМА.

ежегодно 5,7 на 100 000 детей возрасте до 5 лет [9]. Летальность при менингите, эпиглоттите, целлюлите, перикардите, вызванных *H. influenzae*, по данным американских исследователей в 1975 г. составила 6%. В. И. Покровский и В. К. Таточенко считают, что низкий уровень заболеваемости Ниб-инфекциями в нашей стране объясняется не столько диагностическими ошибками, столько меньшей восприимчивостью к этой инфекции популяции, в частности, московских детей [8]. По результатам исследования в США сыворотка крови большинства детей в возрасте от 3 месяцев до 3 лет не обладает бактерицидной активностью против капсульных *H. influenzae* типа «b», кровь новорожденных и детей старшего возраста и большинства взрослых является бактерицидной. Устойчивость новорожденных к инфекции определяется трансплацентарной передачей антител, титр которых, как отмечено в значительном количестве исследований, оказался высоким. Во многих странах Европы и Америки с 90-х годов применяется вакцинация детей до трех лет, в России вакцина для профилактики Ниб-инфекции зарегистрирована и разрешена к применению. **Цель** — определение закономерностей выявления *H. influenzae* в структуре первичных гнойных менингитов у детей и резистентности к антибиотикам штаммов, вызвавших менингит в Екатеринбургe.

Материалы и методы

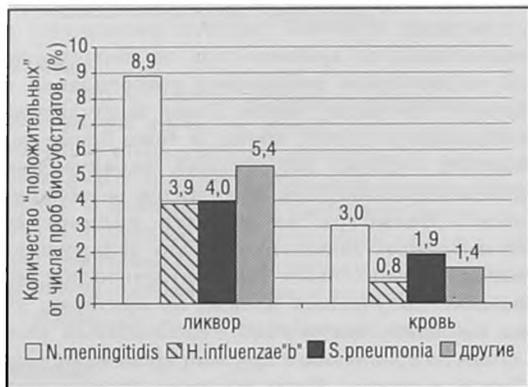
С 1986 по 2005 г. проведено обследование 786 образцов спинномозговой жидкости (СМЖ) и 356 образцов крови от детей в возрасте от 10 дней до 14 лет с подозрением на первичный гнойный менингит и менингококковую инфекцию. Все случаи гнойного бактериального менингита подтверждены общепринятыми клинико-лабораторными исследованиями. Изучение этиологии проводили при микроскопии, посеве ликвора и крови на модифицированную двухфазную «шоколадный агар Эрдс» среду, среду «Haemoline», сывороточный агар и в реакции латекс-агглютинации с диагностикумами «Sladex meningite Kit 5», «Directigen Meningitis combo Test», иммуно-ферментным методом (ИФА) Идентификацию проводили рутинными методиками или API NH, ID NH (bio Merieux). Биотипирование *H. influenzae* осуществляли по Kilian [11], серотипирование — экспериментальными сыворотками к капсульным антигенам *H. influenzae* (a,b,c,d,e,f). Определение чувствительности к антибиотикам *H. influenzae* проводилось на среде Haemophilus Test Medium Agar (НТМА) диско-диффузионным методом, а также на полуавтоматической системе, основанной на определении МПК, АТВ NH, АТВ Haemo, β -лактамазы определя-

ли хромогенным тестом с нитроцефином (bioMerieux) [1, 2]. Статистическая обработка материала проводилась в программе Statistica 6.

Результаты исследования и обсуждение

Этиология бактериальных менингитов определена в 314 случаях-25,2% из них 31 случай *H. influenzae* «b»-менингита. Среди всех первичных гнойных менингитов, *H. influenzae*-менингиты встречались во все времена года, достоверных отличий частоты выявления в зависимости от времени года не обнаружено, за исключением небольшого преобладания в январе, феврале, марте. Реже возбудитель выделялся в летнее время, в тоже время сезонного подъема заболеваний, характерного для менингококковых менингитов не обнаружено. Несмотря на то, что количество *H. influenzae*-менингитов было обнаружено меньше всего осенью, при статистической обработке полученных данных по критерию χ^2 , не выявлено каких-либо существенных различий по сравнению с другими временами года. Зимой и осенью было выделено практически одинаковое количество *H. influenzae*, статистически значимых различий в обнаружении *H. influenzae*-менингитов весной и летом ($p=0,2$), летом и осенью ($p=0,5$), зимой и осенью ($p=0,09$) не выявлено. При сравнении сезонной встречаемости менингококковых и *H. influenzae*-менингитов обнаружено достоверное различие: с вероятностью 99% доказано более частое выявление менингококковых менингитов осенью, чем *H. influenzae*-менингитов ($p<0,001$), но отсутствует разница в обнаружении этих менингитов зимой и весной ($p>0,05$). Существенной разницы в выявлении *H. influenzae* и других менингитов, например, вызванных пневмококком, в зависимости от сезона у детей не выявлено. В 1986 г. установлена этиология гнойных менингитов только у 15% обследованных; *H. influenzae*-менингиты обнаружены у 2% обследованных. С 1986 по 1988 г. использовался преимущественно бактериологический метод, и ретроспективно исследовали ликвор для обнаружения полисахарида *H. influenzae* «b» в тест-системе ИФА, разработанной нами в 1987 г., чувствительность которой составила 0,1 нг/мл. В ИФА определили антигены капсульного полисахарида «b» в ликворе от 13 больных, из них в трех случаях бактериологическим методом *H. influenzae* не обнаружили. Произошло увеличение частоты этиологической расшифровки гнойного менингита в 1987 г. до 18%, при этом *H. influenzae*-менингит диагностирован у 7% обследованных. В 1988 г. выявлены возбудители в ликворе от детей с гнойными менингитами в 31% случаев. Увеличение частоты выявления *H. influenzae*

Рисунок 1. Частота выделения возбудителей из крови и ликвора у детей с первичными гнойными менингитами. По оси ординат — % «положительных» результатов от числа 363 проб крови и 799 проб ликвора. Обозначение столбцов: 1) *N. meningitidis*, 2) *H. influenzae* «b», 3) *S. pneumoniae*, 4) другие возбудители, кроме 1), 2), 3).



«b» в 1988 г. и последующие годы по сравнению с 1986 и 1987 гг. связано с применением «шоколадного» агара из кроличьей крови, и индикации капсульного полисахарида *H. influenzae* «b» в ликворе методом ИФА. Частота выявления возбудителей менингитов увеличилась в 1988 г.: этиология определена в 31% случаев, из них в 13% — *N. meningitidis*, в 9% — *H. influenzae* «b», в 3% — *S. pneumoniae* и других возбудителей — 6%. Несмотря на большую частоту выявления *H. influenzae*, — в 9% от числа всей менингитов — *H. influenzae* выявлен только у трех больных из 32. В 1995 г. в Екатеринбурге этиология гнойных менингитов была расшифрована в 6 случаях из 89, что составило только 8% от числа исследованных случаев менингита, по причине применения лишь бактериоскопического метода, а бактериологический метод выполнялся не в полном объеме из-за отсутствия ингредиентов (сыворотки крупного рогатого скота, дрожжевого экстракта, крови) для приготовления сред. В 1995 г. у больных гнойным менингитом *H. influenzae* или ее антигены не обнаружены. С 1997 г. для индикации в ликворе антигенов *H. influenzae* «b», *S. pneumoniae*, стрептококков группы В, менингококков серогрупп А, В, С, Y, W135, *E. coli* K1 применяли латекс-агглютинацию с диагностикумами: «Sladex meningite Kit 5», «Directigen Meningitis combo Test». Метод латекс-агглютинации применяли как экспресс метод вместе с микроскопическим и бактериологическим методами. Капсульный полисахарид «b» был обнаружен в ликворе всех больных, у

которых была выделена *H. influenzae* «b» другими методами, и в 3 случаях, когда был обнаружен только капсульный полисахарид «b» *H. influenzae* без выделения культуры. Так же нами было доказана возможность длительного обнаружения полисахаридов *H. influenzae* «b» в ликворе: в 6 случаях из 26 методом латекс-агглютинации обнаруживали полисахарид *H. influenzae* «b» в течении 3-7 дней после первого обнаружения и позже, когда уже возбудитель не выделялся бактериологическим методом. Увеличение частоты выявления возбудителей гнойных менингитов достигнуто при применении дополнительных методов лабораторной диагностики, таких как иммуноферментный анализ и двухфазная среда с факторами роста. При применении культурального метода (двухфазная среда с факторами роста — ЭрДС) и методов выявления антигена капсульного полисахарида «b» в ликворе (ИФА и латекс-агглютинация) диагностика бактериального менингита проведена в ранние сроки. В некоторых случаях антигены возбудителя выявлялись в течение часа. В пробах ликвора от 24 больных методом латекс-агглютинации выявили антиген при «положительных» результатах, полученных другими методами, и только в 3(12%) случаях латексные тесты для выявления антигенов серотипа «b» позволили диагностировать *H. influenzae* «b»-менингит, поскольку результаты других исследований были отрицательны. В Екатеринбурге в отдельные годы, например в 2000 г., этиология гнойных менингитов была установлена у 48% обследованных, тем не менее *H. influenzae* выявлены

Рисунок 2. Количество случаев *H. influenzae*-менингита у детей от 1 месяца до 14 лет в Екатеринбурге. По оси абсцисс показаны группы детей: до 3 месяцев; от 3 месяца до 1 года; старше 1 года до 3 лет; от 3 лет до 5 лет включительно; от 6 лет до 14 лет включительно. По оси ординат абсолютное число случаев гнойного *H. influenzae* менингита

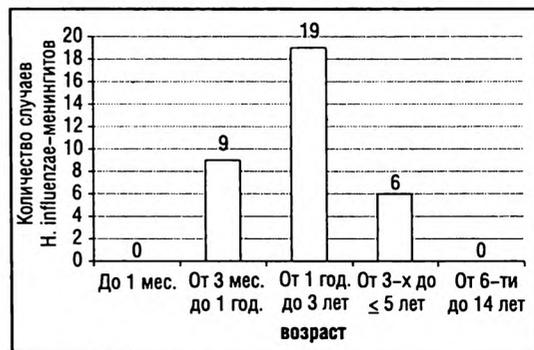
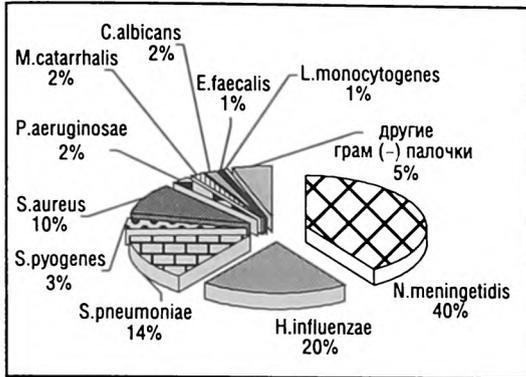


Рисунок 3. Частота выявления возбудителей гнойных менингитов у детей в возрасте менее 5 лет в Екатеринбурге в периоды 1986-1988 гг., 1995-2001 гг., в % (173 случая с установленной этиологией)



только у 3%. Таким образом, можно сделать вывод, что несмотря на увеличение этиологической расшифровки других гнойных менингитов, увеличения случаев *H. influenzae*-менингитов в течение всего периода наблюдений не выявлено.

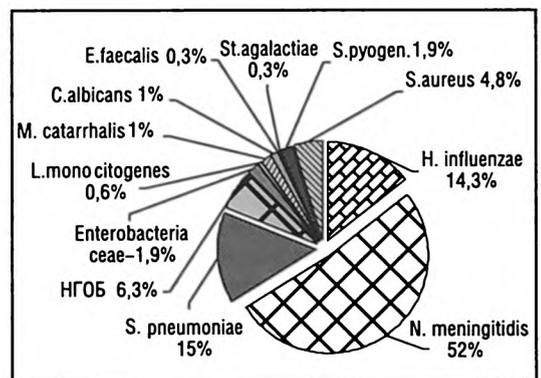
H. influenzae, как и другие возбудители гнойных менингитов, выделялись из ликвора и из крови; посеvy крови производились реже, чем посеvy ликвора. На рис. 1 показана частота выделения возбудителей гнойных менингитов из проб крови и ликвора. В целом, возбудители выделены в 24,6% из 799 проб ликвора и в 7,1% из 363 проб крови. *H. influenzae* из ликвора выделялась с той же частотой, что и пневмококк, а из крови реже, чем другие возбудители. Все штаммы *H. influenzae*, выделенные из ликвора и крови имели капсулу, типировались как серовар «b», и отнесены к I, II, III биотипу. Выявление возбудителей из крови при гнойных менингитах проводилось не во всех случаях, хотя известно, что при генерализованных инфекциях, вызванных *H. influenzae*, пневмококками и менингококками, возбудители находятся в крови, и культуральное исследование крови является обязательным. Выделение *H. influenzae* не только из ликвора, но и из крови, свидетельствует, что *H. influenzae*-инфекция протекает не только как менингит, но и как септицемия.

Все первичные бактериальные менингиты, вызванные *H. influenzae*, возникли только у детей в возрасте от 3 месяцев и не достигших шестилетнего возраста. На рис. 2 показаны случаи *H. influenzae* «b»-менингита, возникшие у детей разных возрастов. Достоверно чаще *H. influenzae*-менингит встречался

у детей до 3 лет, чем у более старших ($p < 0,05$). У детей, которым уже исполнилось 6 лет и старше (до 14 лет) *H. influenzae*-менингиты не выявлены. Необходимо отметить, что случаи *H. influenzae*-менингита в возрасте до полугода редко описываются как в отечественной, так и зарубежной литературе. Гнойный менингит, вызванный *H. influenzae* в первые месяцы жизни, по-видимому развивается из-за отсутствия материнских антител. На рис. 3 показана частота *H. influenzae*-менингитов среди всех случаев гнойных менингитов у детей до 5 лет, на рис. 4 — частота выявления *H. influenzae*-менингитов у детей от 10 дней до 14 лет. У детей до 5 лет с диагнозом «гнойный менингит» *H. influenzae* выявлена в 20% из 173 случаев с установленной этиологией при обследовании ликвора от 639 больных (рис. 3), и в 14,3% случаев среди детей всех возрастов (рис. 4)

В возрасте 3 месяцев *H. influenzae*-менингит определен только у трех из 31 больных, и только у троих детей в возрасте 5 лет (рис. 2). Необходимо отметить, что *H. influenzae*-менингиты у детей 5 лет, но не достигших 6 лет обнаружены не во все годы наблюдения, а только 3 случая в отдельные годы. Наибольшее количество заболевших детей было в возрасте от 1 до 3 лет. Статистически по критерию Стьюдента с достоверностью 99% доказано, что чаще *H. influenzae*-менингит встречается у детей до 3 лет, чем у детей старше этого возраста ($p < 0,001$), тогда как значимых различий между заболевшими детьми в возрасте до 1 года и от 1 до 3 лет не обнаружено ($p = 0,016$). Исследование проведено в детском стационаре, поэтому случаи менингитов, возникшие у подростков 15-18 лет, обычно гос-

Рисунок 4. Частота выявления возбудителей гнойного менингита у детей в возрасте до 14 лет в Екатеринбурге в периоды 1986-1988 гг., 1995-2005 гг., в % (314 случаев с установленной этиологией)



питализируемых в инфекционное отделение для взрослых, не исследовались.

Таким образом, ежегодно в Екатеринбурге у детей диагностировано от 3 до 7 случаев *H. influenzae* «b»-менингита; в структуре гнойных менингитов они составляют от 2 до 9%. Наши результаты не совпадают с данными об этиологической структуре гнойных менингитов в Москве в 2001-2003 гг., опубликованными И.С. Королевой с соавторами, где *H. influenzae*-менингиты зарегистрированы только в 3,8% случаев [5, 6]. По-видимому, это связано с расчетом относительных показателей частоты выявления *H. influenzae* в структуре всех гнойных менингитов. В это время в Москве среди возбудителей гнойных менингитов у детей преобладали менингококки серогруппы «А» (45,1%). Подобного подъема заболеваемости, вызванных менингококками серогруппы «А», имеющего тенденции к развитию вспышечной заболеваемости, в нашей области в эти периоды не зарегистрировано; в 2005 г. в Екатеринбурге и области преобладали менингококки серогруппы «С» (32,7%) и «В» (23,1%), а менингококки серогруппы «А» вызывали генерализованные инфекции только в 7,7% случаев [7]. Частота выявления *H. influenzae*-менингитов в Екатеринбурге отличается от частоты выделения в 1997 г. в Санкт-Петербурге: *H. influenzae* «b» — менингиты выявлены у 52% детей, поступивших в клинику НИИ детских инфекций г. Санкт-Петербурга. [10] Ни в предыдущие, ни в последующие годы *H. influenzae* «b»- менингиты в Санкт-Петербурге не встречались чаще менингококковых и не занимали первое место В наших исследованиях ни в один из периодов в Свердловске-Екатеринбурге *H. influenzae* «b» не выделялась при гнойных менингитах чаще менингококка.

У детей до 5 лет чаще, чем в других возрастах, встречаются первичные гнойные менингиты: в 76% случаях всех гнойных менингитов (943 наблюдения в Свердловске-Екатеринбурге) гнойные менингиты возникали у детей, которым не исполнилось 6 лет.

6 штаммов Нib, выделенных из ликвора, были чувствительны к ампициллину, амоксициллину/клавуланату, офлоксацину, рифампицину, цефуроксиму, цефаклору, хлорамфениколу и резистентны к цефалоспорином первого поколения. β-лактамазы, определяемые в нитроцефиновом тесте, у штаммов Нib не были обнаружены. Исследуемые штаммы *H. influenzae*, выделенные из ликвора больных с диагнозом «гнойный менингит», не имели выраженной резистентности к антибиотикам, таким образом, наши результаты соответствуют данным об отсутствии природной резистентности *H. influenzae* к ампициллину, амоксициллину/клавуланату, цефалоспорином 2-3-4 поколения.

Определение чувствительности у небольшого количества штаммов, выделенных и протестированных нами с применением международных стандартов, не позволяет быть уверенным, что все штаммы, вызвавшие *H. influenzae*-менингит в Екатеринбурге, так же не имеют резистентности к аминопенициллинам, цефалоспорином 2 поколения. В течение последних лет наблюдается увеличение количества штаммов, имеющих β-лактамазы, и рост резистентности к ампициллину. Тенденции увеличения резистентных штаммов *H. influenzae* наблюдаются на некоторых территориях России, но резистентные к антибиотикам штаммы *H. influenzae* встречаются в значительно меньших количествах, чем в странах Европы и Северной Америки.

Выводы

В отличие от менингококкового и пневмококкового менингита, Нib-менингит встречался у детей в возрасте от 3-х месяцев до 5-ти лет, не имел выраженных сезонных подъемов и регистрировался во все времена года.

Бактериальный менингит, вызванный *H. influenzae*, занимает второе место после первичных менингитов, вызванных менингококком. В Екатеринбурге среди всех детей до 14 лет с диагнозом «первичный (внебольничный) гнойный менингит» *H. influenzae* диагностирован не более, чем у 9%.

H. influenzae «b», выделенные из ликвора, были чувствительны к ампициллину, амоксициллину/клавуланату, офлоксацину, цефуроксиму, цефаклору, хлорамфениколу и резистентны к цефалоспорином первого поколения. В связи с тем, что существуют возможности распространения резистентных штаммов, необходимо тестировать штаммы *H. influenzae* «b» к ампициллину и определять β-лактамазу.

Несмотря на то, что в Екатеринбурге не обнаружено явной тенденции увеличения частоты выявления *H. influenzae* «b» при первичных бактериальных менингитах, для недоношенных детей с признаками иммунодефицита этот возбудитель является потенциально опасным, поэтому возможно увеличение бактериальных менингитов, вызванных *H. influenzae* «b».

Литература

1. Богданович Т.М., Стецюк О.У., Боронина Л.Г. Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *Haemophilus influenzae*. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2000; 2: 2: 93-109.
2. Горелов А.В., Карасева Е.А., Трефилов И.Ш. и др. Гемофильная инфекция у детей раннего возраста. Актуальные вопросы эпидемиологии, клиники, диагностики и профилактики инфекций, вызываемой *H. influenzae* тип «b» 1998; 6: 27.

Полный список литературы см. на сайте www.urnj.ru