

Jerzy Chylak, Zefiryn Cybulski, Teresa Tulecka

## PAŁECZKI Z RODZAJU *HAEMOPHILUS* U DZIECI Z NAWRACAJĄCYMI ZAPALENIAMI GÓRNYCH DRÓG ODDECHOWYCH

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Instytut Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych A.M.  
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu  
P.o. Kierownik: Prof. dr hab. K. Pietkiewicz

*Przeprowadzono badania pałeczek Haemophilus izolowanych od dzieci z nawracającymi zapaleniami górnych dróg oddechowych. Wykazano ich wysoką oporność na ampicylinę, biseptol i cefradynę. Stwierdzono wytwarzanie  $\beta$ -laktamaz przez ok. 15% badanych szczepów.*

Pałeczki *H. influenzae* i *H. parainfluenzae* są często izolowane z gardła zarówno od chorych jak i zdrowych dzieci (7, 11). Ich zdolność do wywoływania stanów zapalnych gardła i migdałków podniebiennych bywa kwestionowana. Udowodniono jednakże, że zwłaszcza *H. influenzae*, mogą stanowić czynnik etiologiczny zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych, nagłośni, ucha środkowego czy też zapaleń płuc, głównie wśród dzieci (1, 6, 14). Od zdrowych i chorych dzieci najczęściej izoluje się z gardła formy bezotoczkowego *H. influenzae*, które uznawane są za mniej chorobotwórcze niż rzadziej izolowane postacie otoczkowe. Postacie otoczkowe, zależnie od struktury antygenów otoczki, podzielono na 6 typów serologicznych: a, b, c, d, e, f, z których serotyp b jest najbardziej zjadliwy.

Pałeczki *H. parainfluenzae* są dosyć powszechnie uznawane jako gatunek mało chorobotwórczy, chociaż opisywano przypadki zapaleń wsierdza, dróg moczowych, opon mózgowo-rdzeniowych czy zapaleń płuc i oskrzeli wywoływanych przez ten gatunek (3, 4, 9, 16, 19). W zależności od ich właściwości biochemicznych, *H. influenzae* i *H. parainfluenzae* podzielono na siedem typów biochemicznych. Jak podają liczni autorzy, do najczęściej występujących biotypów *H. influenzae* należą biotypy I, II, III (1, 11, 13, 18, 22), a *H. parainfluenzae* – biotypy I i II (19, 22).

Celem obecnej pracy było przeprowadzenie charakterystyki szczepów *H. influenzae* i *H. parainfluenzae* izolowanych z gardła od dzieci z nawracającym zapaleniem górnych dróg oddechowych. Określono biotypy, serotypy (dotyczy pał. *H. influenzae*), lekooporność oraz zdolność do produkcji  $\beta$ -laktamaz.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 157 szczepów *H. influenzae* i 114 szczepów *H. parainfluenzae* izolowanych w latach 1992–1994 z gardła od dzieci chorujących na zapalenie górnych dróg oddechowych. Hodowle prowadzono na agarze czekoladowym

z czynnikami wzrostowymi oraz dodatkiem bacytracyny (Sigma) w atmosferze 10% CO<sub>2</sub> korzystając z gspaków firmy bioMerieux. Przynależność do gatunku określano na podstawie zapotrzebowania na czynniki wzrostowe z użyciem krążków z czynnikami X, V, XV.

Rozpoznanie potwierdzano badaniami biochemicznymi używając zestawów API NH firmy bioMerieux, co pozwalało także na określanie biotypów. Szczepy *H. influenzae* określano serologicznie za pomocą surowic aglutynacyjnych firmy Difco. Wytwarzanie  $\beta$ -laktamaz określano metodą jodometryczną (2), a lekooporność badano metodą krążkową używając jako podłoża agaru czekoladowego zawierającego czynniki wzrostowe. Podłoże zakażano 0,1 ml zawiesiny badanych pałeczek hemofilowych w 0,85% roztworze NaCl o gęstości 0,5 wg *Mac Farlanda* (densytometr 1550 ATB). Do badań użyto krążków z erytromycyną, ampicyliną, gentamycyną, doksycyliną, biseptołem (wszystkie krążki firmy Biomed) oraz cefradyną i augmentiną (firmy bioMerieux) i cefuroksyem (firmy Oxoid).

## WYNIKI

Wśród 157 szczepów *H. influenzae* izolowanych z gardła od chorych dzieci, aż 122 szczepy (77,7%) należały do pierwszych trzech biotypów. Do biotypu pierwszego należało 49 szczepów (31,2%) do biotypu II należały 44 szczepy (28,0%), a do biotypu III – 29 szczepów (18,4%). Najrzadziej spotykanym biotypem był biotyp VI, do którego należały 2 szczepy *H. influenzae*.

99 badanych szczepów (63,1%) *H. influenzae* nie typowało się użytymi do badań surowicami. Spośród szczepów typujących się najczęściej występował serotyp b (43 szczepy = 27,4%). Pozostałe serotypy występowały sporadycznie. Szczegółowe wyniki badań przedstawiono w tabeli I, w której wyszczególniono biotypy i serotypy badanych pał. *H. influenzae*.

Spośród 114 badanych szczepów *H. parainfluenzae* najwięcej szczepów należało do biotypu I (33 szczepy = 28,9%) oraz biotypu II (36 szczepów = 31,6%). Biotypy III i IV były prezentowane przez 17 szczepów (14,9%) i 21 szczepów (18,4%), odpowiednio.

Tabela I. Typy biochemiczne i serologiczne pałeczek *H. influenzae*.

| Typ biochemiczny | Serotyp |      |     |     |     |     |      | Liczba szczepów | (%)  |
|------------------|---------|------|-----|-----|-----|-----|------|-----------------|------|
|                  | a       | b    | c   | d   | e   | f   | NT   |                 |      |
| I                | 1       | 12   | 2   | –   | –   | 2   | 32   | 49              | 31,2 |
| II               | –       | 10   | –   | 2   | 1   | 2   | 29   | 44              | 28,0 |
| III              | –       | 7    | –   | 2   | –   | –   | 20   | 29              | 18,5 |
| IV               | 1       | 4    | –   | –   | –   | 1   | 7    | 13              | 8,3  |
| V                | –       | 6    | –   | 1   | –   | –   | 5    | 12              | 7,6  |
| VI               | –       | 1    | –   | –   | –   | –   | 1    | 2               | 1,3  |
| VII              | –       | 3    | –   | –   | –   | –   | 5    | 8               | 5,1  |
| OGÓLEM           | 2       | 43   | 2   | 5   | 1   | 5   | 99   | 157             | 100  |
| Procent          | 1,3     | 27,4 | 1,3 | 3,1 | 0,6 | 3,1 | 63,1 |                 |      |

Do biotypu VII zaliczono jedynie 6 szczepów (5,2%), a do biotypu VI należał tylko 1 szczep (0,9%). Nie spotkano pał. *H. parainfluenzae* należących do biotypu V.

Od 42% do 45,9% badanych szczepów pał. *H. influenzae* było opornych na cefradynę, biseptol i ampicylinę. Natomiast gentamycyna i erytromycyna wykazywała wysoką skuteczność przeciwbakteryjną. Tylko 3,8% szczepów było opornych na gentamycynę, a 6,4% szczepów na erytromycynę. Na cefuroksym, doksycyklinę i augmentinę było opornych 11,5%, 15,9% i 21,7% szczepów, odpowiednio. Szczegółowe wyniki badań podano w tabeli II, zaznaczając liczbę i procent szczepów *H. influenzae*.

Tabela II. Lekooporność i typy biochemiczne pałeczek *H. influenzae*.

| Typ biochemiczny | Liczba szczepów | (% ) | Liczba szczepów opornych |      |     |      |      |      |      |      |
|------------------|-----------------|------|--------------------------|------|-----|------|------|------|------|------|
|                  |                 |      | E                        | Bs   | Ge  | CH   | Am   | Dk   | CXM  | AMC  |
| I                | 49              | 31,2 | 4                        | 18   | 2   | 24   | 22   | 10   | 8    | 12   |
| II               | 44              | 28,0 | 2                        | 22   | 2   | 28   | 18   | 5    | 4    | 9    |
| III              | 29              | 18,5 | 1                        | 15   | 2   | 10   | 14   | 4    | 5    | 9    |
| IV               | 13              | 8,3  | -                        | 6    | -   | 2    | 6    | 2    | 1    | 2    |
| V                | 12              | 7,6  | 1                        | 3    | -   | 6    | 5    | 1    | -    | 2    |
| VI               | 2               | 1,3  | 1                        | 1    | -   | -    | -    | 2    | -    | -    |
| VII              | 8               | 5,1  | 1                        | 2    | -   | 2    | 1    | 1    | -    | 1    |
| OGÓLEM           | 157             | 100  | 10                       | 67   | 6   | 72   | 66   | 25   | 18   | 34   |
| Procent          |                 |      | 6,4                      | 42,3 | 3,8 | 45,9 | 42,0 | 15,9 | 11,5 | 21,7 |

Legenda:

E - erytromycyna

CH - cefradyna

CXM - cefuroksym

Bs - biseptol

Am - ampicylina

AMC - augmentina

Ge - gentamycyna

Dk - doksycyklina

Tabela III. Lekooporność i typy biochemiczne pałeczek *H. parainfluenzae*.

| Typ biochemiczny | Liczba szczepów | (% ) | Liczba szczepów opornych |      |     |      |      |      |      |      |
|------------------|-----------------|------|--------------------------|------|-----|------|------|------|------|------|
|                  |                 |      | E                        | Bs   | Ge  | CH   | Am   | Dk   | CXM  | AMC  |
| I                | 33              | 28,9 | 3                        | 19   | 4   | 14   | 13   | 7    | 4    | 7    |
| II               | 36              | 31,6 | 3                        | 16   | 1   | 13   | 17   | 12   | 2    | 10   |
| III              | 17              | 14,9 | 2                        | 12   | 1   | 5    | 10   | 4    | 4    | 7    |
| IV               | 21              | 18,4 | 2                        | 9    | 1   | 10   | 11   | 14   | 2    | 6    |
| V                | -               | -    | -                        | -    | -   | -    | -    | -    | -    | -    |
| VI               | 1               | 0,9  | 1                        | 1    | -   | 1    | 1    | -    | -    | -    |
| VII              | 6               | 5,2  | -                        | 2    | -   | 4    | 2    | 1    | -    | 1    |
| OGÓLEM           | 114             | 100  | 11                       | 59   | 7   | 47   | 54   | 38   | 12   | 31   |
| Procent          |                 |      | 9,6                      | 51,8 | 6,1 | 41,2 | 47,4 | 33,3 | 10,5 | 27,2 |

Legenda:

E - erytromycyna

CH - cefradyna

CXM - cefuroksym

Bs - biseptol

Am - ampicylina

AMC - augmentina

Ge - gentamycyna

Dk - doksycyklina

opornych na badane leki, z uwzględnieniem ich przynależności do określonych biotypów. Jak wynika z tej tabeli, pał. *H. influenzae* były najczęściej odporne na biseptol, niezależnie od biotypu.

Pał. *H. parainfluenzae* były najczęściej odporne na biseptol (51,8%), ampicylinę (47,4%), cefradynę (41,2%) i doksycyklinę (33,3%). Badane szczepy wykazywały wyższą wrażliwość na gentamycynę, erytromycynę i cefuroksym, gdzie obserwowano, odpowiednio 6,1%, 9,6% i 10,5% szczepów opornych. 27,2% badanych szczepów wykazywało oporność na augmentinę. Szczegółowe wyniki badań podano w tabeli III, zaznaczając liczbę i procent szczepów *H. parainfluenzae* opornych na badane leki oraz ich przynależność do określonych biotypów. Należy podkreślić zwiększoną oporność na augmentinę pałeczek należących do biotypu III oraz na doksycyklinę pałeczek z biotypu IV.

Spośród 157 szczepów badanych pałeczek *H. influenzae* 22 (14%) wytwarzało  $\beta$ -laktamazy, a spośród 114 szczepów *H. parainfluenzae* 18 szczepów wykazywało tę cechę.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badane szczepy *H. influenzae* najczęściej należały do biotypów, kolejno, I, II i III. Również inni autorzy podają, że pałeczki należące do tych biotypów wykrywano najczęściej w posiewach wymazów z gardła od dzieci (1, 11, 13, 18). Ponad 60% badanych pał. *H. influenzae* nie typowało się użytymi surowicami, co znajduje potwierdzenie w pracach innych autorów (14, 18). Spośród szczepów typujących się najczęściej występował serotyp b, który stanowił 27,4% wszystkich badanych szczepów. Inne serotypy spotykano sporadycznie, co też znajduje potwierdzenie w pracach innych autorów (14, 18).  $\beta$ -laktamazy wytwarzało 14% badanych szczepów i wynik ten nie odbiega od ustaleń innych autorów, wg których  $\beta$ -laktamazy produkuje do 44% pał. *H. influenzae* izolowanych z gardła (6, 15, 20, 22).

Badanie lekooporności analizowanych szczepów pał. *H. influenzae* wykazało niski odsetek szczepów opornych na gentamycynę i erytromycynę. Znaczną wrażliwość *H. influenzae* na antybiotyki aminoglikozydowe przedstawiali w swoich pracach inni autorzy (7, 12). Jednak aminoglikozydy mają ograniczone zastosowanie w terapii schorzeń wywoływanych przez *H. influenzae* (19). Wysoka wrażliwość badanych szczepów *H. influenzae* na erytromycynę nie znajduje potwierdzenia w badaniach innych autorów, którzy stwierdzają dużą oporność pał. *H. influenzae* na ten antybiotyk (5, 22).

42% badanych szczepów *H. influenzae* było opornych na ampicylinę, 42,3% szczepów wykazywało oporność na biseptol i 45,9% na cefradynę. Również inni autorzy opisują wysoką oporność *H. influenzae* na ampicylinę i biseptol (5, 8, 12, 18). Jak wynika z naszych badań dużą skuteczność przeciw pał. *H. influenzae* wykazywały cefuroksym, doksycyklina i augmentina (11,5%, 15,9% i 21,7% szczepów opornych, odpowiednio). Wielu autorów podkreśla wysoką skuteczność cefuroksymu przeciw pał. *H. influenzae* (5, 8, 15) oraz spadek wrażliwości tych drobnoustrojów na augmentinę (8, 18).

Badane szczepy *H. parainfluenzae* w większości należały do biotypów I i II. Biotypy III i IV były rzadziej spotykane, przy czym nie spotykano biotypu V.

Doniesienia o dominacji biotypów I i II są często publikowane (4, 18, 19, 22).  $\beta$ -laktamazy wytwarzało 15,8% szczepów *H. parainfluenzae*, co jest zgodne z wynikami uzyskiwanymi przez innych autorów (17, 22).

Badanie lekowrażliwości analizowanych szczepów *H. parainfluenzae* dało podobne wyniki do wyników badań lekooporności pał. *H. influenzae*. Wyniki te są zgodne z doniesieniami innych autorów (20, 21).

## WNIOSKI

1. Wykazano, że większość szczepów *H. influenzae* i *H. parainfluenzae* należy do biotypów I i II.

2. Stwierdzono, że zarówno pał. *H. influenzae* i *H. parainfluenzae* były odporne najczęściej na ampicylinę, biseptol i cefradynę.

3. Serotyp b, traktowany jako potencjalnie najbardziej patogenny, stanowił ponad 25% szczepów *H. influenzae* izolowanych od dzieci.

4. Zwraca uwagę wytwarzanie  $\beta$ -laktamaz przez ok. 15% szczepów *H. influenzae* i *H. parainfluenzae*.

J. Chylak, Z. Cybulski, T. Tulecka

## HAEMOPHILUS SP. IN CHILDREN SUFFERING FROM CHRONIC UPPER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

### SUMMARY

For a three year period, between 1992 and 1994, 271 isolates of *H. influenzae* and *H. parainfluenzae* were examined using biochemical tests,  $\beta$ -lactamase production and antibiotic susceptibility patterns. *H. influenzae* was examined by serological typing using polyvalent and monovalent sera a-f (Difco), as well. The strains were derived from children who were treated because of chronic pharyngitis. Sensitivity tests to Erythromycin, Gentamycin, Cefradine, Ampicillin, Doxycycline, Cefuroxime, Amoxicillin/Clavulanic Acid, Co-Trimoxazole, were performed with a standard disk-diffusion method. Biotyping was performed using API NH set (bioMerieux) and the ability to produce  $\beta$ -lactamase was measured using iodometric method.

Of 157 *H. influenzae*, 58 (36.9%) were typeable with *H. influenzae* antisera. The most common biotypes of these strains were I and II although biotypes III-VII were presented, as well.

Of 114 *H. parainfluenzae* most of the strains showed the biotypes I and II. Its worth noting that 14% of *H. influenzae* and 15.8% of *H. parainfluenzae* strains were capable of  $\beta$ -lactamase production.

The strains of *H. influenzae* and *H. parainfluenzae* were most resistant to Cefradine and Co-Trimoxazole, respectively.

### PIŚMIENNICTWO

1. Clements D.A., Guise I.A., MacInnes S.J., Gilbert G.L.: J. Infect. Dis., 1992, 165, supp. 1, 33.
2. Collee J.G., Duguid J.P., Fraser A.G., Marmion B.: Mackie and McCartney. Practical medical microbiology. Churchill Livingstone, Edinburgh London Melbourne and New York 1989.
3. Elkuaz R., Castillo M., Pena M.J., Bordes A., Campos-Harrero M.I., Lafardga B.: Enferm. Infect.

Microbiol. Clin., 1992, 10, 5, 315. – 4. *Foweraker J.E., Cooke N.J., Hawkey P.M.*: Agents Chemother., 1993, 37, 4, 814. – 5. *Garleschi M.L., Rusconi F., Colombo R., Conio F., Sideri S., Varotto F., Arghittu M., Passerini C., Sala R.*: Eur. J. Epidemiol., 1993, 9, 1, 64. – 6. *Gervais A., Suter S.*: Vaccines, 1993, 11, supp. 1, 834. – 7. *Gutkowska J.*: Otol. Pol., 1985, XXXIX, 1, 83. – 8. *Holt H., Bywater J.M., Reeves D.S.*: J. antimic. Chemother., 1990, 24, supp. E, 7. – 9. *Jemsek J.G., Greenberg S.B., Gentry L.O., Welton D., Mattox K.L.*: Am. J. Med., 1979, 66, 51. – 10. *Klasterky J.J.*: Antimic. Chemother., 1981, 8, supp. A, 143.

11. *Kuklińska-Michalska D., Wójcik E., Gutkowska J.*: Med. Dośw. Mikrobiol., 1982, 3-4, 95. – 12. *Kuklińska-Michalska D., Gutkowska J., Wójcik E., Kopacka B.*: Med. Dośw. Mikrobiol., 1981, 1, 39. – 13. *Landgraf I.M., Vieira M.F.*: J. Clin. Mikrobiol., 1993, 31, 3, 743. – 14. *Lehmann D.*: J. Infect. Dis., 1992, 165, supp. 1, 20. – 15. *Mandell L.A., Nicolet E., Ronald A.R., Duperval R., Robson H.G., Feld R., Vincelette J., Fong I.J.*: J. Antimic. Chemother., 1983, 12, supp. A, 9. – 16. *Poupart M.C., Dabbaghi F., Chanal C., Sirot D., Loriette Y., Sirot J.*: Presse Med.: 1993, 22, 17, 815. – 17. *Sato T., Tasaki H., Ueda K., Kuroiwa T.*: Jpn. J. Antibiot., 1985, 38, 3, 784. – 18. *Simm M., Dzierżanowska D.*: Pol. Tyg. Lek., 1985, XL, 9, 253. – 19. *Taylor D.C., Crips A.W., Clancy R.L., Murree A.K., Kersley M.J., Saunders N.H., Sutherland D.C.*: J. Med. Microbiol., 1992, 36, 4, 279. – 20. *Timon C.I., McAlister V.A., Walsh M., Cafferkey M.T.*: Respir. Med., 1990, 84, 5, 395.

21. *Tirado M., Baro M.T., Hermida M., Morta M., Alia C., Roy C.*: Enferm. Infect. Microbiol. Clin., 1992, 10, 6, 355. – 22. *Urbaskowa P., Thuy H.T.*: J. Hyg. Epidemiol. Immunol., 1992, 36, 1, 93.

Adres: Instytut Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych AM,  
61-712 Poznań, ul. Wieniawskiego 3