

PL ISSN 0033-2100

PRZEGLĄD EPIDEMIOLOGICZNY

ORGAN
PAŃSTWOWEGO ZAKŁADU HIGIENY
I
POLSKIEGO TOWARZYSTWA EPIDEMIOLOGÓW I LEKARZY
CHORÓB ZAKAŹNYCH

KWARTALNIK

*

SUPLEMENT 1

TOM 54

WARSZAWA

ROK 2000

PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY

Polskie Towarzystwo Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych

LEKOOPORNOSC DROBNOUSTROJÓW

WYBRANE ZAGADNIENIA

pod redakcją W. Haloty i M. Pawłowskiej

Publikacja zawiera referaty wygłoszone podczas konferencji Naukowej PTE i LCHZ „Lekooporność drobnoustrojów - współczesne zagrożenie”, która odbyła się w dniach 2-4 września 1999 roku w Bydgoszczy

Przedmowa

Niniejsza monografia jest pokłosiem Konferencji Naukowo Szkoleniowej „Lekooporność drobnoustrojów - współczesne zagrożenie” zorganizowanej przez Polskie Towarzystwo Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych w dniach 2-4 września 1999 roku w Bydgoszczy.

Zarząd Główny Towarzystwa konsekwentnie podejmuje najważniejsze zagadnienia z zakresu zakażeń i chorób zakaźnych oraz próby koncentrowania wokół nich specjalistów różnych działów medycyny.

Podobnie jak w przypadku poprzedniej konferencji poświęconej „szczepionkom i szczepieniom” o randze podjętego problemu najlepiej świadczy żywy oddźwięk ze strony uczestników.

Konferencja zgromadziła kilkuset przedstawicieli różnych specjalności medycznych stykających się na co dzień z problemami zakażeń, chemioterapii i lekooporności. Była ona dobrą płaszczyzną konfrontacji między lekarzami praktykami a specjalistami mikrobiologii i diagnostyki laboratoryjnej.

Dziękuję wszystkim uczestnikom i wykładowcom, którzy wzięli w niej udział. Szczególne podziękowania jestem winien Panu Profesorowi Januszowi Jeljaszewiczowi, dyrektorowi Państwowego Zakładu Higieny, który podjął się trudu kierowania Komitetem Naukowym.

Wyrażam nadzieję, iż przedstawione opracowania zaspokoją oczekiwania PT Czytelników oraz pomogą w rozwiązywaniu przynajmniej części problemów, z którymi spotykamy się w codziennej pracy.

Przewodniczący Zarządu Głównego



SPIS TREŚCI

Janusz Jeljaszewicz - Zakażenia i choroby zakaźne - teraźniejszość i przyszłość	7
Wiesław Magdzik - Epidemiologia zakażeń lekoopornych w Polsce	12
Grażyna Młynarczyk - Molekularne podstawy antybiotykooporności bakterii	18
Andrzej Młynarczyk - Genom <i>Staphylococcus aureus</i> i antybiotykooporność	26
Alfred Samet - Zakażenia szpitalne	34
Jadwiga Wójkowska-Mach, Małgorzata Bulanda, Piotr B. Heczko, Janusz Jeljaszewicz, Paweł Adamski - Ocena częstości występowania zakażeń szpitalnych w polskich szpitalach w 1998 roku na podstawie wyników programu Polskiego Towarzystwa Zakażeń Szpitalnych	37
Stefania Giedrys-Kalemba - Antybiotykooporność bakterii izolowanych w zachodnim i północnym regionie polski	45
Agata Pietrzyk, Małgorzata Bulanda, Piotr B. Heczko - Antybiotykooporność w południowym regionie Polski. Analiza wrażliwości czynników etiologicznych szpitalnych zakażeń dróg oddechowych na leki przeciwbakteryjne	57
Maria Lucyna Zaremba - Antybiotykooporność bakterii w regionie wschodnim Polski	65
Urszula Zielińska, Jacek Jastrzębski - Antybiotykooporne bakterie u chorych leczonych w Oddziale Intensywnej Terapii	76
Longin Marianowski - Lekooporne infekcje w ginekologii i perinatologii	83
Eugenia Gospodarek, Grzegorz Ziółkowski - Antybiotykooporne szczepy <i>Acinetobacter baumannii</i> występujące w Polsce	88
Sławomir Majewski, Beata Młynarczyk - Lekooporne zakażenia przenoszone drogą płciową	97
Zofia Zwolska, Ewa Augustynowicz-Kopeć, Magdalena Klatt -Gruźlica lekooporna w Polsce. Badania epidemiologiczne	101
Alicja Budak - Lekooporne zakażenia grzybicze	110
Danuta Prokopowicz, Bożena Panasiuk, Ewa Tynecka - Lekooporność w zarażeniach pasożytniczych	48
Małgorzata Pawłowska, Waldemar Halo ta - HAART z wykorzystaniem didanozyny (ddl. Videx) i hydroksymocznika w świetle dotychczasowych badań	122
Waldemar Halota - HCV - współczesne zagrożenie	128
Jacek Juszczyk - Negatywne czynniki odpowiedzi na leczenie interferonem-ot przewlekłych zakażeń wirusem C zapalenia wątroby	136
Małgorzata Pawłowska - Wybrane wykładniki immunologiczne zdrowienia chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C leczonych interferonem i rybawiryną	141

ZAKAŻENIA I CHOROBY ZAKAŻNE - TERAŹNIEJSZOŚĆ I PRZYSZŁOŚĆ

prof, dr hab. med. Janusz Jeljaszewicz Dyrektor

Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

Tak niedawno, bo zaledwie 25 lat temu, groźba dżumy wydawała się przebrzmiałym problemem, a zgony z powodu chorób zakaźnych - skutkiem niskiego poziomu higieny oraz braku skutecznych antybiotyków i szczepionek. Lekarze i pracownicy administracji służby zdrowia w najbardziej uprzemysłowionych krajach byli przekonani, że choroby zakaźne stanowią zanikający problem. Pewien wpływowy uczone amerykański napisał w 1975 roku, że „...w ciągu ostatnich 150 lat w Zachodnim Świecie zostały praktycznie wyeliminowane zgony z powodu chorób zakaźnych”. Wówczas taki optymizm wydawał się uzasadniony. Ospa prawdziwa uległa niemal całkowitej eradykacji, zapadalność na gruźlicę i *poliomyelitis* się zmniejszyła, podobnie było z innymi głównymi zagrożeniami infekcyjnymi XX wieku (z wyjątkiem malarii). Uчени wierzyli, że dzięki poprawie warunków sanitarnych, szczepieniom ochronnym i antybiotykom, wszystkie zakażenia będą szybko wyeliminowane, a nowe się nie pojawią.

Oczywiście, już wówczas wyrażano sceptycyzm. Czynniki etiologiczne zakażeń, a także owady je przenoszące, zaczęły wykazywać oporność na leki i środki chemiczne, które dotąd były tak bardzo skuteczne. Optymistyczne prognozy nie były zgodne z tym, co już wówczas uczeni wiedzieli o nadzwyczajnej zdolności przystosowawczej drobnoustrojów. Na przykład istnieją przypuszczenia, że *scrapie* - choroba z grupy encefalopatii gąbczastych, dotykająca owce - została przeniesiona na bydło, powodując opisaną ostatnio ence-

falopatię gąbczastą bydła (*bovine spongiform encephalopathy* - BSE, tzw. choroba szalonych krów). Wysłunięto również podejrzenie, że czynnik etiologiczny BSE może stanowić zagrożenie dla ludzi (choroba Creutzfeldta i Jakoba).

Dziś już wiemy, że sprawdziły się prognozy pesymistów - nadeszły nowe czasy i pojawiły się nowe zakażenia, a dotąd mało chorobotwórcze drobnoustroje zaczęły powodować poważne, zagrażające życiu choroby. Wzrasta też liczba czynników ryzyka, które ułatwiają szerzenie się zakażeń. Obecnie uczeni nie twierdzą już, że postęp medycyny zapewni eliminację wszystkich chorób infekcyjnych.

Wydaje się, że gdy jedno się opanuje, pojawią się inne.

Jak głosi oświadczenie Harvard Working Group on New and Resurgent Diseases, wydane w 1995 roku, należy przyjąć, że choroby zakaźne zawsze będą stanowić część problemów ludzkości, a uczeni powinni przyjąć ten punkt widzenia w celu zrozumienia ewolucji chorób. Zamiast lokować całkowite zaufanie w zwalczanie zakażeń, które już wystąpiły (tak było dotąd), należy próbować określić czynniki sprzyjające pojawianiu się i szerzeniu nowych zakażeń.

Używane potocznie określenie „choroby zakaźne” nadmiernie wiązane jest z klasycznymi chorobami wywoływanymi przez drobnoustroje, dlatego wprowadzono bardziej nowoczesne określenie „choroby infekcyjne”, obejmujące także nowo opisywane zakażenia. Powszechnie mówi się o „nowych chorobach”, „pojawiających się zakażeniach”, „ponownie

występujących zakażeniach”, „lekoopomych drobnoustrojach”. Dziedzina nauki zajmująca się tymi zagadnieniami często jest nazywana infektologią.

W World Health Report 1996, oficjalnym dokumencie Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) napisano: „Postęp uzyskany w ostatnich dekadach na drodze do poprawy zdrowia człowieka jest obecnie zagrożony. Znajdujemy się na skraju światowego kryzysu w chorobach infekcyjnych. Żaden kraj nie jest bezpieczny”.

Jak więc wygląda obecna sytuacja? Choroby zakaźne są na świecie główną przyczyną zgonów noworodków i zabijają co najmniej 17 milionów osób rocznie. Większość z tych chorób znajduje się jednak w zasięgu działań zmierzających do ich eliminacji w ciągu kilku najbliższych lat. Zakażenia dzikimi szczepami wirusów *poliomyelitis* powinny zniknąć do 2000 roku. Nie notuje się już ich zupełnie w 145 krajach. Trąd jest powoli pokonywany i za kilka lat nie będzie stanowił istotnego problemu zdrowia publicznego. Choroba pasożytnicza - drakunkuloza wywoływana przez nicienia *Dracunculus medinensis*, na którą w 1986 roku chorowało na świecie 3,5 mln ludzi, została ograniczona do 120000 przypadków w 1995 roku. Onchocerkoz, inna choroba pasożytnicza, wywoływana przez filarię *Onchocerca volvulus*, jest eliminowana w 12 krajach zachodniej Afryki, a choroba Chagasa (trypanosomatoza amerykańska) w 6 krajach Ameryki Południowej.

Pomimo tych sukcesów cel, jakim jest kontrola chorób zakaźnych, jest wciąż odległy. Z wielu powodów liczne choroby zakaźne nadal się szerzą, a ich kontrola staje się coraz trudniejsza.

Pojawiające się choroby zakaźne zostały określone przez WHO 7 kwietnia 1997 roku (Międzynarodowy Dzień Zdrowia) jako główne zagrożenie dla świata. Dotyczy to nawet najbardziej rozwiniętych krajów. W USA pośród 10 najczęstszych przyczyn

zgonów znajdują się AIDS oraz zapalenie płuc i grypa.

Lekooporne szczepy bakterii i innych drobnoustrojów stanowią poważne zagrożenie w walce z gruźlicą, malarią, cholerą i innymi biegunkami oraz zapaleniem płuc - zakażeniami, które były przyczyną śmierci ponad 10 milionów osób w 1995 roku. Każdej godziny tylko z powodu malarii umiera około 50 osób.

Wiele z najsilniejszych antybiotyków utraciło skuteczność, a niektóre bakterie są odporne na 10 i więcej leków. Oba główne czynniki etiologiczne zapalenia płuc - *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* stają się coraz bardziej odporne na leki. Gruźlica, o której sędzono, że jest pod kontrolą - powraca gwałtownie i jest obecnie przyczyną zgonu około 3,1 mln osób rocznie, a lekooporne szczepy *Mycobacterium tuberculosis* szerzą się w wielu krajach. Cholera, która nie występowała już w Ameryce Południowej od dziesięcioleci, pojawiła się w 1991 roku w Peru i szybko rozprzestrzeniła na całym kontynencie. W latach 90. w Rosji wybuchła epidemia błonicy. Największa od 1950 roku epidemia żółtej febry na kontynencie amerykańskim wybuchła w Peru w 1995 roku. W tym samym roku w Środkowej i Południowej Ameryce miała miejsce epidemia dengi (gorączka krwotoczna), która objęła 200000 chorych.

W ostatnich latach pojawiło się co najmniej 30 nowych chorób infekcyjnych. W stosunku do wielu z nich nie ma skutecznych metod leczenia lub szczepionek. Jeszcze kilkanaście lat temu nie znano HIV, a obecnie liczbę zakażonych ocenia się na 20 mln, a za 5 lat liczba ta wzrośnie do 50 mln. Nowa odmiana śmiertelnych gorączek krwotocznych, z których najbardziej ostatnio znana, wywoływana przez wirus Ebola, pojawiła się w Afryce, Azji, Ameryce Łacińskiej i USA. Podczas epidemii gorączki Ebola w 1996 roku w Zairze umarło 80% chorych (!). W USA zaobserwowano natomiast pojawienie się zespołu płucnego powodowa-

Tabela. Niektóre drobnoustroje i choroby infekcyjne odkryte po 1972 roku

Rok	Drobnoustrój	Choroba u człowieka
1973	rotavirus grupy A	główna przyczyna ostrych biegunek no świecie
1975	parwovirus B19	aplazja szpiku w przewlekłej niedokrwistości hemolitycznej
1976	<i>Cryptosporidium parvum</i> (pierwotniak)	ostra i przewlekła biegunka
1977	wirus Ebola	gorączka krwotoczna Ebola
1977	hantawirus	gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym
1977	<i>Campylobacter jejuni</i> (bakteria)	patogeny jelitowe no całym świecie
1980	ludzki wirus T-limfotropowy – HTLV-1	białaczka lub chłoniak z limfocytów T
1981	szczyepy <i>Staphylococcus aureus</i> z nową toksyną – superantygenu (bakteria)	toksyna wstrząsu toksycznego (tampony u kobiet)
1982	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (bakteria)	biegunka krwotoczna, zespół hemolityczno-mocznicowy
1982	HTLV-2	białaczka włośchatokomórkowa
1982	<i>Borrelia burgdorferi</i> (bakteria)	borelioza z Lyme
1983	HIV	AIDS
1983	<i>Helicobacter pylori</i> (bakteria)	choroba wrzodowa
1985	<i>Enterocytozoon bieneusi</i> (pierwotniak)	przewlekła biegunka
1986	<i>Cyclospora cayatanensis</i> (pierwotniak)	przewlekła biegunka
1988	ludzki wirus herpes typu 6 – HHV-6	gorączka trzydniowa
1988	wirus hepatitis E – HEV	zapalenie wątroby nie-A i nie-B przenoszone drogą pokarmową
1989	<i>Ehrlichia chaffeensis</i> (bakteria)	erlichioza ludzka
1989	HCV	zapalenie wątroby nie-A i nie-B przenoszone drogą pozajelitową
1991	wirus Guanarito	wenezuelska gorączka krwotoczna
1991	<i>Encephalitozoon hellem</i> (pierwotniak)	zapalenie spojówek, zakażenie uogólnione
1991	nowe rodzaje <i>Babesia</i> (pierwotniak)	nietyпова babezjoza
1992	<i>Bartonella hensellae</i> (bakteria)	choroba kociego pazura
1993	<i>Encephalitozoon cuniculi</i> (pierwotniak)	zakażenie uogólnione
1994	wirus Sabia	brazylijska gorączka krwotoczna
1995	ludzki wirus herpes typu 8 – HHV-8	związek z mięsakiem Kaposiego w AIDS

nego przez nową odmianę wirusa Hantaan – umarło ponad 50% chorych. Inne hantawirusy występują od wielu lat w Azji i wywołują go-

rażki krwotoczne z niewydolnością nerek. W ostatnich latach zidentyfikowano szereg nowych wirusów zapalenia wątroby. Około

300 milionów ludzi na świecie jest nosicielami wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV), a dalsze 100 milionów - HCV. Około 1/4 z nich prawdopodobnie umrze z powodu związanych z tymi zakażeniami chorób wątroby. Obserwuje się szerzenie wirusów HEV i ostatnio HGV. Całkowicie nowy szczep *Vibrio cholerae* 0139 pojawił się w 1992 roku w Indiach i rozprzestrzenił się już do innych krajów. Niedawno wykryte drobnoustroje, takie jak *Cryptosporidium parvum* lub nowe szczepy *Escherichia coli*, powodują epidemiczne zakażenia przenoszone przez żywność i wodę zarówno w krajach uprzemysłowionych, jak i rozwijających się.

Wirusy, bakterie i pasożyty okazują się też przyczynami wielu przypadków nowotworów. WHO ocenia, że rocznie można byłoby uniknąć około 1,5 mln nowych zachorowań na nowotwory, gdyby zapobiegano niektórym zakażeniom.

Wirusy brodawek człowieka (*papillomavirus*, HPV) przenoszone drogą płciową, wydają się być odpowiedzialne za większość z 529 000 przypadków raka szyjki macicy wykrywanych rocznie. Każdego roku także około 434 (XX) przypadków raka wątroby - 82% światowej zapadalności - jest związanych z wirusami HBV i HCV, natomiast 550 000 nowych zachorowań na raka żołądka wiąże się z *Helicobacter pylori*. Odkryto już 13 innych, dotąd nieznanych bakterii z rodzaju *Helicobacter*, występujących u zwierząt.

Listę niektórych drobnoustrojów poznanych po 1972 roku oraz chorób przez nie wywoływanych przedstawiono w tabeli. Wiele z nich odkryto dzięki postępom nauki, szczególnie biologii molekularnej. Niektóre okazały się przyczyną powszechnie występujących chorób, poznanie zaś innych (np. HTLV) pozwoliło na odkrycie HIV.

Ponieważ z wielu powodów nowe zakażenia nie są w wielu krajach rozpoznawane, ich skutki wiąże się z innymi chorobami, a leczenie nie jest skuteczne. Wynika to zazwyczaj z tradycyjnych poglądów i niechęci do korzystania z nowej wiedzy, złego wyposażenia i marginalnej roli laboratoriów mikrobiologicznych, a także arogancji

administracji służby zdrowia. Koszty moralne i materialne nienadążania za postępem wiedzy na świecie są trudne do przecenienia.

Ale i koszty znanych dobrze chorób zakaźnych są bardzo wysokie. Z różnych powodów brak jest danych polskich, ale są dostępne na przykład dane amerykańskie. Główne choroby, zakaźne kosztują rocznie około 120 miliardów dolarów w kosztach bezpośrednich i absencji chorobowej: zakażenia jelitowe - 32 miliardy, zakażenia przez żywność - 5-6 miliardów, zakażenia przenoszone drogą płciową (bez AIDS)

- 5 miliardów, grypa - 17 miliardów, zakażenia wywołane przez antybiotykooporne szczepy bakterii - 4 miliardy (koszty te gwałtownie rosną), a zapalenie wątroby typu B - 720 milionów.

Obecnie zakażenia, także te wymienione w tabeli, często nie cechują typowe dla dawno znanych chorób objawy kliniczne ani prosta zależność: czynnik zakaźny - choroba. Okazuje się, że wiele okoliczności może sprzyjać pojawianiu się uprzednio nieznanymi zakażeń. Źródła amerykańskie wymieniają następujące: stosowanie pestycydów, insektycydów i leków przeciwdrobnoustrojowych, promieniowanie ultrafioletowe i skażenie środowiska, podróże i migracje ludzi, transport (produkty, ludzie), manewry wojskowe, zabiegi lekarskie, starzenie się populacji, ewolucja i zmiany genetyczne drobnoustrojów, zakażenia zmniejszające odporność (HIV), niestabilność społeczna i polityczna, wojny i masowe przemieszczenia ludności, ubóstwo i niedożywienie, wzrost populacji i jej zagęszczenie, zmiany klimatyczne, urbanizacja, rozwój uprawy ziemi, zalesianie nowych obszarów, niszczenie lasów.

Poniżej przedstawiam kilka przykładów. Pojawienie się argentyńskiej i boliwijskiej gorączki krwotocznej wiązano ze zmianami w rolnictwie sprzyjającymi rozmnożeniu się gryzoni; encefalopatii gąbczastej bydła (BSE) - z wprowadzeniem pokarmu skażonego prionami; dengi - z ożywieniem transportu, podróży, migracji i urbanizacji; gorączki krwotocznej w Europie i USA - z importem chorych małp; han-

tawirusów - ze zmianami ekologicznymi zwiększającymi kontakt człowieka z gryzoniami; HCV, HGV, HIV - z przetoczeniami krwi i jej frakcji (np. u chorych na hemofilię), przeszczepami narządów, skażonymi strzykawkami, kontaktami płciowymi; żółtej gorączki w „nowych” regionach - z warunkami sprzyjającymi rozmnożeniu się komarów. Podobne przykłady dotyczą zakażeń bakteryjnych. Zakażenia nowym szczepem *Escherichia coli* 0157:H7 wiążą się ze skażeniem mięsa w technologii masowej produkcji żywności; choroba legionistów - z obecnością *Legionella pneumophila* w hydraulicznych układach chłodzenia oraz w zaniedbanych zbiornikach wodnych; borelioza z Lyme - z zalesieniem wokół domów i występowaniem czynników sprzyjających rozwojowi kleszczy; zakażenia *Cryptosporidium* wiąże się z zakażonymi wodami powierzchniowymi lub wadliwym oczyszczaniem wody, a pojawienie się malarii na nowych obszarach - z podróżami i migracją.

Przewlekłe zakażenia mogą być przyczyną chorób, których uprzednio nie wiązano bezpośrednio z infekcją. Wewnątrzłonowemu zakażeniu wirusem cytomegalii przypisuje się związek z wrodzonym upośledzeniem umysłowym; HBV bywa przyczyną przewlekłych zapaleń wątroby, marskości i raka tego narządu, podobnie HCV; przewlekłe zakażenie HPV wywołuje raka szyjki macicy, a także raka krtani. Wirus ospy wietrznej i półpaśca bywa przyczyną neuralgii i wrodzonego upośledzenia umysłowego, *Borrelia burgdorferi* - zapalenia stawów, *Chlamydia trachomatis*

- bezpłodności, *Escherichia coli* 0157:H7 - zespołu hemolityczno-mocznicowego, *Helicobacter pylori*- zapalenia błony śluzowej żołądka, *Toxoplasma gondii* - wrodzonego upośledzenia umysłowego. W pewnych przypadkach związek przyczynowo-skutkowy między zakażeniem a wymienionymi chorobami jest już bardzo dobrze uzasadniony, a w innych wymaga wielopokoleniowych obserwacji dla potwierdzenia. Istnieją też hipotezy, obecnie jeszcze słabo potwierdzone, sugerujące następujące skutki zakażeń: enterowirusy (zwłaszcza *Coxsackie*) - cukrzyca

typu I, hantawirusy - nadciśnienie tętnicze, HCV - rak wątroby, HPV - rak płuc, przełyku i pęcherza moczowego, *Campylobacter jejuni* - zespół Guillaina i Barrego, *Chlamydia pneumoniae* - miażdżyca, superantygeny *Staphylococcus aureus* - choroba Kawasaki.

Osobnym problemem są zakażenia powodowane przez bakterie odporne na działanie antybiotyków. W pewnym sensie są to też „nowe zakażenia”, szczepy odporne różnią się bowiem od macierzystych. Na skutek braku postępu w ostatnich 15 latach w dziedzinie nowych antybiotyków (pojawiały się nowe generacje tych samych w istocie leków) gwałtownie narasta problem bakterii opornych. Coraz częściej są to bakterie uprzednio rzadko powodujące zakażenia, jak np. enterokoki (wyosobniono już szczepy odporne na wszystkie stosowane antybiotyki, z wankomycyną włącznie!). Istnieje pilna potrzeba przeprowadzenia molekularnej analizy epidemiologii szczepów antybiotykoopornych. Ich głównym źródłem są przede wszystkim szpitale. Występują w nich dwa związane ze sobą problemy: obecność bakterii opornych na wiele antybiotyków o prawdopodobnie zwiększonej wirulencji oraz zakażenia szpitalne. Całkowite wyeliminowanie zakażeń szpitalnych jest trudne, ale ich częstość może być znacznie zmniejszona. Można to osiągnąć, jak wskazują przykłady z krajów rozwiniętych, przez stosowanie odpowiednich programów przygotowanych przez kompetentne instytucje oraz podwyższenie poziomu wiedzy personelu szpitalnego przy jednoczesnym zapewnieniu właściwego wyposażenia szpitali.

Problematyka chorób zakaźnych znacznie się rozszerza. Sprostanie tej sytuacji będzie wymagało bardzo sprawnego działania laboratoriów i epidemiologów działających w państwowej dobrze zorganizowanej sieci oraz instytucji naukowych, sprawujących nie tylko odpowiedni nadzór merytoryczny, ale i prowadzących badania naukowe. Jednym z głównych zadań współczesnej koncepcji zdrowia publicznego na całym świecie, także w Polsce, jest walka z zagrożeniami infekcyjnymi człowieka.

EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEN LEKOOPORNYCH W POLSCE

Wiesław Magdzik

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

Streszczenie. Przedstawiono zasadnicze informacje dotyczące szerzenia lekoopornych głównie antybiotykoopornych bakterii, ze szczególnym uwzględnieniem MRSA i MRSE jako zakażeń szpitalnych. Za modelową potraktowano epidemię szpitalnych zakażeń antybiotykoopornymi szczepami *Salmonella enteri-ticlis* w szpitalach i oddziałach dla noworodków, niemowląt i mały dzieci w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych. Zwrócono uwagę na konieczność poprawy w zakresie stanu sanitarno-higienicznego obiektów oraz higienicznego, aseptycznego postępowania personelu szpitali w celu przecięcia dróg szerzenia tych zakażeń i na konieczność wypracowania zasad polityki antybiotykowej.

Lekooporne drobnoustroje, w większości drobnoustroje odporne na antybiotyki, rzadziej na chemioterapeutyki i problemy kliniczne, mikrobiologiczne i epidemiologiczne z tymi drobnoustrojami związane, ze zrozumiałych powodów pojawiły się po wynalezieniu tego typu leków i masowym nie zawsze kontrolowanym ich stosowaniu. Antybiotyki były najczęściej stosowane dla celów związanych z leczeniem rzadziej profilaktycznie w szpitalach, domach opieki, rzadziej, lecz także w lecznictwie otwartym. W niektórych krajach udostępnione były nawet bez recepty lub przez włączenie ich do składu innych leków, a nawet kosmetyków. Stosowano je również w hodowlach zwierząt, gdzie dodawane do paszy miały wpłynąć na szybsze zwiększenie masy mięsnej.

Dążono do stosowania zwierzętom antybiotyków nie stosowanych ludziom dla celów leczniczych.

Pod względem oporności na antybiotyki bakterie można podzielić na naturalnie odporne na określone antybiotyki oraz bakterie, których oporność została nabyta w wyniku mutacji jedno lub wielostopniowych w genach chromosomowych lub plazmidowych

albo w wyniku nabywania genów oporności ze środowiska oraz od innych drobnoustrojów. Jest to mechanizm adaptacji do środowiska, w którym obecne są antybiotyki, w tym przypadku szczególnie do środowiska szpitalnego. Bakterie odporne na antybiotyki zasiedlają szpital lub inny obiekt, gdzie są stosowane. Tworzą one tam własną niszę ekologiczną. Szczepy, które pierwotnie charakteryzowały się małą zjadliwością, uzyskują często w ten sposób zwiększoną zjadliwość.

Przez ponad pół wieku od czasów Pasteura tj. do lat czterdziestych obecnego stulecia zdając sobie sprawę z istoty zakażeń, a nie dysponując lekami etiotropowymi w lecznictwie i profilaktyce - stosowano leki objawowe, oraz postępowanie aseptyczne sprowadzające się do zapoczątkowanego przez Bergmana jałowego sprzętu i materiałów wyjałowionych najczęściej przez zastosowanie wysokiej temperatury, a także wprowadzonych przez Mikulicza Radeckiego ubrań ochronnych. Stopniowo coraz szerzej wprowadzano postępowanie antyseptyczne. Początkowo polegało ono na stosowaniu środków ogólnohigienicznych oraz dezynfekcyjnych, jak kwasu karbolowego

przez Listera, czy roztworu chlorku wapnia przez Semmclweissa.

Odkrycie sulfonamidów, penicyliny i następnie innych antybiotyków wprowadziło rewolucję w tej dziedzinie. Uzyskane początkowo rewelacyjne wyniki leczenia i zapobiegania zakażeniom doprowadziło do niekontrolowanego i bezkrytycznego ich stosowania, a także do osłabienia, a nawet zaniechania w wielu przypadkach poprzednio wypracowanych zasad postępowania. Stopniowo obserwowano, że dla uzyskania zbliżonych efektów leczniczych stosować trzeba było jednocześnie lub kolejno w następujących po sobie okresach różne antybiotyki w coraz większych dawkach i dłuższych okresach czasu. Ujawniało się w ten sposób zjawisko lekooporności szczepów bakterii, mocno utrudniające skuteczne stosowanie antybiotyków i chemioterapeutyków, pociągające za sobą zmianę istoty dużej części zakażeń szpitalnych i poglądów na ten temat.

Do czasu pojawienia się bakteryjnych szczepów antybiotykoopornych za zakażenie szpitalne uważano najczęściej szerzenie się w szpitalach typowych, zakaźnych jednostek nozologicznych. Po pojawieniu się bakteryjnych szczepów antybiotykoopornych ich szerzenie tak ściśle było związane ze środowiskiem szpitalnym, że niejednokrotnie te dwa pojęcia tj. bakteryjne zakażenie szpitalne i zakażenie drobnoustrojami opornymi na antybiotyki używane bywają jako synonimy. Szerzą się antybiotykooporne szczepy bakterii chorobotwórczych, względnie chorobotwórczych i oportunistycznych. Wywoływać mogą one zakażenia chorych zwłaszcza z osłabioną odpornością tak wrodzoną jak i nabytą w wyniku przebytych chorób lub leczenia supresyjnego, a także zakażenia personelu i innych osób przebywających na terenie szpitala.

W każdym miejscu, gdzie następuje zasiedlenie szczepów opornych na antybioty

ki, przebieg występujących tam zakażeń jest odmienny zależny od rodzaju bakterii, dróg i mechanizmów ich szerzenia się, oporności na określone antybiotyki, odporności, wieku, płci i innych cech ludzi, którzy ulegają zakażeniu. Pomimo tego zjawisko to na ogół układa się całościowo w poważny problem zdrowia publicznego, często o priorytetowym znaczeniu dla dotkniętych nim zakładów służby zdrowia, zwłaszcza szpitali. Szczepy tych drobnoustrojów niekiedy szerzą się pomiędzy szpitalami nawet na duże odległości. Z epidemiologicznego punktu widzenia prześledzenie i opracowanie szerzenia się tych drobnoustrojów natrafia na znaczne trudności, głównie natury technicznej. Jako epidemiologiczny model tego typu zakażeń może służyć epidemia szpitalnych zakażeń *S. enteritidis* w Polsce.

W Polsce po kazuistycznych zakażeniach szczepami bakterii opornych na antybiotyki, jakie występowały w latach pięćdziesiątych, doszło w latach sześćdziesiątych do potężnej epidemii, która ogarnęła zakłady służby zdrowia zwłaszcza szpitale dla małych dzieci w całym kraju. Miały miejsce wówczas szpitalne zakażenia antybiotykoopornymi szczepami *Salmonella enteritidis* szerzące się epidemicznie w szpitalach na oddziałach noworodkowych, niemowlęcych i dla małych dzieci. Zachorowania pojawiły się w 1960-1961 roku w województwach północnych i zachodnich i stopniowo obejmowały tereny położone bardziej na południe i wschód, a wygasły na terenach poprzednio objętych epidemią. Jedną z pierwszych tego rodzaju epidemii obserwowano w 1960 roku na oddziale biegunkowym I Kliniki Chorób Dziecięcych w Gdańsku. W 1961 roku zarejestrowano poniżej 200 takich zachorowań w kraju. Największe nasilenie zachorowań miało miejsce w latach 1965-1969 kiedy liczba tych zachorowań dochodziła do 6000-7000 rocznie. Zapadalność była wyższa od 20 na 100000. Epidemia wygasła dopiero w latach 1970-1975.

Przed tą epidemią, a także po jej wygaśnięciu najczęściej stwierdzanym typem pałeczek *Salmonella* pochodzenia odzwierzęcego w Polsce była *S. typhi murium*. Szczepy *S. typhi murium* wyizolowane wówczas od chorych stanowiły około 60% wszystkich szczepów *Salmonella*. W latach 1963-1970 szczepy *S. enteritidis* były najczęściej stwierdzanymi. Stanowiły one od około 55% w 1970 roku, do 81% w 1965 roku szczepów *Salmonella* wyizolowanych od chorych.

Szpitalne zakażenia *S. enteritidis* szerzyły się z zachowaniem sezonowego nasilenia zachorowań w cieplej porze roku. Źródłem zakażenia w szpitalach były najczęściej przyjęte do szpitala dzieci zakażone szczepami *S. enteritidis* opornymi na antybiotyki w innych szpitalach. Wydalane przez nich szczepy dawały początek trudnym do opanowania zakażeniom szpitalnym szerzącym się drogą:

- kontaktową najczęściej za pośrednictwem personelu szpitala przy pielęgowaniu, karmieniu dzieci, a także przez pieluszki i sprzęt;
- powietrzną, zwłaszcza pyłową; - rzadziej pokarmową. Szerzyły się więc one odmiennie od obserwowanego sposobu szerzenia pałeczek *Salmonella*.

Odsetki dzieci, które ulegały zakażeniu w szpitalach wahały się od 12 do 90%. Zakażenia te szerzyły się szybko, czasem falami, aczkolwiek na ogół nie miały charakteru gwałtownych epidemii. Zamykanie oddziałów, remonty, dezynfekcje, badanie i odsuwanie od pracy personelu wydalającego zarazki nic zawsze dawały oczekiwane rezultaty.

Zakażeniom ulegały najczęściej noworodki, zwłaszcza wcześniaki, niemowlęta, rzadziej dzieci w pierwszych latach życia, często osłabione przebiegiem poprzedniej choroby, najczęściej biegunki, z niedoborem wagi, z chorobami towarzyszącymi, często leczone uprzednio antybiotykami. Pod względem klinicznym zakażenia przebiegały najczęściej pod postacią biegunki, rzadziej pod postacią septyczną, niekiedy z objawami neurologicznymi

lub z przewagą objawów ze strony dróg oddechowych, układu moczowego, bądź z przewagą miejscowych stanów zapalnych, a także zwłaszcza u starszych dzieci, młodzieży i dorosłych pod postacią zakażeń bezobjawowych. Najczęściej zachorowania zaczynały się od objawów żołądkowo-jelitowych i później u niektórych dzieci dochodziło do uogólnienia procesu chorobowego. Przebieg choroby był cięższy i śmiertelność wyższa u młodszych dzieci. I tak np. w woj. lubelskim prawie połowę przypadków stanowiły niemowlęta do 6 miesiąca życia, a prawie 10% noworodki od 2 do 30 dnia życia. Śmiertelność wśród noworodków wynosiła do 25%, a wśród niemowląt 6-8%. U dzieci starszych i osób dorosłych zgonów na ogół nie notowano.

Szczepy *S. enteritidis* izolowano najczęściej z kału, rzadziej z moczu, krwi, z nosa lub jamy nosowo-gardłowej, z ropy ze zmian zapalnych lub z narządów pobranych w przebiegu sekcji. Następnym zakażenia i choroby było często nosicielstwo wyjątkowo utrzymujące się przez kilka, a nawet kilkanaście miesięcy. Wyhodowane szczepy *S. enteritidis* były in vitro odporne na większość powszechnie stosowanych wówczas antybiotyków, były natomiast na ogół wrażliwe na polimyksynę i leki nitrofuranowe. W związku z opornością na antybiotyki leczenie zakażeń było szczególnie utrudnione. Wyżej wymieniona epidemia szpitalnych zakażeń *S. enteritidis* była niezależna od zakażeń tym typem pałeczek na ogół wrażliwych na antybiotyki, szerzących się wśród zwierząt i ludzi najczęściej w postaci zatruc pokarmowych.

Analiza antybiotykooporności pałeczek *Salmonella* izolowanych od chorych zakażonych w szpitalach po wygaśnięciu wyżej opisanej epidemii pozwala na następujące uszeregowanie ich oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki: penicylina - 100% szczepów opornych, ampicilina - 99%, ery

tromycyna - 97%, nitrofurantoina - 79%, tetracyklina - 74%, sulfonamidy - 72%, neomycyna - 66%, streptomycyna - 33%.

Ta epidemia antybioopornych zakażeń *S. enteritidis* w szpitalach, wraz z informacjami z doniesień z literatury światowej uświadomiła pracownikom służby sanitarno-epidemiologicznej, że problem oporności na antybiotyki, to poważne, przyszłościowe zagadnienie wikłające przebieg zakażeń szpitalnych, utrudniające zapobieganie im i leczenie. Od przyjęcia do wiadomości do praktycznego działania droga okazała się jednak daleka. Być może w sytuacji tzw. „krótkiej koldry” odegrał tu rolę źle pojmowany i oceniany czynnik ekonomiczny. Lekceważenie problemu wydaje się mimo wszystko stanowić w tej dziedzinie zasadniczy element.

W różnych pracach i raportach na temat szerzenia się drobnoustrojów lekoopornych przewija się uporczywie powtarzająca się opinia ekspertów o poważnych zaniedbaniach w staraniach zmierzających do ograniczenia tego zagrożenia. Wysoce niewystarczająca jest świadomość tego zagrożenia i przygotowanie teoretyczne w tym zakresie pracowników służby zdrowia.

W 1978 roku w Raporcie Rady Naukowej przy Ministerstwie Zdrowia napisano, że w szpitalach występuje nadmierne zagęszczenie chorych, leczonych często w nieodpowiednich warunkach, niski poziom i zbyt mała liczba personelu pomocniczego, często kompromitujący poziom higieny szpitalnej, niski poziom lub wręcz całkowity brak klinicznych pracowni bakteriologicznych. Wiele z tych spraw aktualnych jest do chwili obecnej.

Oceniano, że w połowie lat dziewięćdziesiątych u ponad 50% hospitalizowanych, leczonych przeciwbakteryjnie nie wykonywano żadnego badania bakteriologicznego, pracownik bakteriologiczne miało tylko 65% szpitali, 43% zaopatrzonych było w ko-

mory dezynfekcyjne, a w 84% szpitali sterylizację sprzętu medycznego przeprowadzano w sterylizatorach na suche, gorące powietrze. Polityki antybioopornej praktycznie nie było.

Tak na szczeblu centralnym jak i lokalnym oraz w poszczególnych zakładach służby zdrowia dokonano stosunkowo niewiele dla monitorowania, zapobiegania i zwalczania zakażeń szpitalnych. W wyniku tego obserwowano i obserwuje się w zakładach służby zdrowia w Polsce wręcz epidemie zakażeń szpitalnych dwoma typami drobnoustrojów:

- wirusami szerzącymi się drogą naruszenia ciągłości tkanek (drogą krwi), zwłaszcza wirusami hepatotropowymi, a wśród nich w szczególności wirusem zapalenia wątroby typu B i typu C (wzw B i wzw C). Zapadalność na wzw B była w Polsce w latach osiemdziesiątych jedną z wyższych w Europie. Osiągnęła w 1980 i 1985 wartość około 45 na 100000. Wśród zachorowań na wzw B ponad 60%, a wśród małych dzieci nawet ponad 80% osób zakażonych było w zakładach służby zdrowia, zwłaszcza w szpitalach. Uzyskano poprawę sytuacji dzięki szczepieniom, lecz przy zachowaniu zbliżonych do poprzednich odsetków zakażonych w szpitalach;
- bakteriami opornymi na leki, zwłaszcza antybiotyki co jest tematem obecnego artykułu.

W ramach zakażeń szpitalnych tego typu bakteriami szczególnie problem stanowią obecnie metacyliooporne gronkowce koagulazododatnie (MRSA i MRSE), ze względu na gwałtowne narastanie oporności bakterii na antybiotyki poprzez rozprzestrzenianie się genów oporności. Szczepy te stanowią w Polsce przeciętnie około 20%, a w niektórych szpitalach nawet do 80% wszystkich izolatów gronkowca złocistego. Zakażenia tymi szczepami mają zwykle charakter epidemiczny, a ze względu na całkowitą oporność na antybiotyki betalaktamo-

wc, jak również towarzyszącą temu oporność na inne grupy antybiotyków jedynymi skutecznymi lekami pozostają glikopeptydy. Szczepy MRSA i MRSE powinny być zawsze traktowane jako potencjalnie epidemiczne i wymagające podjęcia działania

o charakterze prewencyjnym. Problem

o mniejszym znaczeniu epidemiologicznym stanowią również metycylinooporne gron- kowce koagulazo-ujemne.

Dalsza grupa lekoopornych, często wio- loopornych drobnoustrojów wywołujących zakażenia szpitalne to gram ujemne wytwarzające betalaktamazy, tlenowe pałeczki niefermentujące jak np. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Escherichia*, czy stwarzający coraz większe problemy terapeutyczne *Acinetobacter baumannii*, a także pałeczki beztlenowe jak np. *Clostridium difficile*. W zakażeniach dróg oddechowych coraz większy problem odgrywają szczepy *Streptococcus pneumoniae* odporne na penicylinę. Jeszcze niedawno był to drobnoustroj wrażliwy na ten antybiotyk. Poza wyżej wymienionymi także lekooporne szczepy pałeczek czerwonej, salmonelli łącznie z *S. typhi*, *Haemophilus influenzae* były przyczyną trudności z epidemiologicznego i klinicznego punktu widzenia. W tym miejscu warto również nadmienić o trudnościach napotykanym w terapii gruźlicy wywołanej szczepami prątka opornymi na antybiotyki i chemio- rapeutyki, co będzie tematem innego artykułu.

Zależnie od oddziału szpitalnego, jego specyfiki, istniejących urządzeń i sprzętu, stosowanych antybiotyków i sposobu ich stosowania - przyczyną zakażeń szpitalnych mogą być różne drobnoustroje, odporne na różne antybiotyki, szerzące się w określony tymi warunkami sposób, wikłające zarówno leczenie jak i zapobieganie zakażeniom.

Rozpatrując szerzenie się lekoopornych drobnoustrojów warto zebrać i przeanalizować następujące informacje:

- lekooporność może dotyczyć różnych drobnoustrojów;
- zakażenia drobnoustrojami lekoopornymi występują na terenie całego świata, szerzą się głównie jako zakażenia szpitalne i są jedną z zasadniczych przyczyn współcześnie występujących zakażeń szpitalnych;
- zakażenia drobnoustrojami lekoopornymi nie mogą być uważane wyłącznie za uchybienie szpitali, lecz za nieodłączne im zjawisko;
- istotne dla szpitala nie jest fakt, że zakażenia drobnoustrojami lekoopornymi występują, lecz w jakim odsetku hospitalizowanych chorych, jak często one występują i jak szybko są rozpoznawane i identyfikowane. Niepokojącym w ostatnich latach zjawiskiem jest nabywanie cech lekooporności w coraz krótszych okresach czasu. Okresy te są obecnie znacznie krótsze od niezbędnych do wytworzenia oporności drobnoustrojów w przeszłości np. oporności na penicylinę w latach czterdziestych i pięćdziesiątych. Są one obecnie niekiedy krótsze od okresów amortyzacji badań i prac włożonych dla uzyskania i wdrożenia antybiotyku do produkcji. Zmniejsza się więc liczba skutecznych antybiotyków dostępnych na rynku. W tym problemie Światowa Organizacja Zdrowia dostrzega jedną z zasadniczych obaw i zagrożeń szerzenia się tzw. emerging and re-emerging diseases tj. nowopowstających i nawracających chorób zakaźnych. Pod wieloma względami istnieje możliwość wystąpienia sytuacji zbliżonych a nawet trudniejszych od tych z okresu przedantybiotykowego-

Z całości tego problemu nasuwa się wniosek o konieczności stosowania antybiotyków i innych podobnie działających środków w taki sposób, aby niepotrzebnie nie przyczyniać się do powstawania w szybkim tempie lekoopornych bakterii. Konieczne staje się wypracowanie i wdrożenie polityki antybiotykowej w szpitalach.

W profesjonalnym postępowaniu medycznym wrócić należy do stosowania w większym stopniu higienicznego i aseptycznego postępowania i postępowania antyseptycznego z użyciem częściej niż dotychczas środków antyseptycznych powierzchniowo czynnych, pamiętając, że spośród trzech elementów procesu epidemicznego w zapobieganiu i zwalczaniu zakażeń szpitalnych najbardziej istotne jest działanie ukierunkowane na drugi element tego procesu tj. na przecięcie dróg szerzenia się zakażeń przez zapewnienie właściwych warunków higienicznych, wyrobienie odpowiednich nawyków personelu i stosowanie ich w pracy codziennej oraz przekazanie niezbędnych z tego zakresu informacji. Dotyczy to wszystkich typów szpitali w Polsce, łącznie z przodującymi szpitalami klinicznymi.

Aczkolwiek działania ukierunkowane na pierwszy i trzeci element procesu epidemicznego mające na celu unieszkodliwienie źródła zakażenia i wzmocnienie odporności mają w tym zakresie mniejsze znaczenie to w uzasadnionych sytuacjach powinno się w sposób umiejętny również z nich korzystać. Przykładem może być tu skuteczność szczepionki przeciw wzv B w zwalczaniu między innymi zakażeń szpitalnych.

Ostatnio można zaobserwować pozytywne tendencje w zakresie zapobiegania i zwalczania zakażeń szpitalnych, związane z wdrażaną reformą, a zwłaszcza z usamodzielnianiem zakładów służby zdrowia. Następuje

kształtowanie się właściwego kierunku rozwiązywania problemów w konkretnych zakładach według wskazówek ekspertów i informacji teoretycznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Anusz Z. Rozdział w książce pod redakcją Kostrzewskiego J. Choroby zakaźne w Polsce i ich zwalczanie w latach 1970-1979. Ossolineum 1984, str. 160-172;
2. Dzierżanowska D., Jeljaszewicz J. Książka Zakażenia szpitalne, Warszawa 1999;
3. Goldman D.A. i inni Rozdział w czasopiśmie „Zakażenia” 1/98 str. 20-25;
4. Juszczyk J. Rozdział w książce pod redakcją Kostrzewskiego J., Magdzika W., Naruszewicz-Lesiuk D. „Choroby zakaźne na ziemiach polskich w dwudziestym wieku i ich zwalczanie” (w druku);
5. Juszczyk J. i inni. Projekt programu zwalczania zakażeń szpitalnych. Broszura pt. Zakażenia szpitalne. Warszawa 1996;
6. Magdzik W. Anusz Z. Rozdział w książce pod redakcją Kostrzewskiego J. Choroby zakaźne w Polsce i ich zwalczanie w latach 1961-1970, PZWL. 1973 str. 152-169;
7. Stefaniak E. Hryniewicz W. Rozdział w broszurze „Profilaktyka i zwalczanie zakażeń szpitalnych”: **III** Ogólnopolskie Sympozjum Kierowniczej Kadry Medycznej 21-23.09.1998 str. 48-49;
8. Szmunes W. Sikorska J. Szymanek E. Mikosz A. Cechowiak L. Przeg Epid 1965, 4; 433-436;
9. World Health Organization Geneva. The World Health Report 1996.

MOLEKULARNE PODSTAWY ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI BAKTERII

Molecular basis of bacterial resistance to antibiotics

Grażyna Młynarczyk

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Akademii Medycznej w Warszawie Kierownik:

Prof. dr hab. med. M. Łuczak

***Streszczenie.** Oporność drobnoustrojów na antybiotyki może wynikać z: (1) wytwarzania przez bakterie enzymów które rozkładają lub modyfikują antybiotyk, przeprowadzając go w formę nieaktywną, (2) syntezy zmienionego miejsca docelowego dla antybiotyku, które ma zdolność do pełnienia swojej funkcji w komórce bakteryjnej ale nie ma powinowactwa do antybiotyku, odmianą tego mechanizmu jest ochrona miejsca docelowego przez dodatkowe białko; (3) braku przepuszczalności dla antybiotyku lub też aktywnym usuwaniu go z komórki oraz braku enzymów które przeprowadzają antybiotyk w formę aktywną po wnikięciu do komórki bakteryjnej. Wszystkie te podstawowe mechanizmy są bardzo rozpowszechnione wśród bakterii. Poszczególne z nich są rzadziej lub częściej obserwowane u różnych gatunków. Często oporność na ten sam antybiotyk może być warunkowana przez różne mechanizmy, nawet u tego samego gatunku bakterii. Znajomość molekularnych mechanizmów oporności w dużej mierze ułatwia prawidłową interpretację wyników antybiogramu dla poszczególnych szczepów bakteryjnych, ale zwłaszcza właściwe przewidywanie możliwości i tempa rozprzestrzeniania się determinant oporności.*

***Summary.** The antimicrobial resistance in bacteria may be a result of: (1) production of bacterial enzymes which hydrolyse or modify antibiotic, changing it into inactive form, (2) synthesis of altered target with diminished affinity to antibiotic but preserved essential functions in bacterial cell (the variety of this mechanism is protection of a target by the additional protein); (3) loss of the permeability for the antibiotic or active efflux from the cell and (4) the lack of an enzymes changing an inactive form of drug into active one inside bacterial cell. All these mechanisms are widely widedspread among bacterial species and their frequency differs in different species of a microorganism. Frequently the resistance to the same antibiotic is determined by several different mechanisms, even in the same bacterial cell. The knowledge of the molecular mechanisms of resistance is essential in appropriate interpretation of the antibiogram result as well as in prognosing of the time of resistance determinants spreading among bacterial strains.*

Pojawianie się i rozprzestrzenianie oporności na antybiotyki u bakterii stanowi jeden z poważniejszych problemów w medycynie i nie tylko w medycynie. Oporność drobnoustrojów może mieć charakter gatunkowy, jeżeli określony gatunek drobnoustrojów zawsze był odporny na dany antybiotyk oraz może być nabyta, wtedy, jeżeli w momencie wprowadzenia antybiotyku praktycznie wszystkie szczepy wykazywały wrażliwość,

a dopiero po pewnym czasie stosowania (bardzo różnym, zależnym od antybiotyku i gatunku drobnoustroju) pojawiają się warianty odporne i zaczynają się one rozprzestrzeniać, zwłaszcza szybko w środowisku gdzie ma miejsce znaczna selekcja, np. w szpitalu. Znajomość mechanizmów warunkujących oporność bakterii na antybiotyki ma istotne znaczenie ze względu na prawidłową interpretację wyników antybiogramu

oraz możliwość zastosowania właściwej antybiotykoterapii. Wyniki antybiogramu nie zawsze są jednoznaczne i należy wiedzieć, że oporność na niektóre antybiotyki u niektórych bakterii wyklucza wrażliwość na inne. Ponadto znajomość mechanizmów powstawania i rozprzestrzeniania się oporności może uchronić od popełniania błędów terapeutycznych sprzyjających tym procesom. Oporność bakterii na antybiotyki może być wynikiem kilku różnych mechanizmów. Do najważniejszych zaliczamy: inaktywację enzymatyczną, utrudnienie dostępu antybiotyku do struktur docelowych (brak wnikania lub aktywne usuwanie leku z komórki), zmniejszenie powinowactwa bakteryjnych struktur docelowych (modyfikacja lub ochrona struktur lub synteza dodatkowych struktur zastępujących funkcje inaktywowanych), brak enzymów odpowiedzialnych za przejście proleku w formę aktywną. Oporność na jeden antybiotyk może wynikać z kilku różnych mechanizmów u różnych bakterii, a nawet kilka różnych mechanizmów może funkcjonować w jednej komórce, (np. gronkowce odporne na metycylinę zwykle wytwarzają dodatkowo (B-laktamazę)

I. INAKTYWACJA ENZYMATYCZNA ANTYBIOTYKÓW

Inaktywacja enzymatyczna ma największe znaczenie w oporności bakterii na antybiotyki B-laktamowe, aminoglikozydy i chloramfenikol. Opisane są również specyficzne enzymy inaktywujące makrolidy, tetracykliny oraz streptograminy [11], ale w przypadku tych antybiotyków oporność enzymatyczna ma mniejsze znaczenie kliniczne. Inaktywacja antybiotyków b-laktamowych polega na hydrolytycznym rozerwaniu pierścienia b-laktamowego katalizowanym przez B-laktamo-hydrolazy (B-laktamazy). Enzymy te wytwarzane są zarówno przez bakterie Gram-dodatnie

jak i Gram-ujemne. Jak dotąd opisano ponad 200 różnych typów B-laktamaz [9]. Szczególna różnorodność występuje u bakterii Gram-ujemnych. Właściwościami G-laktamaz na które zwykle zwraca się uwagę w pierwszej kolejności są spektrum substratowe oraz wrażliwość na inhibitory. Jednakże te cechy często nie odzwierciedlają właściwego podobieństwa enzymów, ponieważ zmiany spektrum substratowego jak również powstanie oporności na inhibitory mogą wynikać z jednej lub kilku mutacji punktowych w genie kodującym enzym, co prowadzi do zmiany jednego lub kilku aminokwasów w białku [9]. Stosowany podział enzymów uwzględnia również ich właściwości fizykochemiczne, a największe znaczenie obecnie ma ustalenie podobieństwa sekwencji DNA, a co za tym idzie sekwencji aminokwasów. Większość znanych B-laktamaz zostało zsekwencjonowanych. Najczęściej stosowane są dwa równoległe podziały tych enzymów. Pierwszy z nich to podział według Bush i współpracowników [4] na cztery grupy (1-4) w oparciu głównie o spektrum substratowe oraz podatność na inhibitory. Drugi z nich to podział według Amblera [3] na cztery klasy A-D, opierający się na podobieństwie sekwencji aminokwasowej. Obydwa podziały są jak dotąd dobrze skorelowane. Dla znakomitej większości znanych B-laktamaz w centrum aktywnym enzymu odgrywa istotną rolę seryna (B-laktamazy serynowe), ale istnieje drugi rodzaj B-laktamaz, u których centrum aktywne jest związane z obecnością atomu cynku (metaloenzymy). Metaloenzymy znajdują się w klasie B wg. Amblera [3] oraz zaliczone zostały do grupy 3 wg. Busch [4]. Wiele z nich wykazuje aktywność wobec karbapenemów.

B-laktamazy wytwarzane przez bakterie Gram-dodatnie (gronkowce, enterokoki, *Bacillus* spp.) są najczęściej kodowane przez plazmidy, a ich produkcja ma charakter indukcyjny. Enzymy te są uwalniane przeważnie pozokomórkowo, co zapewnia ochronę

nie tylko komórce produkującej enzym, ale również komórkom sąsiednim. (3-laktamazy bakterii Gram-dodatnich mają wąskie spektrum i zbliżoną budowę. Wszystkie zaliczane są do grupy 2a wg. Bush [4] oraz do klasy A wg. Amblera [3]. (3-laktamazy występujące u niektórych bakterii można podzielić dodatkowo na podstawie różnic serologicznych, np. u gronkowców [9, 7].

B-laktamazy pałeczek Gram-ujemnych są kodowane zarówno chromosomalnie jak i przez plazmidy. Te pierwsze zwykle są gatunkowo-specyficzne i często (ale nie zawsze) mają charakter indukcyjny. Przykładem gatunkowo-specyficznymi B-laktamaz są enzymy typu AmpC pałeczek z rodzajów *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Escherichia*. Enzymy te należą do grupy 1 wg Bush i klasy C wg. Amblera. Pałeczki rodzajów *Klebsiella*, *Proteus* oraz *C. diversus* wytwarzają chromosomalne (3-laktamazy należące do innych grup (2b, 2be, 2e) [4]. W przypadku enzymów ulegających ekspresji w sposób indukcyjny, wrażliwość bakterii zależy nie tylko od podatności antybiotyku na hydrolizę przez posiadany enzym, ale również od tego, czy antybiotyk jest silnym czy słabym induktorem enzymu. Cefalosporyny o szerokim spektrum działania są najczęściej słabymi induktorami (nie indukują produkcji enzymu w stężeniach poniżej MIC), co powoduje że szczepy pozostają wrażliwe, mimo że posiadają geny warunkujące syntezę enzymu rozkładającego antybiotyki. Jednakże zwłaszcza w przypadku szczepów rodzajów *Enterobacter* i *C. freundii*, ale również w mniejszym stopniu u pozostałych rodzajów bakterii dochodzi do powstania mutantów na stałe derepresjonowanych, które produkują duże ilości enzymu w sposób konstytutywny. Mutanty tego typu pojawiają się z częstością około 1 na 105 komórek bakteryjnych, a więc ich selekcja jest bardziej prawdopodobna w zakażeniach gdzie mamy do czynienia z dużą gęstością bakterii przy stosunkowo niewielkim stężeniu an

tybiotyku (np. układu oddechowego) lub u chorych z obniżoną odpornością. Stwierdzenie, że szczep wytwarza indukcyjne B-laktamazy stanowi przeciwwskazanie do stosowania wszystkich cefalosporyn w leczeniu zakażenia, z wyjątkiem zakażeń układu moczowego [9]. Chromosomalne cefalosporynazy typu AmpC są niewrażliwe na inhibitory B-laktamaz, a ponadto inhibitory mogą być dobrymi induktorami enzymów i powodować zmniejszenie wrażliwości na stosowany antybiotyk B-laktamowy.

Enzymy kodowane przez plazmidy (często transpozony) to tzw. (3-laktamazy wtórne, zwykle wytwarzane konstytutywnie, takie jak TEM, SHV, CTXM, PER, OXA. Enzymy te często pochodzą od enzymów kodowanych chromosomalnie i są z nimi spokrewnione. Plazmidowe (3-laktamazy szczególnie łatwo rozprzestrzeniają się wśród szczepów pałeczek Gram-ujemnych. Szczepy *Haemophilus* mogą wytwarzać B-laktamazy typu TEM oraz ROB. Wśród szczepów *Neisseria* wykrywa się (3-laktamazy typu TEM, a wśród *Moraxella catarrhalis* typu BRO.

Obecnie szczególne znaczenie mają B-laktamazy o rozszerzonym spektrum (ESBL, extended spectrum β -lactamases). Nazwa pochodzi od szczególnie szerokiego spektrum tych enzymów pozwalającego na rozkład cefalosporyn takich jak cefuroksym, cefotaksym, ceftazydim i innych należących do III, a nawet IV generacji, a także oporność na monobaktamy. ESBL najczęściej wykrywane są u szczepów *E. coli* i *Klebsiella* spp. Są zwykle kodowane przez plazmidy i są pochodnymi bardzo rozpowszechnionych B-laktamaz typu TEM i SHV. Oprócz pochodnych TEM i SHV w ostatnim czasie stwierdza się co raz częściej (3-laktamazy o szerokim spektrum wywodzące się od innych klas enzymów. Obecnie do ESBL można zaliczyć 4 grupy (3-laktamaz [19]: (1) pochodne TEM i SHV, które są najczęściej wykrywane (2) inne niż TEM i SHV (np. MEN-1, CTX-M1). Obie grupy

powodują hydrolizę wszystkich cefalosporyn oprócz cefamycyn oraz są wrażliwe na inhibitory. (3) plazmidowe cefalosporynazy (np. FEC-1, CMY-1, CMY-2, BIL-1, MOX-1, LAT-1) które są niewrażliwe na inhibitory i hydrolizują również cefamycyny oraz (4) karbapenemazy. Karbapenemazy można podzielić na: serynowc (np. NMC-A, SME-1, Imi-1 występujące u *E. cloacae* lub *S. marcescens*) oraz zależne od cynku (np. IMP-1 wykrywana w plazmidach u *S. marcescens* w Japonii czy chromosomalna B-laktamaza LI u *Stenotrophomonas maltophilia*). Mimo że opisywane są przypadki wykrycia karbapenemazy u *P. aeruginosa*, to dość często rozwijająca się oporność na ten antybiotyk w trakcie terapii wynika zarówno z nadprodukcji chromosomalnych B-laktamaz typu C jak i z utraty specyficznego białka porynowego OprD.

Wykrycie ESBL u bakterii stanowi wskazanie do nie stosowania w terapii penicylin (z wyjątkiem temocyliny), cefalosporyn i monobaktamów, nawet jeżeli w antybiogramie uzyskuje się wynik "wrażliwy" dla cefalosporyn o szerokim spektrum. Wykrycie karbapenemazy wyklucza stosowanie karbapenemów oraz najczęściej również cefalosporyn i penicylin a możliwe jest stosowanie monobaktamów. Jeden szczep bakteryjny może wytwarzać więcej niż jeden rodzaj B-laktamazy. Ponadto na poziom oporności bardzo istotnie wpływa ilość syntetyzowanego enzymu, co ma znaczenie zwłaszcza w przypadku chromosomalnych B-laktamaz o charakterze indukcyjnym.

Podstawowym mechanizmem oporności na antybiotyki aminoglikozydowe jest ich inaktywacja enzymatyczna. Inaktywacja antybiotyków aminoglikozydowych zachodzi na drodze modyfikacji i może być warunkowana przez trzy grupy transferaz o różnej swoistości substratowej: AAC (acetylotransferazy), przyłączające grupę acetylową do rodnika -NH₂, APH (fosfotransferazy) przyłączające grupę fosforanową do rodnika -OH oraz

ANT (nukleotydylotransferazy; dawna nazwa adenylotransferazy AAD) przyłączające nukleotyd do rodnika -OH związanego z cząsteczką aminoglikozydu. Wrażliwość antybiotyku na określony enzym zależy od obecności lub braku aktywnej grupy w określonym miejscu na które działa enzym (5, 18].

Do transferaz które najczęściej inaktywują pochodne streptydyny (np. streptomycynę) zaliczamy fosfotransferazy APH (3") (*S. aureus*), APH (6) (*A. baumannii*) oraz nukleotydylotransferazy ANT(3") (*S. aureus*) i ANT(6) (*S. aureus*, *E. faecalis*).

Do transferaz inaktywujących pochodne 2-deoksystreptominy (np. gentamycynę, neotymocynę, tobramycynę, amikacynę, kanamycynę, neomycynę) zaliczamy:

- 1) acetylotransferazy takie jak AAC(2') (np. *P. stuartii*), AAC(6') (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, u gronkoców i enterokoków domena AAC(6') w obrębie AAC(6')/APH (2") - dwudomenowej transferazy) czy AAC(3) (np. *P. aeruginosa*)
- 2) fosfotransferazy: APH(3') (np. *S. aureus*), APH(2") (u gronkoców i enterokoków domena APH(2") w obrębie AAC(6')/APH(2"))
- 3) nukleotydylotransferazy: ANT(4') (np. *P. aeruginosa*), ANT(2") (np. *A. baumannii*) czy ANT(4')(4") (*S. aureus*). Inaktywacja chloramfenikolu warunkowana jest działaniem wewnątrzkomórkowych enzymów - acetylotransferaz (CATI, CATII, CATIII) (*Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* i inne bakterie) lub acetylotransferaz XAT (*A. tumefaciens*). Inaktywacja leków z grupy 14 i 16 członowych makrolidów uwarunkowana jest u *S. aureus* i *E. coli* przez plazmidowy enzym z grupy hydrolaz - esterazę erytromycynową. Ponadto opisano kilka innych enzymów inaktywujących antybiotyki. Zaliczamy tutaj nukleotydylotransferazę linkomycynową LinA (*S. aureus*, *S. haemolyticus*), acetylotransferazy streptogramin A:

VatB i Vat (*Staphylococcus*) oraz Sat (*E. faecium*), hydrolazy streptogramin B: Vgh i Vgh (*Staphylococcus*) [1] oraz oksydoreduktazę tetracyklinową (*Liacteroid.es*) [20].

II. BRAK WNIKANIA LUB AKTYWNE USUWANIE LEKU Z KOMÓRKI BAKTERYJNEJ

Brak wnikania antybiotyku do wnętrza komórki bakteryjnej może być spowodowany istnieniem barier przepuszczalności np. brakiem kanałów porynowych w błonie zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych lub brakiem enzymów odpowiedzialnych za aktywny transport antybiotyku. Utrata poryn ma szczególne znaczenie u pałeczek niefermentujących z rodzajów *Pseudomonas* czy *Acinetobacter* oraz u niektórych pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* [8]

Obecnie co raz większe znaczenie przypisuje się mechanizmowi oporności polegającemu na aktywnym usuwaniu antybiotyku z komórki (mechanizm pompy błonowej). Jest to jeden z podstawowych mechanizmów oporności na tetracykliny, ale również ma znaczenie w oporności na inne antybiotyki i środki dezynfekcyjne. Systemy usuwania mogą być wyspecjalizowane dla jednej substancji lub też mogą mieć zdolność do usuwania kilku lub nawet wielu niepodobnych do siebie substancji. Systemy te są zależne od obecności białek błonowych (transporterów błonowych) zależnych od energii pochodzącej albo z PMF (pompy protonowej) lub energii pobieranej od ATP. Białka wykazujące działanie typu pompy błonowej (efflux mechanism, aktywny wypływ) są szeroko rozpowszechnione u wszystkich żywych komórek stanowiąc naturalny lub nabyty mechanizm detoksyfikacji [8,16].

Do systemów zależnych od ATP zaliczamy białka o charakterze P-glikoprotein. Należy tu superrodzina transporterów wiążących ATP (transportery kasetowe ABC). Opisano kilka białek z tej grupy istotnych w lekooporności

drobnoustrojów. Najważniejsze z nich to białko Mdr1 warunkujące oporność *Plazmodium falciparum* na leki przeciwmalaryjne. Mechanizm ten występuje również u *Entameba histolytica* i *Leishmania spp.* U bakterii białka takie opisano między innymi u gronkowców (MsrA i MsrB - oporność na makrolidy i streptograminy B [22], Vat - oporność na streptograminy A) [2, 16]

Do białek czerpiących energię z pompy protonowej zaliczamy 3 rodziny: MFS (major facilitator superfamily), RND (resistance nodulation division family) i SMR (small multidrug resistance family).

Szczególnie rozbudowana jest rodzina MFS gdzie zaliczamy białka posiadające 12 lub 14 segmentów transmembranowych (12 TMS lub 14 TMS). Najbardziej znanymi przykładami białek 12 TMS są białka warunkujące oporność na tetracykliny u różnych gatunków bakterii Gram-ujemnych takie jak TetA, TetB, TetC, TetD, TetE, TetG i TetH [17]. Należy tu także białko CmlA odpowiedzialne za oporność na chloramfenikol u *P.aeruginosa*, Ber warunkujące oporność na sulfatiazol u *E.coli*, NorA odpowiedzialne za oporność na fluoro-chinolony u *S.aureus* oraz Bit i Bmr powodujące oporność na chloramfenikol i antyseptyki u *B.subtilis*. Przedstawicielami białek z rodziny MSF zbudowanych z 14 segmentów są białka warunkujące oporność na tetracykliny, występujące u bakterii Gram-dodatnich, takie jak TetK (wiele gatunków), TetL (wiele gatunków), Tet347 (*Streptomyces*) i BsTet (*B. subtilis*). A ponadto białko LfrA warunkujące oporność na fluorochinolony i antyseptyki u *M. smegmatis*, białko LmrA warunkujące oporność na linkozamidy u *S. lincolnensis* oraz białka QacA i QacB warunkujące oporność na antyseptyki u gronkowców [11].

Białka rodziny RND posiadają 12 segmentów transmembranowych i zostały opisane u bakterii Gram-ujemnych. W procesie aktywnego wypływu uczestniczy zwykle układ 3 białek. Znanych jest wiele systemów tego typu któ-

re warunkują wpływ tetracyklin, chloramfenikolu, fluorochinolonów, beta-laktamów, nowobiocyny, erytromycyny, rifampicyny, kwasu fusydowego oraz związków antyseptycznych.

W obrębie rodziny SMR występują białka posiadające 4 segmenty transmembranowe lub 10 segmentów transmembranowych. Najbardziej znane są QacC, QacD, Ebr, QacH, OacE i OacE-delta (wszystkie 4 tMS) odpowiedzialne za aktywny wpływ związków antyseptycznych u gronkowców i pałeczek *Enterobacteriaceae*.

III. MODYFIKACJA MIEJSCA DOCELOWEGO DLA ANTYBIOTYKU

Modyfikacja białek bakteryjnych w miejscu działania leku jest bardzo powszechnym mechanizmem oporności. Można go podzielić na 4 podgrupy.

1. Mutacje w obrębie genu kodującego białko będące miejscem docelowym dla antybiotyku lub też nabycie nowego białka

Zmutowane białko może zachować swoje funkcje ale zmianie ulega jego powinowactwo do antybiotyku. Przykładem tego typu mutacji może być oporność na chinolony, która jest często wynikiem zmian mutacyjnych w obrębie genów kodujących gyrazę i inne topoiizomery bakteryjne [10]. Podobnie enzymy pełniące dalej swoje funkcje ale nie wykazujące powinowactwa do antybiotyku odgrywają rolę w oporności bakterii na mupirocynę, fosfomicynę sulfonamidy czy trimetoprim. Zmiany mogą mieć charakter mutacyjny, ale najczęściej bakterie nabywają z zewnątrz nowe geny warunkujące syntezę opornych wariantów enzymów, np. w przypadku wysokiej oporności na mupirocynę u gronkowców która jest nabywana na drodze

koniugacji [13]. Mutacje w obrębie genów białek PBP (penicillin binding proteins, białka wiążące penicylinę) mogą być przyczyną oporności na antybiotyki B-laktamowe np. mutacja genu PBP2 u *S.aureus* (oporność typu MODSA). Szczepy metycylinooporne gronkowców MRSA (methicillin resistant *S. aureus*) i MRS-CN (methicillin resistant staphylococci coagulase negative) wytwarzają dodatkowe, nowe białko PBP2A kodowane przez regulon *mec*. Obecność tego białka warunkuje oporność na wszystkie jak dotąd stosowane antybiotyki B- laktamowe. Rodzaj ekspresji oporności (homo- genny czy heterogenny) jest uwarunkowany przez inne czynniki [7, 11]. U *S. pneumoniae* opisano mutacje w genach 5 różnych PBP - każda z tych mutacji jest przyczyną oporności na penicylinę. Zmutowane geny PBP są u paciorkowców stosunkowo łatwo nabywane na drodze transformacji od szczepów paciorkowców z jamy ustnej. Rodzaj i liczba zgromadzonych mutacji warunkuje stopień oporności. Enterokoki są gatunkowo bardziej odporne na antybiotyki 13-laktamowe (zwłaszcza na cefalosporyny) od innych bakterii. Wiąże się to z niskim powinowactwem ich PBP do tych antybiotyków. Wśród *E. faecium* i *E. faecalis* pojawiają się warianty o jeszcze bardziej zmniejszonym powinowactwie PBP oraz charakteryzujące się nadprodukcją PBP5. Warianty te są odporne również na ampicylinę i penicylinę [7]. Mutacyjne zmiany struktury niektórych białek rybosomalnych mogą warunkować oporność na streptomycynę, lub kwas fusydowy. Przykładem może być nabywanie oporności przez prątki gruźlicy na streptomycynę w trakcie leczenia [15]

2. Enzymatyczna modyfikacja miejsca docelowego leku

Oporność na makrolidy, linkosamidy i streptograminy B (MLS) warunkowana jest przez enzymy Erm (metylazy) działające na fragment rRNA będący miejscem docelowym

działania tych antybiotyków. Oporność jest zwykle indukcyjna (induktorem są makrolidy podczas gdy linkozamidy nie indukują oporności), a regulacja ekspresji odbywa się na poziomie translacji [21]. Pojedyncza mutacja może spowodować zmianę typu regulacji oporności z indukcyjnej na konstytutywną. Metylazy Erm są szeroko rozpowszechnione u bakterii np. ErmA, ErmB, ErmC (*S. aureus*), ErmM (*S. epidermidis*), ErmAM (*S. sanguis*), ErmTR (*S. pyogenes*), ErmB-like (*E. faecalis*), ErmCD (*C. diphtheriae*), ErmD, ErmK (*B. licheniformis*), ErmG (*B. sphaericus*), ErmIM (*B. subtilis*), ErmJ (*B. anthracis*), ErmP, ErmQ (*C. perfringens*), ErmZ (*C. difficile*), ErmF, ErmFS, ErmFU (*B. fragilis*).

Oporność na glikopeptydy (wankomycynę, teikoplaninę) u enterokoków związana jest z enzymatyczną modyfikacją prekursora peptydoglikanu [14, 23]. Częsteczką prekursora: kwas UDP-N-acetylo-muraminowy do którego przyłączony jest pentapeptyd jest miejscem docelowym dla glikopeptydów. Przyłączają się one do końcowej D-alanylo-D-alaniny (4 i 5 aminokwas pentapeptydu). Oporność na glikopeptydy polega na syntezie innego prekursora, do którego antybiotyki glikopeptydowe nie wykazują powinowactwa. Zmieniony prekursor to kwas UDP-N-acetylo-muraminowy z przyłączonym zamiast pentapeptydu depsi-peptydem, gdzie końcowa D-alanina została zastąpiona D-mleczanem. Takie prekursory peptydoglikanu zapewniają wysoki poziom oporności typu VanA, VanB i VanD. Do syntezy tak zmienionego prekursora konieczne jest nabycie przez bakterię aż trzech dodatkowych enzymów: ligazy VanA lub VanB o zmienionej specyficzności substratowej, która katalizuje połączenie pomiędzy D-alaniną, a D-2-hydrokwasami, dehydrogenazę D-2-hydroksykwasów, która redukuje pirogronian do D-mleczanu i w ten sposób dostarcza substratu niezbędnego dla ligazy oraz D,D-dwupeptydazę VanX, która hydrolizuje dwupeptyd D-alanylo-D-alaninę. Oporność na niskie stężenia

vankomycyny, która jest cechą gatunkową większości szczepów *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* i *E. jlaveszens* typu VanC wynika z produkowania przez bakterie prekursora ściany komórkowej, kwasu UDP-N-acetylomuraminowego którego pentapeptyd zakończony jest D-alanylo-D-seryną. Oporność typu VanA i VanB kodowana jest przez transpozony zlokalizowane w obrębie plazmidów [7, 23].

3. Aktywna ochrona miejsca docelowego

Należy tu drugi mechanizm oporności na tetracykliny, równie często rozprzestrzeniony wśród różnych gatunków bakterii jak mechanizm pompy błonowej. Opisano grupę białek które aktywnie chronią miejsce na rybosomie przed atakiem tetracyklin. Opisano 8 takich białek: TetM, TetO, TetP, TetQ, TetS, OtrA, OtrB i OtrC. Dokładny mechanizm ochrony rybosomu przez te białka nie został wyjaśniony [17].

IV. UTRATA LUB BRAK ENZYMÓW ODPOWIEDZIALNYCH ZA ZAMIANĘ PROLEKU W FORMĘ AKTYWNA

Przyczyną tego typu mechanizmu oporności na leki są najczęściej mutacje w wyniku których kodowane przez genom drobnoustroju enzymy (np. kinazy, reduktazy) tracą swoją aktywność lub nie są syntetyzowane. Mechanizm ten dotyczy najczęściej oporności bakterii na metronidazol lub nitrofurany.

Tolerancja

Niekiedy za brak skuteczności antybiotykoterapii odpowiedzialne jest zjawisko tolerancji bakterii na antybiotyki. Tolerancją nazywamy wysoką oporność bakterii na bakteriobójcze działanie antybiotyku (stosunek minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC) do minimal-

nego stężenia hamujące (MIC) > 32) przy zachowanej wrażliwości na działanie bakteriostatyczne. Najczęściej opisywane były szczepy *S. aureus* wykazujące tolerancję na wankomycynę oraz szczepy paciorkowców wykazujące tolerancję na penicylinę [12].

PIŚMIENNICTWO

- Allignat J, Aubert S, Morvan A, El Solh N. Distribution of genes encoding resistance to streptogramin A and related compounds among staphylococci resistant to these antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1996, 40(11): 2523-2528.
- Allignat J, Loncle V, El Solh N. Sequence of a staphylococcal plasmid gene, *vga* encoding a putative ATP-binding protein involved in resistance to virginiamycin A-like antibiotics. *Gene* 1992, 117: 45-51.
- Ambler RR The structure of β -lactams. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser B*, 1980, 289: 321-331.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structures. *Antimicrob Agents Chemother* 1995, 39: 1211-1233.
- Diagle DM, Hughes DW, Wright GD. Prodigious substrate specificity of AAC(6')-APH(2''), an aminoglycoside antibiotic resistance determinant in enterococci and staphylococci. *Chem Biol* 1999, 6: 99-110.
- Jeljaszewicz J, Młynarczyk G, Młynarczyk A. Aktualne zagrożenia dotyczące oporności na antybiotyki u bakterii. *Błok Operacyjny* 1998, 4: 49-55.
- Jeljaszewicz J, Młynarczyk G, Młynarczyk A. Present and future problems of resistance in Gram-positive cocci. *Infection* 1998, 26(1): 1-7.
- Johnson JM, Church GM. Alignment and structure prediction of divergent protein families: periplasmic and outer membrane proteins of bacterial. *J Mol Biol* 1999, 287: 695-715.
- Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995, 8: 557-584.
- Luttinger A. The twisted life of DNA in the cell: bacterial topoisomerases. *Mol Microbiol* 1995, 15: 601-606.
- Młynarczyk A, Młynarczyk G, Jeljaszewicz J. The genome of *Staphylococcus aureus*: a review. *Zbl. Bakt.*, 1998, 287: 277-314.
- Młynarczyk G, Młynarczyk A, Zabicka D, Jeljaszewicz J. Lysogenic conversion as a factor influencing the vancomycin tolerance phenomenon in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1997, 39: 136-137.
- Morton T, Johnston L, Patterson J, Archer GL. Characterization of a conjugative staphylococcal mupirocin resistance plasmid. *Antimicrob. Agents Chemother*, 1995, 39(6): 1272-1280.
- Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci. *Am J Med* 1997, 102: 289-293.
- Musser JM. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. *Clin Microbiol Rev* 1995, 8: 496-514.
- Paulsen IT, Brown MH, Skurray RA. Proton-dependent multidrug efflux systems. *Microbiol Rev* 1996, 60: 575-608.
- Roberts MC. Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility and distribution. *FEMS Microbiol Rev* 1996, 19: 1-24.
- Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes, and familial relationships of the aminoglycoside modifying enzymes. *Microbiol Rev* 1993, 57: 138-163.
- Siro D. Extended-spectrum plasmid mediated β -lactamases. *J Antimicrobial Chemother* 1995, 36 Suppl.A: 19-34.
- Speer BS, Bedzyk L, Salyers AA. Evidence that a novel tetracycline resistance gene found on two *Bacteroides* transposons encodes an NADP-requiring oxidoreductase. *J Bacteriol* 1991, 173: 176-183.
- Weisblum B. Insights into erythromycin action from studies of its activity as inducer of resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1995, 39: 797-805.
- Wondrack L, Massa M, Yang BV, Sutcliffe J. Clinical strain of *Staphylococcus aureus* inactivates and causes efflux of macrolides. *Antimicrob Agents Chemother* 1996, 40(4): 992-998.
- Woodford N, Johnson AP, Morrison D, Speller DCE. Current perspectives on glycopeptide resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995, 8(4): 585-615.

GENOM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* I ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ

The genome of *Staphylococcus aureus* and drug-resistance

Andrzej Młynarczyk

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Akademii Medycznej w Warszawie

Kierownik: Prof. dr hab. med. M. Łuczak

Streszczenie. Genom *S.aureus* obejmuje kolisty chromosom o wielkości 2,7 - 2,8 mbp, oraz dużą różnorodność elementów pozachromosomalnych: koniugacyjne i niekoniugacyjne plazmidy, elementy ruchome genomu takie jak sekwencje insercyjne (IS) i transpozony (Tn, Hi) oraz profagi. Plazmidy o wielkości od 1 do 60 kbp należą do 4 klas i 15 grup niezgodności. Ruchome elementy genomu: sekwencje insercyjne (IS) o wielkości od 0,8 do 2,0 kbp, transpozony (Tn, Hi) o wielkości od 4,5 do 18 kbp są wbudowane w obrębie chromosomu lub w obrębie plazmidów klasy 2 i 3. Profagi o wielkości od 45 do 60 kbp wbudowane są w DNA chromosomu. Oporność na antybiotyki u *S. aureus* warunkowana jest przez 3 mechanizmy: (1) enzymatyczną inaktywację antybiotyków (oporność na aminoglikozydy, penicyliny, streptograminy, wirginiamycyny, chloramfenikol, linkozamidy), (2) aktywnym usuwaniem z komórki (oporność na tetracykliny, fluorochinolony, makrolidy-streptograminy B) oraz (3) modyfikacją miejsca docelowego dla antybiotyku w wyniku: mutacyjnych zmian powinowactwa syntetyzowanych białek do antybiotyku (oporność na beta-laktamy typu MODSA, fluorochinolony, trimetoprim, mupirocynę, rifampicynę, streptomycynę, kwas fusydowy), syntezy nowych białek o niskim powinowactwie do antybiotyku przejmujących funkcję białek inaktywowanych (oporność na beta-laktamy typu MRS, trimetoprim, mupirocynę), enzymatycznej modyfikacji rybosomu (oporność na makrolidy-linkozamicyl-streptograminy B), syntezy alternatywnego prekursora peptydoglikanu (oporność na glikopeptydy) oraz aktywnej ochrony rybosomu (oporność na tetracykliny).

Summary. Genome of *Staphylococcus aureus* consists of a single circular chromosome (2.7-2.8 mbp) and extrachromosomal accessory genetic elements: conjugative and nonconjugative plasmids, mobile elements (IS, Tn, Hi) and prophages. Plasmids (1-60 kbp) are classified to 4 classes and there are known 15 incompatibility groups of them. Mobile elements of genome (IS - 0.8-2 kbp, Tn and Hi - 4.5-18 kbp) appear in chromosome or in plasmids of II and III classes. Prophages (45-60 kbp) are integrated to bacterial chromosome. The resistance in *S.aureus* may be a result of 3 mechanisms: (1) production of bacterial enzymes which hydrolyze or modify antibiotic, changing it into inactive form (resistance to aminoglycosides, penicillins, streptogramin, virginiamycin, chloramphenicol, lincosamides), (2) the loss of the permeability for the antibiotic or active efflux from the cell (resistance to tetracyclines, fluoroquinolones, macrolide-streptogramin B) and (3) modification of the target leading to decreased antibiotic bounding. Target modification is realized either by mutation in genes encoding the target proteins (the MODSA type of resistance to beta-lactam antibiotics and resistances to fluoroquinolones, trimetoprim, mupirocin, rifampicin, streptomycin, and fusidic acid), or by acquiring new genes determining either alternative proteins (resistance to beta-lactam antibiotics type MRS, trimetoprim, mupirocin) or enzymatic ribosome modification (resistance to macrolides-lincosamides-streptogramin B) or synthesis of an alternative peptidoglycan precursor (resistance to glycopeptides) or mechanism depending on ribosome protection (resistance to tetracyclines).

Genom *S.aureus* obejmuje kolisty chromosom o wielkości 2,7-2,8 milionów par zasad (mbp), plazmidy (1-60 kbp; 4 klasy; 15 grup niezgodności; różna ilość kopii w komórce), elementy transpozycyjne (IS, Tn, Hi; 0,8-18 kbp; wbudowane w obrębie chromosomu lub plazmidów klasy 2 i 3) oraz profagi (45-60 kbp; wbudowane w DNA chromosomu). Dotychczas sklonowano i zsekwencjonowano ok. 1000 różnych *orf* (niektóre równoległe u kilku szczepów) oraz ustalono lokalizację kilkuset miejsc insercji transpozonów i attachment fagowych. Funkcje kodowanych białek zostały określone dla ok. 60-70% zsekwencjonowanych genów [3, 4, 10].

I. CHROMOSOM

Mapowanie całego chromosomu *S.aureus* dotyczy głównie czterech szczepów: 112 (I grupa fagowa), PS55 (II grupa fagowa), PS47 (NCTC 8325; III grupa fagowa) i 42D (IV grupa fagowa) [4, 10, 13].

Większość badań dotyczących mapowania chromosomu przeprowadzono na szczepie NCTC 8325. Na podstawie licznych analiz wykonano jego mapę fizyczną i genetyczną. Wielkość chromosomu szczepu NCTC 8325 określono na 2,8 mbp.

W wyniku trawienia endonukleazą SmaI uzyskano 16 fragmentów (w nawiasach wielkość w kbp): A (673,7), B (361), C (324), D (262), E (257), F (208), G (175), H (135), I (117), J (80), K (76), L (44), M (36), N (10), O (10), P (9). Ustalono kolejność 15 fragmentów: A, J, K, F, I, H, C, M, G, E, O, L, D, B, N, a w ich obrębie kolejność ok. 200 genów i ok. 100 miejsc insercji transpozonów i attachment fagowych [4, 10, 13].

Mapy chromosomów innych szczepów *S.aureus* np PS55 są znacznie mniej do

kładne. Chromosom szczepu PS55 ma wielkość 2,771 mbp. W wyniku trawienia endonukleazą SmaI uzyskano 16 fragmentów (w nawiasach wielkość w kbp): A (702), B (456), C (294), D (286), E (228), F (183), G (173), H (128), I (113), J (98), K (50), L (43), M (9), N (6), O (4), P (3). Ustalono kolejność 9 fragmentów: A, x, F, I, M, x, J, E, G, C, x, B, (x - fragmenty niezidentyfikowane), a w ich obrębie zmapowano ok. 25 loci (genów, miejsc insercyjnych). Chromosom szczepu 112 ma wielkość 2,768 mbp. W wyniku trawienia endonukleazą SmaI uzyskano 18 fragmentów (w nawiasach wielkość w kbp): A (710), B (655), C (293), D (260), E (163), F (134), G (116), H (97), I (74), J (59), K (43), L (27), M (21), N (18), O (18), P (15), O (9), R (3). Ustalono kolejność 12 fragmentów: A, N, B, F, G, I, L, x, D, K, E, O, x, C, x (x - fragmenty niezidentyfikowane), a w ich obrębie zmapowano ok. 35 loci (genów, miejsc insercyjnych). Chromosom szczepu 42D ma wielkość 2,652 mbp. W wyniku trawienia endonukleazą SmaI uzyskano 16 fragmentów (w nawiasach wielkość w kbp): A (477), B (348), C (303), D (274), E (257), F (179), G (157), H (127), I (117), J (110), K (78), L (67), M (53), N (10-20), O (10-20), P (9) [4, 10, 13].

Analiza wielkości fragmentów chromosomu po trawieniu SmaI i rozdziale z zastosowaniem elektroforezy pulsacyjnej (PFGE) jest najczęściej stosowaną metodą typowania epidemiologicznego [12].

Geny chromosomalne istotne w lekooporności gronkowców

Przyczyną oporności na antybiotyki warunkowanej przez geny chromosomalne są mutacje w genach naturalnie występujących oraz nowe geny wbudowane do chromosomu [10].

Mutacje

Mutacje w genach *gyrA*, *gyrB*, *grlA* (geny topoisomerazy I i IV) mogą warunkować oporność na fluorochinolony. Mutacja w genie *grlA*, C/G w pozycji 2270 (Ser-80/Tyr) i G/A w pozycji 2281 (Glu84/Lys) jest odpowiedzialna za niski poziom oporności na fluorochinolony [2, 10]. Mutacje w genie *gyrA* warunkują wysoki poziom oporności na fluorochinolony. Najczęściej opisywane mutacje to: Ser-84/Leu; Ser-84/Ala; Ser-85/Pro; Ser-84/Leu łącznie z mutacją Ser-85/Pro; Glu-88/Lys Ser-84/Leu Glu-88/Gly; Ser-84/Leu łącznie z mutacją Glu-88/Lys; Glu-88/Gly [2, 10]. Mutacje w genie *gyrB* mogą być odpowiedzialne za oporność na cyklotialidynę, komermycynę i nowobiocynę [2, 10].

Mutacje w genie *rpoB* (gen podjednostki beta polimerazy RNA zależnej od DNA) mogą warunkować oporność na rifampicynę [10].

Mutacje w genie *pbp2* w obrębie regionu kodującego konserwatywny fragment białka PBP2 wiążący penicyliny mogą warunkować oporność typu MODSA na beta-laktamy [10].

Mutacje w genie białka rybosomu (*strA*) warunkują wysoki poziom (MIC > 10 g/l) oporności na streptomycynę [10].

Mutacje w genie *fus* rybosomalnego czynnika wydłużania G (*fusA*) warunkują oporność na kwas fusydowy [10].

Mutacje w genie *dhfrB* reduktazy dihydrofolianowej warunkują niski poziom (MIC od 10-500 mg/l) oporności na trimetoprim [10].

Mutacje w genie *ileS* (*mupA*) syntetazy izoleucylo-t-RNA warunkują niski poziom (MIC 8-256 g/l) oporności na mupirocynę [10].

Nowe geny wbudowane w chromosom

- *mecA* (gen transpeptydazy PBP2A - oporność typu MRS na wszystkie antybiotyki beta-laktamowe)

- *norA* (gen białka NorA powodującego aktywny, zależny od PMF (pompy protonowej) wpływ fluorochinolonów)

- *ddh* (gen dehydrogenazy D-mleczanu

- udział w warunkowaniu niskiego poziomu oporności na glikopeptydy),

- *tetM* (gen białka TetM powodującego aktywną ochronę rybosomu przed działaniem tetracyklin.

- *ermA*, *spc* (*ermA* koduje metylazę 23S rRNA warunkującą oporność na MLS (makrolidy, linkozamidy i streptograminy

B) ; gen *spc* koduje transferazę warunkującą oporność na spektynomycynę). Obydwa geny są częścią transpozonów: Tn554, Tn554like, Tn55x, Tn3853 występujących wyłącznie w chromosomie.

- *aacA-aphD* (gen dwufunkcyjnej transferazy aminoglikozydowej). Jest częścią transpozonów Tn4001, Tn3851, Tn4031. Gen *aacA-aphD* może występować w chromosomie zwykle w regionie związanym z opornością na metycylinę oraz w plazmidach.

Szczególne znaczenie kliniczne zarówno w obrębie *S.aureus* jak i wśród gronkowców koagulazo - ujemnych odgrywają szczepy metycyliny-oporne (MRS). Szczepy oporne na metycylinę wytwarzają dodatkową transpeptydazę PBP2A przejmującą funkcje inaktywowanych przez penicyliny białek PBP2 i PBP3. PBP2A kodowana jest przez indukcyjny gen *mecA*, a za bezpośrednią regulację ekspresji *mecA* odpowiedzialne są geny regulatorowe *mecl* i *mecRl*. Region *mec* był klonowany i sekwencjonowany u wielu szczepów i wykazano, że poza genami *mecA*, *mecl* i *mecRl* zawiera on zwykle wiele innych genów odpowiedzialnych za oporność na różne grupy antybiotyków. W regionie tym wykazywano obecność transpozonów Tn554 i Tn554-like (oporność na MLS i spektynomycynę), (Tn554 (oporność na sole kadmu), zintegrowane plazmidy klasy I: pUB 110 (oporność na aminoglikozydy i ble-

omycynę), pT181 (oporność na tetracykliny) oraz geny *mcrAB* (oporność na sole rtęci) [1, 5, 10, 14, 15]. W szczepie ANS46 region *mec* zawiera: *Tn554-merAB-pT181-mec-* (Tn554. Szczep R155 ma w regionie *mec* zintegrowane: pUB1 10-/nec-7n554 [14]. W szczepie N315 zsekwenjonowano 74 orf' regionu *mec* wykazując między innymi obecność transpozonu *Tn554like* (Tn55x) warunkującego oporność na MLS i spektynomycynę, genów oporności na aminoglikozydy (*aadD*) i Neomycynę (*ble*) oraz *IS431 mec* [15]. Berger-Bachi [1] opisuje region *mec* jako *mecI-mecRI-mecA-ugpQ-dru-IS431 mec*. Gen *ugpQ* koduje fosfodiesterazę sn-glicerofosforylo-diestrową, *dru* jest regionem niekodującym i zawiera 10 powtórzeń fragmentu DNA o wielkości 40 bp w orientacji prostej.

Szczepy odporne na metycylinę: MRSA (methicillin resistant *S.aureus*) i MRS-CN (methicillin resistant staphylococci, coagulase negative) są zróżnicowane pod względem typu ekspresji oporności na metycylinę w standardowych warunkach stosowanych przy oznaczaniu lekowrażliwości. Gronkowiec MRS podzielono na cztery klasy: klasę 4 (o homogenym typie oporności) oraz klasy 1, 2, 3 (heterogenne typy oporności). Aby wykryć heterogenną oporność na metycylinę klasy 1 i 2, należy wykonać dodatkowo oznaczenie wrażliwości na metycylinę lub oksacylinę na podłożu ze zwiększoną zawartością NaCl (2-5%) (zwiększona aktywność autolizyn) lub/i inkubować testy w temp. 30°C (zwiększona aktywność PBP2A) [7, 8, 10].

Wykazano, że na typ i poziom ekspresji oporności na metycylinę poza produktami genów *mecA* (gen strukturalny PBP2A), *mecI* (gen białka represora) i *mecRI* (gen dwulinkcyjnego białka sensorowo-sygnałowego) mają również białka kodowane przez ok. 20 innych genów. Do najważniejszych zaliczamy geny: *femA* (koduje białko two-

zące wiązanie gly1-gly2 w mostkach pentaglicynowych peptydoglikanu), *emI* (koduje białko tworzące wiązanie gly3-gly4 w mostkach pentaglicynowych peptydoglikanu), *femC* (mutacja w genie *glnR* regulującym ekspresję białka GlnA odpowiedzialnego za przyłączanie gamma-D-glutaminianu), *jemI* (*femR315*, *glnM*) (koduje fosfoglukozaminomutazę katalizującą reakcję tworzenia fosfoglukozamino-6-fosforanu z fosfoglukozamino-1-fosforanu), *femE* (koduje białko uczestniczące w syntezie prekursorów peptydoglikanu), *femF* (koduje białko uczestniczące w przyłączaniu lizyny do prekursora peptydoglikanu), *femX* (koduje białko uczestniczące w przyłączeniu glicyny w mostkach pentaglicynowych), *lim* (koduje hydrofobowe, lipolityczne białko błony komórkowej), *mrp* (koduje duże białko (2478 aa) związane z błoną lub ścianą komórkową), *abcA* (koduje białko kasetowego transportera ATP), *sigB* (koduje białko regulatorowe dla regulatora polimerazy RNA), *hisS* (koduje syntetazę histydylo-tRNA) i *pbp2* (koduje PBP2) [10, 15].

Nowym problemem który pojawił się na początku lat 90 jest oporność *S.aureus* na antybiotyki glikopeptydowe. Początkowo dotyczyło to szczepów uzyskiwanych laboratoryjnie drogą wielokrotnych pasażu na podłożach zawierających wzrastające stężenia wankomycyny i teikoplaniny. W 1992 po raz pierwszy przekazano na drodze koniugacji geny warunkujące wysoką oporność na glikopeptydy typu VanA z *Enterococcus* do

S.aureus. W drugiej połowie lat 90 pojawiły się pierwsze doniesienia o wyhodowaniu z materiałów klinicznych szczepów *S.aureus* opornych na wankomycynę. Poziom oporności na wankomycynę naturalnie występujących *S.aureus* (MIC-8 mg/l) jest znacznie niższy niż ma to miejsce u enterokoków (VanA-MIC-128 mg/l; VanB-MIC-64 mg/l). Szczepy *S.aureus* wykazujące niski poziom oporności na wankomycynę nazwano po

czątkowo VRSA a później VISA. Mechanizm oporności na wankomycynę VISA nie jest w pełni poznany. Zwykle obserwowano u szczepów VISA obecność dehydrogenazy mleczanu kodowanej przez gen *ddh*. Obecność tylko jednego enzymu nie zapewnia możliwości powstawania zmienionego prekursora peptydoglikanu (depsipeptydu zakończonego D-alanylo-D-mleczanem w kwasie depsipeptylo-UDP-acetylomuraminowym) jak to ma miejsce u enterokoków przy współdziałaniu wieloskładnikowego systemu oporności [6, 7, 8].

Poza opornością (obniżoną wrażliwością) na wankomycynę opisano również szczepy *S.aureus* wykazujące tolerancję na wankomycynę (niewrażliwość na działanie bakteriobójcze antybiotyku; MBC/MIC (32). Wykazano, że lizogenia niektórymi fagami zwiększa wartość MBC *S.aureus* na wankomycynę [11]. Zjawisko to można prawdopodobnie tłumaczyć obecnością autolizyn kodowanych przez genom fagowy i ich udziałem w eliminowaniu inaktywnych przez wankomycynę prekursorów peptydoglikanu.

II. PLAZMIDY

Plazmidy *S.aureus* podzielono na 4 klasy:

Klasa I. obejmuje plazmidy o wielkości 1,3- 4,6 kbp, występujące w komórce bakteryjnej w liczbie 10-55 kopii i replikujące się (gen *rep*) poprzez mechanizm „toczącego się koła”. Plazmidy te mają zwykle tylko jeden gen oporności na antybiotyki i nie zawierają wbudowanych transpozonów. Zaliczamy tu plazmidy należące do 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13 i 14 grupy niezgodności (*inc*). Plazmidy klasy I mogą warunkować oporność na: tetracykliny (gen *tetK* warunkujący aktywny wpływ tetracyklin z komórki), chloramfenikol (gen *cml* acetylotransferazy chloramfenikolowej), MLS (gen *ermC* me-

tylotransferazy 23S rRNA), lub aminoglikozydy (gen *aadD* nukleotydylotransferazy ANT (4')(4'')) warunkującej oporność na kanamycynę, neomycynę, amikacynę i tobramycynę), linkozamidy (gen *linA* O-nukleotydylotransferazy linkozamidowej), bleomycynę (gen *ble*), fosfomycynę (gen *fos B* w plazmidach *S.epidermidis*) oraz na związki dezynfekcyjne i antyseptyczne (geny *qacC* i *smr* kodują białka odpowiedzialne za aktywny wpływ zależny od PMF) [3, 10, 14].

Plazmidy klasy I podzielono na cztery rodziny: pT181, pC194, pSN2 i pE194.

Do rodziny pT181 zaliczono plazmidy: pT181 (4,4 kbp, *tetK*, *repC*, *inc3*), pT127 (4,4 kbp, *tetK*, *repC*, *inc3*), pNS1 (4,4 kbp, *tetK*, *repC*, *inc3*), pC221 (4,6 kbp, *cml*, *repD*, *inc4*), pC223 (4,6 kbp, *cml*, *repJ*, *inc10*), pSK2 (4,5 kbp, *cat*), pUB12 (4,1 kbp, *cat*, *repI*, *inc9*), pS194 (4,4 kbp), pCW7 (4,2 kbp, *cat*, *repN*, *inc14*).

Do rodziny pC194 zaliczono plazmidy: pC194 (2,9 kbp, *cat*, *repH*, *inc8*), pUB110 (4,4 kbp, *aadD*, *repU*, *ble*, *inc13*), pIP855 (2,5 kbp, *linA*), pIP1842 (2,45 kbp, *fosB*), pSK89 (2,4 kbp, *qacC*), pSK108 (2,4 kbp, *qacC*), pWG32 (2,4 kbp, *smr*)

Do rodziny pSN2 zaliczono kryptyczne plazmidy: pSN2 (1,3 kbp), pOX2000 (1,6 kbp) i pSK3 (1,3 kbp)

Do rodziny pE194 zaliczono plazmid pE-194 (3,7 kbp, *ermC*, *repF*, *inc11*)

Klasa II obejmuje plazmidy o wielkości 15 - 56 kbp replikujące się częściowo zgodnie z mechanizmem theta i zawierające zwykle kilka sprzężonych genów oporności. Występują zwykle w liczbie 4-6 kopii na komórkę bakteryjną, mogą zawierać transpozony np.: Tn557, Tn552, Tn552-like, *Jn4001*, Tn4003, Tn4004. Plazmidy klasy II mogą warunkować oporność na penicyliny (gen *blaZ* kodujący beta-laktamazę występujący czasami w obrębie transpozonów Tn552 lub Tn4002), MLS (gen *ermB* w obrębie transpozonu Tn557), trimetoprim (gen *dfpA* w ob

rębie transpozonu Tn4003), aminoglikozydy (gen *aacA-aphD* dwudomenowej transferazy aminoglikozydowej AAC(6')/APH(2'') w obrębie transpozonu Tn4001 - oporność na gentamycynę, kanamycynę, tobramycynę, amikacynę i netylmycynę), streptograminy A (geny: *vfl/-0-acetylotransferazy streptogramin A* oraz *vga* kodujący białko odpowiedzialne za aktywny wpływ zależny od ATP), streptograminy B (gen *vgb* hydrolazy streptogramin B), kwas fusydowy (gen *fusB* - mechanizm nieznan), sole metali ciężkich (np. geny *arsB*, *arsC* - aktywny wpływ arsenianów, *merA*, *merB* w obrębie transpozonu Tn4004 - enzymatyczny rozkład soli rtęci, *cadA*, *cadB* - oporność na sole kadmu) i środki dezynfekcyjne (geny *qacA*, *qacB* kodujące białka odpowiedzialne za aktywny wpływ) [3, 10, 14].

Do klasy II zaliczamy dwie rodziny plazmidów: rodzinę plazmidów penicylinazowe i rodzinę pSK1 oraz kilka plazmidów niesklasyfikowanych [3, 10, 14].

Rodzina plazmidów penicylinazowych została podzielona na podrodziny: alfa, beta, gamma, delta, orphan (sieroce) oraz naturalne rekombinanty alfa/beta i alfa/gamma.

Przedstawicielami podrodziny alfa są plazmidy: pI524 (31,8 kbp, Tn4004-*cadA-Tn552-arsBC*, incl), pi 13371 (31,1 kbp, *blaZ*, *arsBC*, *merAB*, *cadA*, incl), pUB108 (46 kbp, *arsBC*, *cadA*, *merAB*, inc 1).

Przedstawicielami podrodziny beta są plazmidy: pi 147 (32,6 kbp, Tn4004-*cadA-blaZ-arsBC-cadB*, inc2) oraz piI3804 (31,6 kbp, *blaZ*, *merAB*, *cadA*, inc2).

Przedstawicielami podrodziny gamma są plazmidy: pi258 (Tn4004-*cadA-blaZ-arsBC-Tn551*), pi9789 (19,7 kbp, *arsBC*, *cadA*, *merAB*), piSX267 (29,5 kbp, *arsBC*).

Przedstawicielem podrodziny delta jest Plazmid: piI6907 (25,3 kbp, *arsBC*, *cadA*).

Przedstawicielem podrodziny alfa/beta jest plazmid: pSK23 (38,0 kbp, Tn4001, *blaZ*, *cadA*, *merAB*, *qacA*).

Przedstawicielami podrodziny alfa/gamma są plazmidy: pi836 (29,1 kbp, *arsBC*, *blaZ*, *cadA*, *merAB*), pSK57 (28,8 kbp, *blaZ*, *cadA*, *merAB*, *qacA*), piWG50 (42,8 kbp, Tn4001, *blaZ*, *cadA*, *merAB*, *qacB*).

Przedstawicielami podrodziny orphan są plazmidy: pi 1071 (26,5 kbp, *blaZ*, *cadA*, incl), pSK67 (26,5 kbp, *blaZ*, *cadA*, incl), pSK77 (27,2 kbp, *blaZ*, *cadA*, incl), piI- 1113 (24,1 kbp, *blaZ*, *cadB*, inc2), piI 1106 (*blaZ*, *cadB*, inc2), pUB101 (*blaZ*, *merAB*, *cadA*, *fus*).

Do rodziny pSK1 klasy II zaliczono plazmidy: pSK1 (28,4 kbp, Tn4003-*q-acA-Tn4001*), pSK4 (35,1 kbp, Tn4003-*Tn552like-qacA-Tn4001*), pSK7 (23,7 kbp, Tn4003-*qacA*), pSK14 (24,4 kbp, Tn4001-*q-acA*), pSK18 (18,9 kbp, *qacA*), pSK105 (23,6 kbp, Tn4001-*qacA*), piWG53 (27,0 kbp, Tn4001, Tn4003, *qacA*).

Do niesklasyfikowanych plazmidów klasy II zaliczono: piP630 (22,7 kbp, *vat*, *vga*, *vgb*).

Klasa III obejmuje plazmidy o wielkości ok. 34 - 60 kbp, posiadające zdolność do koniugacji warunkowaną przez geny *tra* (*traA* do *traM*) lub *trs* (*trsA* do *trsN*). Warunkują oporność na aminoglikozydy (hybryd Tn4001-IS257, oraz wbudowany plazmid pUB110 klasy I), bleomycynę (wbudowany plazmid pUB110) mupirocynę (gen *mupA*), trimetoprim (gen *dfpA*, Tn4001-like), penicyliny (*blaZ*, Tn552like), linkozamidy (gen *linA*), tetracykliny (gen *tetK*), wirginiamycyny (gen *vatB* acetylotransferazy wirginiamycynowej) i związki antyseptyczne i dezynfekcyjne (geny *qacA*, *qacC* i *smr*) [3, 10, 14].

W obrębie klasy III plazmidów wyszczególniono rodzinę pSK41 oraz grupę plazmidów niesklasyfikowanych [3, 10, 14].

Do rodziny pSK41 zaliczono plazmidy: pSK41 (47,8 kbp, 46 orf, pUB110-*tra-qacC*-Aybryd Tn4001-IS257), piCRG1600, (52,9 kbp, hybryd Tn4001-IS257, pUB101, *blaZ*, *qacC*), piGO1 (52,0 kbp, pUB110-*Q-trs-qacC*-

hybryd *Tn4001-IS257-dfrA*), pUW3626 (54,4 kbp, pUB1 (*Ura-qacC*-hybryd *Tn4001-IS257*- *Tn552like*), pG0400 (34,0 kbp, *trs-mupA*), pTZ20 (43,7 kbp, hybryd *Tn4001-IS257*, *tra*, *qacC*), pSH8 (45,0 kbp, hybryd *Tn4001-IS257*, pUB101, *<yacC*) i pJEl (50,0 kbp, *tra-p*\JB 110- *Tn4003like*-*tra-gflcC*- hybryd *Tn4001-IS257*) [3, 10, 14].

Do niesklasyfikowanych plazmidów klasy III zaliczono: pIP1 156 (60 kbp, *vatB*, *dfrA*, *blaZ*, *linA*), pJ3358 (34,2 kbp, *tetK*, *mupA*), pWBG707 (38,0 kbp, *tra*, *drfA*), pWGB637 (34,5 kbp, *tra*, *incI5*), pSAJ 1 (50,0 kbp, hybryd *Tn4001-IS257*, *qacA*), pTZ22 (hybryd *Tn4001-IS257*, *qacC*) [3, 10, 14].

Klasa IV plazmidów została prowizorycznie zarezerwowana dla plazmidów nie dających się sklasyfikować w klasach I-III [10].

III. SEKWENCJE INSERCYJNE I TRANSPOZONY SEKWENCJE INSERCYJNE

U gronkowców opisano kilka różnych sekwencji insercyjnych: IS256 (1,324 kbp), IS257 (IS-III) (0,790 kbp), IS431 *mec*, IS257 (IS-III) *like* (0,920 kbp), IS1181 (1,985 kbp), IS1182 (1,602 kbp), IS7272 (1,934). W obrębie IS występują geny *tnp* kodujące enzymy odpowiedzialne za transpozycję (transpozazy i resolwazy). IS występują w chromosomie, niektórych plazmidach i transpozonach i odgrywają niezwykle istotną rolę w procesach reorganizacji genomów i w ich ewolucji [3, 10].

Transpozony

Transpozony gronkowców ze względu na strukturę fragmentów końcowych można podzielić na kilka grup (w nawiasach podano geny i IS w obrębie transpozonu; strzałka w nawiasie za genem lub IS oznaczają

kierunek transkrypcji genu lub orientację IS) [3, 10].

Transpozony zakończone sekwencjami IS w orientacji prostej (IS direct):

Tn4003 (4,7 kbp, IS257(*tnpC*(->)-*rep*- *IS257(tnpD)*(-^>)-*orf140*(<-)-*dfrA* (<-)- *thyE*(<-)- *IS257(tnpE)*(->)) - koduje reduktazę dwuhydrofolianową DHFR warunkującą oporność na trimetoprim) oraz *Tn4004* (7,8 kbp, *IS257like*(->)-*merA**merB-IS257-like*(->)) - koduje enzymy (reduktazę i liazę) warunkujące oporność na sole rtęci [3, 10].

Transpozony zakończone sekwencjami IS w orientacji odwróconej (IS inverted):

Tn4001 (4,7 kbp, IS256(->)-*orf132*{-+y *aacA-aphD*(^>)-*IS256*(<-)), hybryd *Tn4001-IS2576* (IS257(->)-*deltaIS256*(->)-*oi/732* (->)-*aacA-aphD* (->)-*deltaIS256* (<-)-IS257 (->)) oraz wykazujące duże podobieństwo lub identyczność z *Tn4001* transpozony *Tn3851* (5,2 kbp) i *Tn4031*. Transpozony tego typu kodują dwudomenową transferazę aminoglikozydową AAC(6')/APH(2'') warunkującą oporność na gentamycynę i wiele innych aminoglikozydów). Do grupy tej zaliczamy również transpozon *Tn5405* (12,0 kbp, *IS1182*(->) *aadE-sat4-aphA-3-IS1181-IS 1182*(<-)) wchodzący w skład większego transpozonu *Tn5404* (16 kbp). *Tn5405* koduje fosfotransferazę aminoglikozydową APH (3')(5') (gen *aphA-3* warunkuje oporność na kanamycynę i neomycynę), nukleotydylotransferazę aminoglikozydową AAD(6') (gen *aadE*, niski poziom oporności na streptomycynę) oraz acetylotransferazę streptotrycyny (gen *sat4*).

Transpozony zakończone sekwencjami TIR (terminal inverted repeat - końcowe sekwencje odwrócone) o wielkości 40-120 bp: *Tn552* (6,64 kbp, TIRL-p271-p480-binL-re- sL-blaI-blaZ-TRP) oraz podobne lub identyczne transpozony *Tn3852* (7,3 kbp), *Tn4002* (6,6 kbp), *Tn4201* (7,5 kbp), - wszystkie posiadają gen *blaZ* kodujący beta-laktamazy. Do grupy tej zaliczamy również transpozony

Tn557 (5,3 kbp, *ermB*) kodujący metylotransferazę 23S rRNA, ErmB warunkującą konstytutywną oporność na MLS) oraz Tn5404 (TIR-Tn5405-TIR) [3,10].

Transpozony nie posiadające zakończeń typu TIR lub IS: Tn554 (*tnpA* (->)-*tnpB* (->)-*tnpC* (->)-*spc* (-)-*ermA* ((- >)) oraz podobne do Tn554 transpozony *Tn554like*, Tn55x, Tn3853 (kodują 2 enzymy: metylazę rRNA, ErmA warunkującą oporność na MLS oraz nukleotydylotransferazę ANT(9) warunkującą oporność na spektynomycynę), transpozon (Tn554 (koduje oporność na sole kadmu) oraz Tn557 (koduje toksyny: TSST1 i enterotoksynę) i Hi555 (koduje toksynę TSST1) [3, 9, 10].

Opisano również transpozon Tn3854 (4,5 kbp) kodujący oporność na kanamycynę, neomycynę i streptomycynę ale brak jego bardziej szczegółowej charakterystyki. Istnieje również jedno doniesienie z 1989 roku dotyczące Tn4291 (7,5 kbp, *mecA*) ale brak charakterystyki tego elementu i dalszych potwierdzeń stawia pod znakiem zapytania możliwość transpozycji oporności na metycylinę.

PIŚMIENNICTWO

- Berger-Bachi B. Resistance not mediated by beta-lactamase (methicillin resistance). W: The Staphylococci in human disease pod redakcją K. B. Crossiey, G. L. Archer, Churchill Livington, New York, 1997: 158-174.
- Ferrero L, Cameron B, Crouzet J. Analysis of *gyrA* and *grlA* mutations in stepwise-selected ciprofloxacin-resistant mutants of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1995, 39: 1554-1558.
- Firth N, Skurray R.A. Mobile elements in the evolution and spread of multiple-drug resistance in staphylococci. Drug Res Updates 1998,1:49-58.
- Iandolo JJ, Bannantine J P, Stewart GC. Genetic and physical map of the chromosome of *Staphylococcus aureus*. W: The Staphylococci in human disease pod redakcją K. B. Crossiey, G. L. Archer, Churchill Livington, New York, 1997: 175-212.
- Wu S, De Lencastre H. Mrp a new auxiliary gene essential for optimal expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Microb Drug Res 1999, 5: 9-18.
- Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mec* DNA of pre-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* N315. Antimicrob Agents Chemother 1999, 43: 1449-1458.
- Jeljaszewicz J. Epidemiology, biochemistry and therapeutic possibilities for vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antibiot Chemother 1998, 2:5-6.
- Jeljaszewicz J, Młynarczyk G, Młynarczyk A. Aktualne zagrożenia dotyczące oporności na antybiotyki u bakterii. Blok Operacyjny 1998,3- 4: 49-55.
- Jeljaszewicz J, Młynarczyk G, Młynarczyk A. Present and future problems of resistance in Gram-positive cocci. Infection 1998, 26:1-6.
- Lindsay JA, Ruzin A, Ross HF, i in. The gene for toxic shock toxin is carried by a family of mobile pathogenicity island in *Staphylococcus aureus*. Mol Microbiol 1998, 29: 527-543.
- Młynarczyk A, Młynarczyk G, Jeljaszewicz J. The genome of *Staphylococcus aureus*: a review. Zbl Bakteriol 1998, 287: 277-314.
- Młynarczyk G, Młynarczyk A, Jeljaszewicz J. Lysogenic conversion as a factor influencing the vancomycin tolerance phenomenon in *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 1997, 39: 136-137.
- Młynarczyk G, Rosdahl VT, Skov R, Młynarczyk A. Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a Warsaw hospital. J Hosp Infect 1996, 34: 151-160.
- Pattee PA. Genetic and physical map of *Staphylococcus aureus* NCTC 8325. W: Genetics maps 6 th ed pod redakcją SJ O'Brien, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor N. Y. 1993:2.102-2.113.
- Paulsen IT, Firth N, Skurray R A. Resistance to antimicrobial agents other than beta-lactams. W: The Staphylococci in human disease pod redakcją KB Crossiey, GL Archer, Churchill Livington, New York, 1997: 175-212.
- Wu S, De Lencastre H. Mrp a new auxiliary gene essential for optimal expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Microb Drug Res 1999, 5: 9-18.

ZAKAŻENIA SZPITALNE

Alfred Samet

Zakład Bakteriologii SPSK 1 AM Gdańsk

Kierownik: A. Samet

Zakażenia szpitalne są przyczyną wielu zgonów oraz pochłaniają ogromne ilości pieniędzy, gdyż wiążą się one z przedłużonym leczeniem i rekonwalescencją, odszkodowaniami wypłacanymi w przypadku wystąpienia zakażeń szpitalnych. Dane oparte na prospektywnych badaniach Centers for Diseases Control sugerują, że bezpośrednia umieralność pacjentów z zakażeniami szpitalnymi wynosi 10%, a pośrednia 30% (4). Obecnie w Stanach Zjednoczonych szacuje się, że wydatki związane z występowaniem zakażeń tego rodzaju wynoszą od 3 do 5 miliardów rocznie. W Polsce brak jest wiarygodnych danych dotyczących zakażeń szpitalnych. Oficjalnie jest ich 3%, podczas gdy w Stanach Zjednoczonych 5%, w krajach EWG 10%. Według danych nieoficjalnych procent zakażeń szpitalnych w Polsce wynosi 20-30%. Niestety waga tego problemu w Polsce jest niedoceniana.

Do najczęstszych zakażeń szpitalnych należą infekcje przewodu moczowego 39%, infekcje płucno-oskrzelowe (22%), symptomy lokalne (14%), sepsis (13%) (8).

W erze przedantybiotykowej główne problemy w zakażeniach szpitalnych stwarzały ziarenkowce Gram-dodatnie: *S.pyogenes* i *S.aureus*. Kumulacja problemów związanych z gronkowcem złocistym nastąpiła w pandemiach w latach 1940 do 1950. W latach siedemdziesiątych do głosu doszły pałeczki Gram-ujemne, szczególnie *P.aeruginosa* oraz *Enterobacteriaceae*. W końcu lat 80-tych i na początku 90-tych do użycia weszło wiele skutecznych leków o aktywności przeciw pałeczkom Gram-ujemnym. W tym czasie nasilającym problemem stały się infekcje powodowane

przez metycylinooporne gronkowce złociste (MRSA) i wankomycynooporne enterokoki (VRE). W latach 90-tych trzy najpowszechniejsze ziarenkowce Gram-dodatnie (*S. aureus*, koagulazo-ujemne gronkowce i enterokoki) były odpowiedzialne za 34% infekcji szpitalnych. Do najczęstszych patogenów Gram-ujemnych należą: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. oraz *Klebsiella pneumoniae* (32% zakażeń szpitalnych).

Duży problem stanowią infekcje szpitalne wywołane przez szczepy wielooporne, których leczenie jest problematyczne ze względu na ograniczone możliwości terapeutyczne. Wśród ziarenkowców Gram-dodatnich główny problem stanowią metycylinooporne gronkowce złociste, których częstość występowania w polskich szpitalach jest wysoka. Niedawno pojawiły się szczepy z obniżonym poziomem wrażliwości na wankomycynę, co może stanowić zwiastun sytuacji, w której brak jest jakichkolwiek możliwości leczenia infekcji gronkowcowych. Taką sytuację mamy w przypadku enterokoków opornych na wankomycynę, które po raz pierwszy w Polsce wyizolował mój zespół w 1997 roku od pacjentów z oddziału hematologicznego (9). Wśród pałeczek Gram-ujemnych główny problem stanowią pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, wytwarzające szczepy o rozszerzonym spektrum substratowym oraz wielooporne szczepy *Pseudomonas aeruginosa*, a także *Acinetobacter baumannii*. ESBL pojawiły się po raz pierwszy w latach 80-tych w Europie Zachodniej (6). Pierwotnie wyizolowano je ze szczepów *Escherichia coli* oraz *Klebsiella pneumoniae*. Dziś obserwuje się je u większości gatunków pa-

łeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, a także u pałeczek niefermentujących. Badania eksperymentalne *in vivo* wykazały, że wobec szczepów wytwarzających β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym, żadna cefalosporyna oraz nie jest skuteczna w leczeniu. Dochodzi do tego skojarzona oporność na inne grupy antybiotyków: chinolony, aminoglikozydy, kotrimoksazol. W efekcie w leczeniu można zastosować tylko penicyliny z inhibitorami oraz karbapenemy. Innym ważnym mechanizmem oporności u pałeczek Gram-ujemnych jest konstytutywna produkcja cefalosporynazy ampC, która nadaje oporność na wszystkie antybiotyki β -laktamowe, za wyjątkiem karbapenemów, może także występować skojarzona oporność na chinolony, aminoglikozydy oraz kotrimoksazol. Co więcej pojawiają się szczepy odporne także na karbapenemy, co oznacza brak opcji terapeutycznych w leczeniu infekcji szpitalnych. W takich sytuacjach zaleca się oznaczanie minimalnych wartości hamujących wzrost bakterii i stosowanie skojarzeń antybiotyku β -laktamowego z aminoglikozydowym, których wartości MIC są najmniejsze.

Antybiotyki pozostające do leczenia infekcji wieloopornymi szczepami są drogie, a ich występowanie jest dość częste w polskich szpitalach.

Zakażeń szpitalnych nie da się całkowicie wyeliminować. Niezbędne jest jednak dążenie do maksymalnego ich ograniczenia. Można ich uniknąć w 80%. Brak stałego szkolenia oraz brak świadomości i indywidualnego udziału w zapobieganiu zakażeniom szpitalnym są pierwotnymi przyczynami zakażeń szpitalnych. Środki przeznaczone na szeroko pojętą higienę szpitalną ulegają redukcji, ponieważ priorytet mają wydatki na leczenie, w tym często zakażeń szpitalnych, którym nie umiano zapobiec. Okazuje się, że straty wynikające z jednostkowego zakażenia szpitalnego, wymagającego długotrwałego i drogiego leczenia, mogą równoważyć cenę średniej jakości urządzenia sterylizującego. Tak więc analiza koszt-korzyści może przekonać o celowości wydatków na higienę szpitalną. Jed-

nakże najlepsze sprzęt i środki higieny szpitalnej nie przyniosą oczekiwanych wyników, jeżeli proponowane metody nie znajdą zrozumienia i nie zostaną wprowadzone w praktykę. Zmiana nastawienia do problemów związanych z zakażeniami szpitalnymi powinna dotyczyć pracowników zatrudnionych na wszystkich szczeblach struktury organizacyjnej służby zdrowia. Jest to niezbędny warunek skuteczności wprowadzania odpowiednich programów zapobiegawczych.

Walka z zakażeniami szpitalnymi wymaga zintegrowania wielu działań takich jak właściwa dezynfekcja i sterylizacja sprzętu medycznego, możliwości izolacji pacjentów, wprowadzanie programów kontroli infekcji szpitalnych, istnienie zespołów kontroli polityki antybiotykowej, istnienie wiarygodnych danych epidemiologicznych, a także tak prozaicznej i niedocenianej czynności jak mycie rąk. Szerzenie się zakażeń szpitalnych przypisuje się przede wszystkim właśnie nie myciu rąk lub nieprawidłowemu ich myciu.

Adekwatne mycie rąk jest uznawane przez CDC jako najważniejszy pojedynczy warunek zapobiegania zakażeniom szpitalnym. Niestety obowiązek mycia jest przez personel szpitalny słabo przestrzegany. W brytyjskim badaniu stwierdzono, terapeuci fizyczni z najlepszymi nawykami mycia rąk myją ręce przed i po kontakcie z pacjentem w 56 i 75% przypadków, odpowiednio (1). Badania personelu pielęgniującego chorych wypadło podobnie. Stwierdzono także, że lekarze najczęściej z personelu medycznego zaniedbują mycie rąk. Wysiłki by poprawić przestrzeganie tej czynności przez pracowników służby zdrowia przyniosły w najlepszym razie ograniczony i przejściowy sukces (2,3).

Ważną rolę w ograniczaniu zakażeń szpitalnych odgrywa diagnostyka mikrobiologiczna. Celem mikrobiologii klinicznej jest jak najszybsza izolacja czynnika etiologicznego infekcji, określenie jego oporności a także dalsza weryfikacja w stosunku do stanu klinicznego pacjenta. Laboratorium mikrobiologiczne dostarcza także danych o występowaniu epidemiologicznych.

Znajomość najczęściej występujących mikroorganizmów na danym oddziale, ich wrażliwość na antybiotyki i chemioterapeutyki jest niezwykle cenną wskazówką leczniczą, gdyż umożliwia zastosowanie z dużym prawdopodobieństwem skutecznego i jednocześnie możliwego taniego antybiotyku już w momencie postawienia diagnozy zakażenia szpitalnego bez konieczności oczekiwania na wyniki badania mikrobiologicznego. Dla uzyskania wiarygodnych danych epidemiologicznych ważne jest wykonanie odpowiedniej ilości badań. Według norm WHO w skali roku na 1 łóżko szpitalne powinno przypadać 100 badań bakteriologicznych. W Polsce uzyskuje się 5-40% normy. Taka sytuacja prowadzi do braku wiarygodnych danych epidemiologicznych oraz przypadkowego podawania leków, co jest zaprzeczeniem racjonalnej terapii. W badaniu przeprowadzonym na oddziałach Intensywnej Terapii, w którym uczestniczyło 2000 pacjentów stwierdzono, że najważniejszym czynnikiem decydującym o śmiertelności uznano nieadekwatną antybiotykoterapię. Śmiertelność szpitalna związana z infekcją wynosiła 42% u zakażonych pacjentów otrzymujących nieodpowiednią antybiotykoterapię, podczas gdy tylko 17,7% u prawidłowo leczonych (7).

Ważnym elementem ograniczania zakażeń szpitalnych jest prowadzenie programów ich kontroli. Najlepszym przykładem jest program SENIC (Study on the Efficacy of Nosocomial Infection Control), który po dziesięciu latach swego istnienia spowodował zmniejszenie zakażeń szpitalnych o średnio 30% i pozwolił zaoszczędzić w ciągu roku 1 mld dolarów.

Ważne w zapobieganiu ograniczenia infekcji szpitalnych szczepami wieloopornymi jest prowadzenie właściwej polityki antybiotykowej. Wiąże się ona z ograniczeniem nieodpowiedniego stosowania antybiotyków związanego z brakiem wiarygodnych danych epidemiologicznych, brakiem właściwej selekcji antybiotyku w stosunku do miejsca infekcji, czynnika etiologicznego, ceny, toksyczności, drogi podawania. Polityka antybiotykowa powinna być nadzorowana przez

zespoły do spraw polityki antybiotykowej. Powinny one funkcjonować samodzielnie w każdym szpitalu lub w obrębie zespołu ds. zakażeń szpitalnych. Jednym z najważniejszych zadań tych zespołów jest wprowadzanie list leków dopuszczonych do stosowania w określonym środowisku przez upoważnionych lekarzy, w zależności od ściśle oszacowanych potrzeb.

PIŚMIENNICTWO

1. Conly JM, Hill S, Ross J, i in. Handwashin practices in intensive care unit: the effects of an educational program and its relationship to infection rates. *Am J Infect Control*. 1989; 17:330—338
2. Dubhert PM, Dolce J, i in. Incresing intensive care unit staff handwashing: effects of education and group feedback. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1990; 11: 191-193
3. Goldmann DJ, Larson E. Handwashing and nosocomial infections. *N Engl J Med*. 1992; 327: 120-122
4. Haley RW. Managing nosocomial infections control for cost-effectivness: a strategy for reducing infectious complications. American Hospital Publishing, Inc, 1986
5. Haley RW, Culver DH, White JW., i in., The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in U. S. hospitals. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 183-205
6. Knothe H, Shah P., Kremery V., Antal M., Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11:315-7
7. Kollef MH, Sherman G, i in. Inadequate Anti-microbial Treatment of Infections. *Chest* 1999; 115: 462-474
8. Maisonnet M. Wieloośrodkowe badania europejskie pod stałym nadzorem zakażeń szpitalnych. Dane z lat 1990, 1991, 1992
9. Samet A., Bronk M, Hellmann A, Kur J. Isolation and epidemiological study of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from patients of haematological unit in Poland. *J Hosp Infect* 1999; 41: 137-143

OCENA CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ZAKAŻEŃ SZPITALNYCH W POLSKICH SZPITALACH W 1998 ROKU NA PODSTAWIE WYNIKÓW PROGRAMU POLSKIEGO TOWARZYSTWA ZAKAŻEŃ SZPITALNYCH*

Occurrence of hospital infections in Polish hospitals in 1998 according to results of the first national nosocomial infection surveillance programme

Jadwiga Wójkowska-Mach, Małgorzata Bulanda, Piotr B. Heczko

Instytut Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Piotr B. Heczko

Janusz Jeljaszewicz

Państwowy Zakład Higieny w Warszawie

Paweł Adamski

Instytut Ochrony Przyrody Państwowej Akademii Nauk w Krakowie

Streszczenie. Wielokrotnie w Stanach Zjednoczonych oraz krajach Europy Zachodniej przeprowadzano badania mające na celu określenie częstości zakażeń szpitalnych. W Polsce program rejestracji zakażeń rozpoczęto w 1997 roku Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych. Rejestracja oparta została na definicjach i kryteriach CDC oraz karcie opracowanej przez grono ekspertów, wybrano metodę rejestracji biernej.

Niniejsza analiza oparta jest na informacjach zebranych w 1998 roku z 96 szpitali z całej Polski (różnej wielkości, stopnia specjalizacji, formy własności). Ogólna częstość zakażeń szpitalnych w zebranym materiale wynosiła 1,84% i wahała się w zakresie od 0,12% do 6,55% w różnych szpitalach (w dwóch nie odnotowano żadnego zakażenia). Największą częstość zakażeń odnotowano na oddziałach intensywnej opieki medycznej (19,72%), najniższą na oddziałach otolaryngologicznym i okulistycznym. Spośród 19 zdefiniowanych form zakażeń szpitalnych zarejestrowano najczęściej zachorowań na zakażenie dróg moczowych (20%) oraz zapalenie płuc (15%). Średnia długość pobytu w szpitalu pacjentów z zarejestrowanym zakażeniem szpitalnym wynosiła 29,6 dnia, bez zakażenia – 11,5 dnia.

Summary. On the basis of the already existing programmes implemented to hospitals located in the USA and some European countries a first Polish nosocomial infection surveillance programme has been constructed and proposed to managers of Polish hospitals in 1997. Over 250 hospitals joined the project which, due to a primary lack of professional hospital control personnel, was based on passive registration of the infection cases according to standard criteria of the CDC.

This report is based on the analysis of a data base containing cases of infections occurring among patients admitted in a 12-month period in 1998 to the 96 randomly selected Polish hospitals of different location, size and structure involved in the project. It appeared that general infection rate was 1,84% and varied from 0,12–6,55% depending on the size and type of the participating hospital. The highest rate of the infections (19,72) was recor-

ded in intensive care units while the lowest in ophthalmology and otolaryngology wards. Most common were urinary tract infections (20.00%) and pneumonia cases (15%). A mean hospital stay period of uninfected patients in 199Я was 11,5 days while in those with hospital infection - 29,6 days.

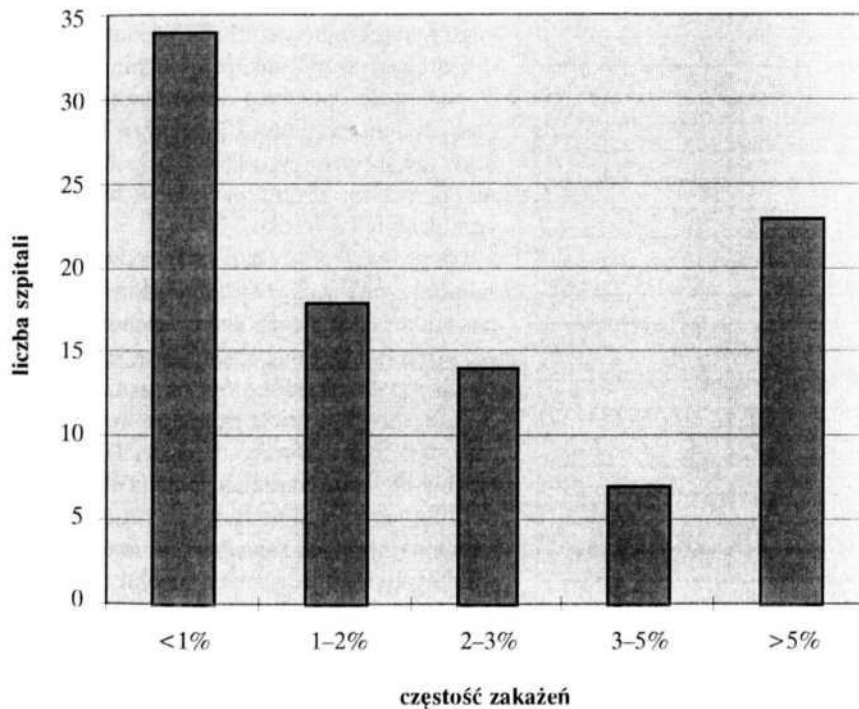
Wzrastająca częstość zakażeń szpitalnych jest przeszkodą w uzyskaniu sukcesu terapeutycznego, a tym samym powoduje obniżenie jakości usług medycznych. Zmienność form i przyczyn zakażeń szpitalnych uniemożliwia ich eliminację za pomocą ustalonych procedur, wymuszając konieczność stałego ich kontrolowania. Praca prezentuje wyniki analizy częstości zakażeń szpitalnych na podstawie danych zebranych przez Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych z 96 szpitali z całej Polski. Uzyskano je stosując ujednolicony sposób rejestracji zakażeń szpitalnych oraz wdrożenia nadzoru nad nimi.

Nadzór nad zakażeniami szpitalnymi, czyli długookresowa ocena częstości występowania poszczególnych form zakażeń i związanych z nimi czynników ryzyka uważany jest za podstawowy i najbardziej istotny element kontroli zakażeń [16]. Istnieje kilka metod nadzoru nad zakażeniami szpitalnymi; najbardziej czasochłonną i najmniej czułą, ale dającą pełen obraz epidemiologii zakażeń w szpitalu jest rejestracja metodą bierną [17]. Całościowe, to znaczy obejmujące wszystkie oddziały i wszystkie formy zakażeń, badania oceniające częstość zakażeń szpitalnych w wiciu szpitalach kilkakrotnie przeprowadzano w Stanach Zjednoczonych oraz niektórych krajach Europy zachodniej i pomimo wielu niedogodności związanych z rejestracją bierną polecana jest ona przez wielu autorów, szczególnie w krajach, w których brak jest wystarczającej liczby osób spełniających fachową kontrolę zakażeń [7; 15, 17]. Ten skuteczny system ciągłego nadzoru nad zakażeniami jest wciąż praktykowany w Stanach Zjednoczonych przy czym czynnym wykrywaniem zakażeń zajmuje się wykwalifikowany personel kontroli zakażeń w szpitalach [6]. Każda metoda kontroli zakażeń, a przede wszystkim ciągły nadzór wy

maga przyjęcia z góry ustalonych kryteriów rozpoznawczych. W początkach badań nad zakażeniami szpitalnymi, do każdego projektu oceniającego zakażenia opracowywano inne kryteria [5, 9, 17]. Od pewnego czasu przyjęto ponadnarodowy standard, którym są kryteria do rozpoznawania zakażeń szpitalnych opracowane przez Center for Disease Control and Prevention w Atlancie w USA [8]. Również w Polsce w 1997 roku rozpoczęto ogólnopolski program rejestracji zakażeń szpitalnych opracowany i wdrożony przez Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych. Kilkaset polskich szpitali zdecydowało się wprowadzić proponowaną organizację pracy i podstawowe narzędzia do rejestracji zakażeń, tj. kartę rejestracji, definicje zawierające kryteria ich rozpoznania [8] oraz program komputerowy do akwizycji i wstępnej analizy danych. Podstawowym celem programu było przygotowanie fachowej kadry zajmującej się problemem kontroli zakażeń, zarówno wśród personelu średniego, jak i leczącego, oraz ocena częstości zakażeń szpitalnych. Jest to pierwsze tak szerokie i kompletne badanie tego zjawiska w polskich szpitalach.

Zaproszenie do wzięcia udziału w programie przesłano do wszystkich polskich szpitali. Około 250 odpowiedziało na nie pozytywnie i podpisało z Towarzystwem umowę licencyjną, która udostępniała poszczególnym jednostkom wszystkie elementy systemu rejestracji zakażeń szpitalnych. Rejestrację oparto na metodzie biernej, umożliwiającej zaangażowanie do współpracy również szpitali nie dysponujących pełnym zapleczem kadrowym w zakresie kontroli zakażeń, to jest pełnoetatowymi pielęgniarkami epidemiologicznymi oraz lekarzem mikrobiologiem. Metoda ta angażuje cały personel medyczny pracujący na oddziałach i polega na wypełnianiu karty zakładanej dla każdego

pacjenta przez lekarza prowadzącego. Karta re- zdrowotnej), różnej wielkości, stopnia specjalizacji zawierała podstawowe dane demograficzne i formy własności, Szpitale te posiadały liczne dotyczące pacjenta oraz opisywała procent 37 327 czyli 14,5% wszystkich łóżek szpitalnych



Ryc. 1. Częstość występowania zakażeń w analizowanych szpitalach (N = 96)

dury diagnostyczne i lecznicze, którym podlegał hospitalizowany pacjent. Karta ta była kilkakrotnie modyfikowana i dostosowana do sygnalizowanych przez użytkowników potrzeb. Informacje z karty przenoszone były od systemu informatycznego, który z jednej strony umożliwiał ich wstępną analizę, a z drugiej przygotowywał je do przekazania celem wykonania analizy całościowej. Takie analizy były wykonywane corocznie. Prezentowane doniesienie obejmuje wyniki nadzoru otrzymane w 1998 roku.

Zebrane dane pochodziły z 96 szpitali z całej Polski, co stanowi 11,8% polskich szpitali (należących do cywilnej i resortowej opieki

w kraju. Pięć z uczestniczących w badaniach szpitali stanowiły szpitale kliniczne, 28 - szpitale wysokospecjalistyczne i 65 - pozostałe (miejskie, rejonowe, ZOZ-ów itp.).

Spośród szpitali, które nadesłały swoje dane, 94 odnotowały wystąpienie zakażeń szpitalnych ze średnią częstością 1,84% (0,12% - 6,55% - po wyeliminowaniu wartości skrajnych: 0 i 100%). Należy zwrócić uwagę, że aż 34 szpitale wykazały poniżej 1% zakażeń, z czego 2 nie rozpoznały żadnego zakażenia szpitalnego u hospitalizowanych u siebie chorych (Ryc. 1). Tabela I ilustruje ogólną częstość zakażeń szpitalnych na poszczególnych, wyspecjalizo-

Tab. 1. Częstość zakażeń szpitalnych na poszczególnych typach oddziałów

Oddział	częstość zakażeń
OIOM	19,72
nefrologiczny	6,11
neurologiczny	4,67
rehabilitacyjny	4,21
psychiatryczny	3,82
geriatryczny	3,10
urologiczny	2,95
hematologiczny	2,25
chirurgiczny	2,02
kardiologiczny	2,00
noworodków i wcześniaków	1,99
gruźlicy i chorób płuc	1,79
urazowo-ortopedyczny	1,63
skóro-wenerologiczny	1,59
intemistyczny	1,50
pediatryczny	1,49
położniczo-ginekologiczny	0,89
onkologiczny	0,89
pomocy doraźnej	0,74
otolaryngologiczny	0,40
okulistyczny	0,27

wanych oddziałach, z których najwyższą odnotowano na oddziałach intensywnej opieki medycznej (19,72%), zaś najniższe na oddziałach otolaryngologicznych (0,40%) i okulistycznych (0,27%). W tabeli nie podano danych dotyczących niektórych typów oddziałów jak np. oddziału oparzeniowego, ze względu na wyjątkowo niską liczbę zebranych danych.

Na rycinie 2 przedstawiono ogólną częstość poszczególnych form klinicznych zakażeń, najczęściej wystąpiło zakażeń układu moczowego (20%) oraz zapaleń płuc (15%).

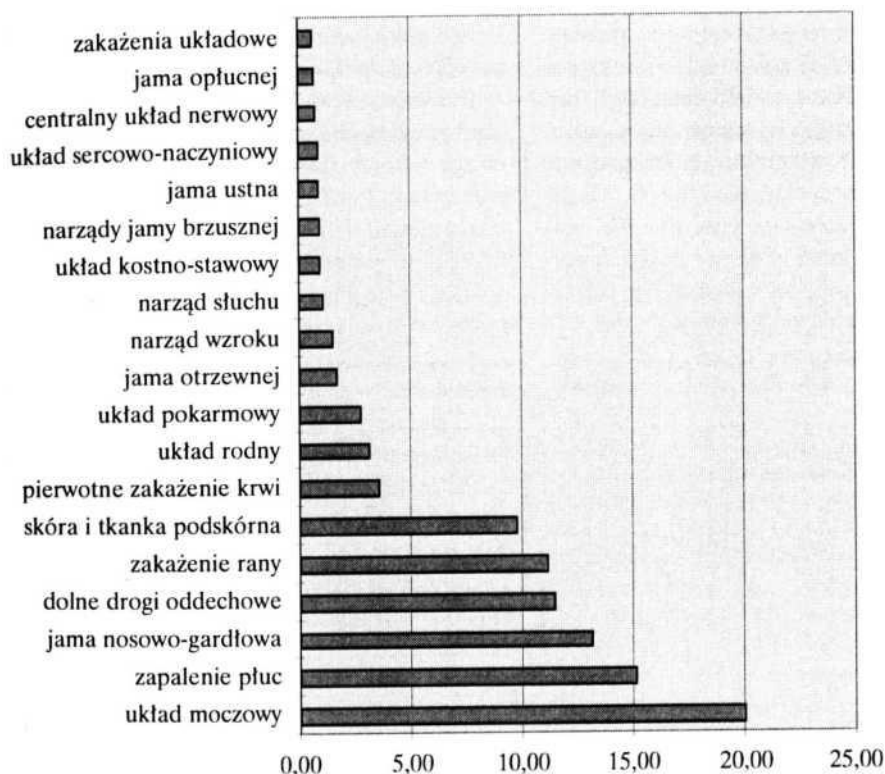
Średni czas leczenia pacjentów w szpitalu bez zakażenia wynosił w analizowanych szpitalach w 1998 roku 11,5 dnia, natomiast hospitalizowanych z zarejestrowanym zakażeniem szpitalnym aż 29,6 dnia. Analiza wieku osób, u których stwierdzono zakażenie szpitalne (Ryc. 3) wskazuje, iż u dzieci do ukończenia pierwszego roku życia zapadalność na zakażenia wynosiła

ponad 2%, u osób w wieku od 1 do 44 lat wynosiła niewiele ponad 1%, natomiast systematycznie wzrastała u osób starszych, aż do wartości 3,3% u osób powyżej 75 roku życia. Średni wiek pacjentów z zakażeniem i bez zakażenia szpitalnego wynosił odpowiednio 52 i 45 lat.

Zarejestrowane zakażenia szpitalne miały w większości przebieg lekki, bądź łagodny (Tab. 2), jednak ponad 2% zakażeń (tj. 140 zarejestrowanych przypadków) było bezpośrednią przyczyną zgonu pacjentów w polskich szpitalach w 1998 roku.

Na rycinie 4 porównano występowanie form zakażeń szpitalnych w dwóch podstawowych typach oddziałów; zabiegowych i zachowawczych, wskazuje ona na najczęstsze problemy epidemiologiczne tych oddziałów, tj. zakażenia układu oddechowego wraz z jamą nosowo-gardłową oraz układu moczowego na oddziałach nie zabiegowych oraz zakażenia rany, skóry i tkanki podskórnej, układu moczowego oraz zapalenia płuc na oddziałach zabiegowych. Podobną częstość występowania zakażeń na obu oddziałach odnotowano w stosunku tylko do jednego typu zakażenia; zakażenia szpitalnego układu pokarmowego (3,03% i 3,13% dla oddziałów odpowiednio zabiegowego i zachowawczego).

W wielu krajach przeprowadzono szczegółowe badania określające występowanie poszczególnych form zakażeń szpitalnych w odniesieniu do populacji hospitalizowanych pacjentów. Badania szwedzkie [1] przeprowadzone w 1978 roku wykazały, że ogólna częstość występowania zakażeń wynosi 10,5%. W Danii, gdzie w 1999 powtórzono narodowy program nadzoru nad zakażeniami, uzyskano niższy odsetek zakażeń (8%) [2], przy czym poprzednia analiza z 1979 roku wskazywała na chorobowość w wysokości 12,1% [13]. Emmerson i wsp. dokonali analizy danych zebranych ze 157 szpitali brytyjskich w 1994 roku, w wyniku której ocenili, iż ogólna częstość występowania zakażeń wynosiła 9% (w szpitalach klinicznych 11,2%, innych 8,4%) [4]. Duże badanie przeprowadzono w 1983 we Włoszech, objęło ono pacjentów ho-



Ryc. 2. Częstość poszczególnych typów zakażeń [%]

szpitalizowanych w 130 szpitalach. Podobnie jak w prezentowanym polskim badaniu wykorzystano w nim standartowe definicje i kryteria klasyfikacji zakażeń szpitalnych według CDC [8]. Ogólna częstość 6,8% była wyraźnie mniejsza niż uzyskiwana w innych badaniach europejskich. Autorzy wiązali ten niski wskaźnik z przyjmowaniem do włoskich szpitali wielu pacjentów obciążonych małym ryzykiem wystąpienia zakażenia, często w celach diagnostycznych. Inną przyczyną sugerowaną przez autorów była niechęć lekarzy oddziałowych do rozpoznawania zakażeń szpitalnych u leczonych na oddziałach pacjentów [14].

Uzyskane w polskim badaniu odsetki zakażeń są dużo niższe niż wskazywane przez powyższe cytowanych autorów. Powody tych rozbieżności

metoda rejestracji, która niesie ze sobą ryzyko 70% błędu, a ponadto oparcie badań na metodzie badania częstości przez wprowadzenie do analiz wskaźnika zachorowalności (liczba nowych przypadków zakażenia szpitalnego przypadających na jednostkę populacji narażonej na takie ryzyko, czyli hospitalizowanych), podobnie jak w poprzednich i bieżących badaniach amerykańskich (programy SENIC i NNIS). Natomiast inne, opisane powyżej programy badawcze oceniały nasilenie zjawiska: opierając się na współczynniku chorobowości (a więc liczbie osób chorych w badanym, zwykle krótkim okresie, bez podziału na nowe przypadki i kontynuację leczenia) [12]. Według Emmersona [5], różnica ta powoduje, iż odsetki zakażeń szpitalnych wynikłe z badań długookresowych

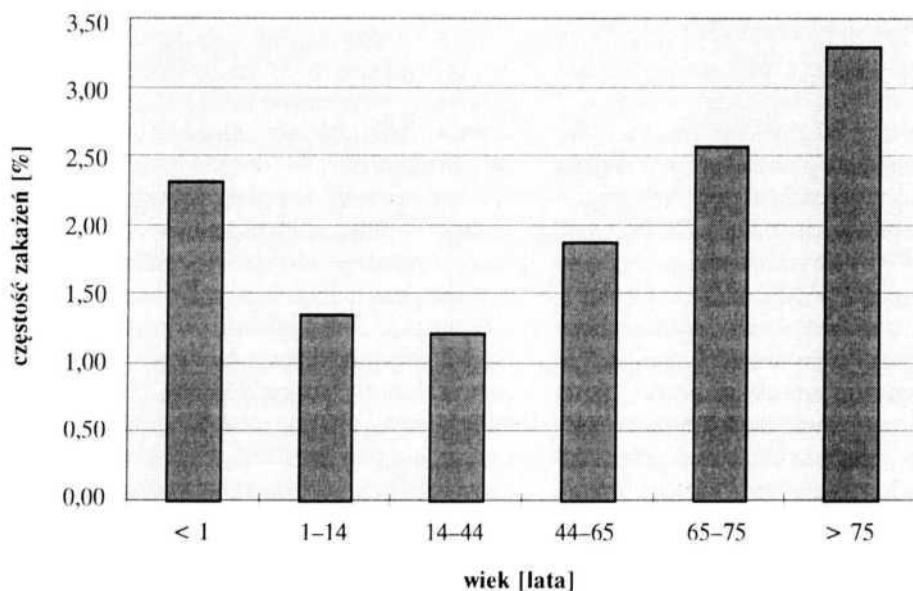
są często znacznie mniejsze - średnio o połowę. Badania zachorowalności są kosztowne i czasochłonne, ale dostarczają dokładniejszych danych do oceny częstości występowania zakażeń szpitalnych. Ponadto, zachorowalność lepiej odzwierciedla rozpowszechnienie chorób o krótkim przebiegu, natomiast chorobowość jest miarą rozpowszechnienia w populacji chorób przewlekłych. Do tej pory największym, retrospektywnym badaniem zachorowalności był projekt SENIC, przeprowadzony w 1974 roku w Stanach Zjednoczonych. Autorzy obliczyli,

Tab. II. Przebieg zakażeń szpitalnych

przebieg zakażenia	liczba przypadków	częstość
nie określono	204	3,26
lekki	2283	36,51
łagodny	2770	44,30
ciężki	856	13,69
zgon	140	2,24
SUMA	6253	100

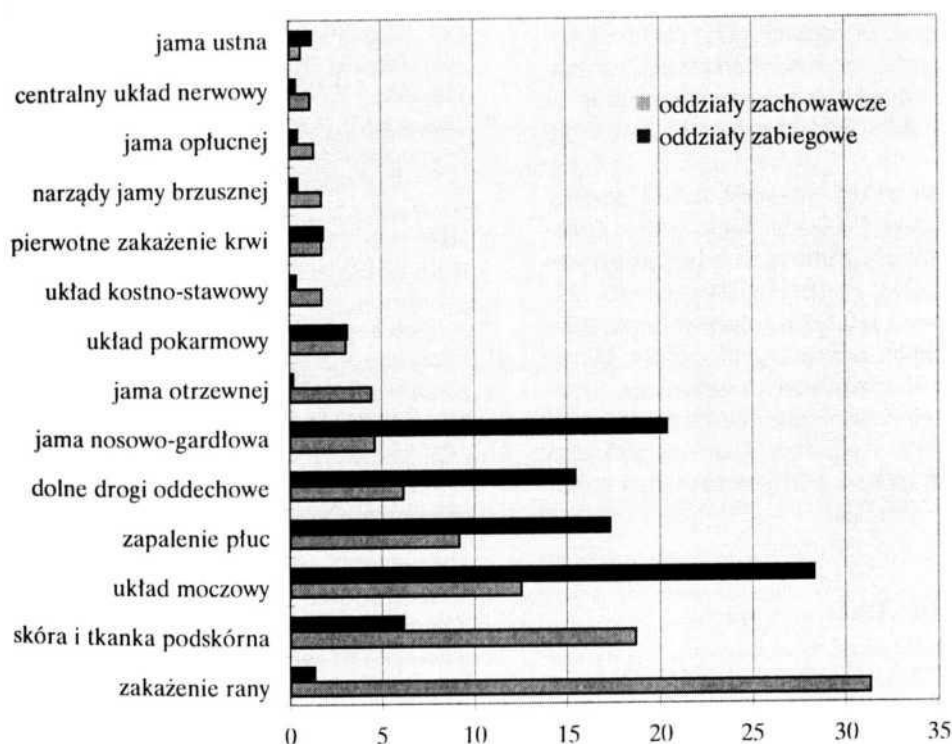
że ogólnokrajowy odsetek zakażeń w 65(X) szpitalach w latach 1975-1976 wyniósł 5,7 [10].

Innym problemem, decydującym o uzyskanej częstości zakażeń, na który szczególnie zwracają uwagę autorzy prowadzący podobne badania, jest czynnik ludzki, o którym Emmerson pisze jako o złotym standardzie. Jest to wszechstronny nadzór prowadzony przez doświadczony, wyszkolony personel zespołu kontroli zakażeń. Taki system stosuje się jako metodę referencyjną [3,5,11,]. Niestety w Polsce brak jest, jak na razie kilkuset wyszkolonych pielęgniarek epidemiologicznych (1 na 250 łóżek) oraz lekarzy mikrobiologów. Tym niemniej porównanie danych z 1998 z danymi z pierwszego roku funkcjonowania programu w 1997 roku (1,62%) już wskazuje, że sprawność wykrywania zakażeń rośnie zarówno w wyniku przyrostu liczby pielęgniarek epidemiologicznych, jak i sprawności zawodowej. Można zatem przyjąć, że uzyskana średnia częstość zakażeń szpitalnych w Polsce w 1998 roku jest zaniżona i że przez pewien czas będziemy obserwować wzrost wskaźników zachorowalności spowodowany powyżej



Ryc. 3. Częstość zakażeń szpitalnych w poszczególnych grupach wiekowych

mi. Stopniowe stabilizowanie się zespołów kontroli zakażeń w polskich szpitalach pozwoli na uzyskiwanie coraz bardziej miarodajnych danych. Pozwoli ono także na przejście do czynnego sposobu rejestracji zakażeń.



Ryc. 4. Częstość wybranych typów zakażeń na oddziałach zabiegowych i zachowawczych [%]

Dane uzyskane w 1998 roku wskazują, iż tylko 42,5% zakażeń szpitalnych zostało potwierdzone mikrobiologicznie, jest to odsetek niższy niż uzyskany w analizie roku ubiegłego, gdzie odsetek ten wynosił 45,4% [18]. Dokonana analiza wskazuje, że jednym z głównych problemów kontroli zakażeń w polskich szpitalach jest diagnostyka mikrobiologiczna, skoro spośród zarejestrowanych zakażeń ponad połowa nie została potwierdzona za pomocą badań mikrobiologicznych. W celu poprawy sprawności działania

przesunięciu laboratoriów mikrobiologicznych z pionów laboratoryjnych do zespołów kontroli zakażeń, tak jest to od dawna wprowadzone w szpitalach amerykańskich i brytyjskich.

Ponadto konieczne są systemowe, zintegrowane działania, które nie tylko rozwiążą problem właściwego kształcenia przed- i podyplomowego personelu medycznego związanego z kontrolą zakażeń, ale również zmiana w podejściu osób zarządzających i kontrolujących placówki medyczne do problemu kontroli zakażeń szpitalnych. Należy

żyć zapewnić odpowiedni udział środków w budżecie szpitala na kontrolę zakażeń, zdjęć z personelu medycznego wykrywającego zakażenia piętna winnych i godnych poniesienia kary, co wynika z nieobowiązującego już, ale wciąż funkcjonującego w szpitalach rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z 1983 roku. Właściwe byłoby również wyznaczenie przez płatnika minimalnych bądź optymalnych standardów, koniecznych dla zawarcia ze szpitalem kontraktu na świadczenie usług medycznych.

Niniejsza praca powstała dzięki pomocy wielu członków Polskiego Towarzystwa Zakażeń Szpitalnych. Autorzy składają podziękowania zespołom ekspertów Towarzystwa, którzy opracowali założenia i elementy programu oraz wszystkim pracownikom szpitali, którzy uczestniczyli w opisywanych badaniach.

Pragniemy także podkreślić szczególną rolę pracowników Zespołów Kontroli Zakażeń Szpitalnych szpitali, którzy uczestniczyli w opisywanych badaniach.

PIŚMIENNICTWO

- Bernarder S., Hambræus A., Myrback K.-E., Nystrom B., Sundelof B.: *Prevalence of hospital associated infections in five Swedish hospitals in November 1975*. Scandinavian J. Infect. Dis. 1978; 10:66-70.
- Christensen M.: *National prevalence survey on hospital infections in Denmark* - Przedstawiono na: IFIC - Controlling Infection in Healthcare, George, South Africa, Sep. 10-13, 1999.
- Damani N.N. *Praktyczne metody kontroli zakażeń* Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych, Kraków, 1999.
- Emmerson A.M., Enstonc J.E., Griffin M., Kelsey M.C., Smyth E.T.M.: *The second national prevalence survey of infection in hospital - overview of the results*. J Hosp. Infect. 1995, 32: 175-190.
- Emmerson A.M.: *The impact of surveys on hospital infection* Journal of Hospital Infection, 1995; 30 (suppl.), 421-MO.
- Emori T.G., Culver D.H., Horan TC. et. al. *National nosocomial infections surveillance system (NNIS: description of surveillance methods)* Am. J. Infect Control 1991; 19: 19-35.
- Freeman J., McGowan J.E.Jr. *Methodologic issues in hospital epidemiologii. Rates, Case-finding and interpretation* Rev. Infect. Dis. 1981; 3: 658-667.
- Garner J.S., Jarvis W.R. Emori T.G., Horan T.C., Hughes J.M.: *CDC definitions for nosocomial infections*. Am. J. Infect. Control 1988; 16: 128-140.
- Gastmeier P., hentschel J. De Veer I. i in. *Device-associated nosocomial infection surveillance in neonatal intensive care using specified criteria for neonates* J. Hosp. Infect. 1998; 38: 51-60.
- Haley R.W., Culver D.H., White J.W i in. *The efficacy of infection surveillance and control programmes on preventing nosocomial infection in US hospitals* Am. J. Epidemiol. 1985; 121: 182-205.
- International Federation of Infection Control *Kontrola zakażeń szpitalnych* Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych, Kraków, 1996.
- Jabłoński L.: *Epidemiologia* Wydawnictwo Folium, Lublin 1996.
- Jepsen O.B., Mortensen N.: *Prevalence of nosocomial and infection control in Denmark*. J. Hosp. Infect. 1980; 1: 237-244.
- Moro M.L. Stazi M.A. Merasea G. Greco D., Zampieri A.: *National prevalence survey of hospital acquired infections in Italy 1983*. J. Hosp. Infect. 1986; 8:72-85.
- Wenzel R.P., Osterman C.A., Hunting K.J., Gwaltnej J.M. *Hospital acquired infections: I. Surveillance in a university hospital* Am. J. Epidemiol. 1976; 103 (3): 251-260.
- Wenzel R.P., Pfaller M.A. *Infection Control: The premier quality assessment program in United States hospital* Am. J. Med. 1991; 91(suppl. 3B): 27-31.
- Wenzel R.P.: *Surveillance, reporting and compiu- ters I. Prevention and control of nosocomial infections*. Wiliams & Wilkins, Baltimore, 1993.
- Wójkowska-Mach J., Bulanda M. Heczko P.B. i in. *Wstępna analiza danych uzyskanych w ramach programu kontroli zakażeń* Terapia 1998,3:3-6.

* Praca częściowo wykonana w ramach projektu badawczego zamawianego z 198/PO/98/13.

ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ BAKTERII IZOLOWANYCH W ZACHODNIM I PÓŁNOCNYM REGIONIE POLSKI

Antibiotic resistance of bacteria in north-west region of Poland

Stefania Giedrys-Kalemba

Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. med. S. Giedrys-Kalemba

Streszczenie. Analizie poddano wrażliwość klinicznie istotnych patogenów: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter sp.* izolowanych w 1998 r w laboratoriach mikrobiologicznych północno-zachodniego regionu Polski. Wrażliwość na antybiotyki określano metoda dyfuzyjno-krążkową według standardów NCCLS. Stwierdzono wyraźne zróżnicowanie oporności, szczególnie w zakresie pałeczek Gram-ujemnych i MRSA izolowanych w poszczególnych ośrodkach oraz lokalne występowanie *Streptococcus pneumoniae* o obniżonej wrażliwości na penicylinę i enterokoków o obniżonej wrażliwości na glikopeptydy. Ponad 90% *Haemophilus influenzae* wykazywało wrażliwość na ampicylinę. Badania podkreślają znaczenie własnych wyników oporności w ustalaniu lokalnych zasad antybiotykoterapii.

Summary. Antibiotic susceptibility of clinically important pathogens: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter spp.* isolated in microbiological laboratories of the north-west region of Poland was analysed. Antibiotic susceptibility was determined by the disc diffusion test according to NCCLS standards. It was found that the frequency of antimicrobial resistance is different in centres, especially among Gram-negative rods and MRSA strains. Penicillin-non-susceptible *Streptococcus pneumoniae* and glycopeptides-non-susceptible enterococci were isolated locally. The study emphasizes the importance of locally obtained patterns of resistance to make own antibiotic recommendations.

Poddano analizie lekooporność istotnych klinicznie patogenów izolowanych w 1998 r. w wybranych laboratoriach północno-zachodniego regionu Polski. Stwierdzono wyraźne zróżnicowanie wrażliwości bakterii, szczególnie w zakresie jelitowych i niefermentujących pałeczek Gram-ujemnych izolowanych w poszczególnych ośrodkach, lokalne występowanie szczepów *Streptococcus pneumoniae* o obniżonej wrażliwości na penicylinę oraz Entero-

coccus faecalis i *Enterococcus faecium* o zmniejszonej wrażliwości na glikopeptydy.

WSTĘP

Gwałtowne pojawienie się w ostatnich latach coraz bardziej wyrafinowanych nowych mechanizmów oporności drobnoustrojów na antybiotyki i chemioterapeutyki wśród

klasycznych patogenów odpowiedzialnych za zakażenia szpitalne i pozaszpitalne oraz wzrost zakażeń opornymi drobnoustrojami oportunistycznymi spowodowały, że w 1997 r. problem oporności został zaliczony przez Światową Organizację Zdrowia do największych zagrożeń w dziedzinie zdrowia publicznego.

Selekcja i rozprzestrzenianie się wieloopornych szczepów szczególnie łatwo zachodzi w środowisku szpitalnym, zwłaszcza w przypadkach nieprzestrzegania zasad racjonalnej profilaktyki i terapii zakażeń (2,4,9,11).

Jednym z elementów ograniczenia narastania lekooporności drobnoustrojów jest opracowanie międzynarodowych programów monitorowania zakażeń oraz stała analiza sytuacji epidemiologicznej w zakresie oporności drobnoustrojów w skali świata, kraju, regionu, szpitala a nawet oddziału. Uzyskane dane mikrobiologiczne i epidemiologiczne są podstawą wprowadzania standardów i rekomendacji postępowania terapeutycznego w zakażeniach jak również odpowiednich procedur w diagnostyce mikrobiologicznej.

Celem pracy była analiza lekooporności istotnych klinicznie wybranych patogenów izolowanych w pracowniach mikrobiologicznych północno-zachodniego regionu Polski.

MATERIAŁ I METODY

Przeanalizowano wyniki badań mikrobiologicznych wykonanych w okresie I—XII 1998 r. w pracowniach mikrobiologicznych następujących jednostek: PSK Nr 1 Gdańsk

- 1400 łóżek (kierownik pracowni: dr med. Alfred Samet), Szpital Wojewódzki Koszalin - 700 łóżek (mgr Bożena Ruszel), ZOZ Kołobrzeg - 500 łóżek (mgr Jolanta Prada-Zołotar), ZOZ Gryfice - 550 łóżek (mgr Danuta Aniko), ZOZ Stargard Szcz. - 416

łóżek (lek. wet. Joanna Jezierska), Wojewódzki Szpital Zespolony Szczecin - 1000 łóżek (mgr Barbara Lisowska), PSK Nr 1 Szczecin - 591 łóżek (dr n. przyr. Ewa Stelmaska-Dworak), PSK Nr 2 Szczecin

- 600 łóżek (prof, dr hab. Stefania Giedrys-Kalemba). Materiał do badań stanowiły: krew, moczu, płyn mózgowo-rdzeniowy, wydzieliny ropne, wydzieliny i wymazy z dróg oddechowych oraz inne pochodzące od pacjentów szpitalnych i ambulatoryjnych. Drobnoustroje izolowano i identyfikowano według ogólnie przyjętych metod postępowania diagnostycznego. Wrażliwość na antybiotyki określano głównie metodą dyfuzyjno-krażkową według standardów NCCLS opracowywanych od kilku lat przez Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (6), zaś większość laboratoriów należała do uznanych za wiarygodne (I/II kategoria) w kolejnych sprawdzianach POLMICRO (7). Szczegółowej analizie poddano wrażliwość na antybiotyki istotnych klinicznie patogenów jak: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter sp.* Porównywano uzyskane w poszczególnych pracowniach odsetki szczepów uznane wg zalecanych rekomendacji jako „wrażliwe”, zakładając, że odsetki szczepów o obniżonej oporności, zaliczane do „średnio wrażliwych” lub „opornych” mogą być obarczone większym błędem wymagającym często weryfikacji dokładniejszymi metodami.

WYNIKI

W tabeli I przedstawiono wrażliwość *Streptococcus pyogenes* na penicylinę, erytromycynę oraz klindamycynę. Szczepy izolo-

Tab. 1. Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Streptococcus pyogenes* Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pyogenes* strains

Ośrodek	Liczba szczepów		Odsetek szczepów wrażliwych					
			Penicylina		Erytromycyna		Klindamycyna	
	szp	amb	szp	amb	szp	amb	szp	amb
Koszalin	30		100		93		83	
Kołobrzeg	17	162	100	100	100	100	100	100
Gryfice	20	77	100	100	84	94	100	98
Sz-n PKS-1	9		100		100			
Sz-n PKS-2	40	69	100		94	93	100	99
Sz-n WSZ	17		100		100			

szp - szczepy szpitalne amb -
szczepy ambulatoryjne

wano głównie z materiałów pochodzących z dróg oddechowych pacjentów szpitalnych i ambulatoryjnych. Wszystkie izolaty wykazywały wrażliwość na penicylinę a w niektórych ośrodkach (Kołobrzeg, Szczecin) również na erytromycynę i klindamycynę. Szczepy o obniżonej wrażliwości na makrolidy (6–16%) stwierdzono w PSK-2 w Szczecinie, Koszalinie i Gryficach.

Wrażliwość *Streptococcus pneumoniae* na chemioterapeutyki zamieszczono w tabeli II. Stwierdzono zróżnicowaną lokalnie wrażliwość na penicylinę. Wszystkie szczepy izolowane w Kołobrzegu oraz PSK-2 i WSZ w Szczecinie wykazywały wrażliwość na penicylinę (*penicillin susceptible pneumococci* – PSP). Szczepy o obniżonej oporności na penicylinę (*penicillin non-susceptible pneumococci* – PNSP) izolowano głównie od pacjentów szpitalnych w Gryficach (3%), PSK-1 w Szczecinie (12%), Stargardzie (27%)

i Koszalinie (58%) najczęściej z oddziałów pediatrycznych. Wszystkie izolaty były wrażliwe na cefalosporyny III generacji grupy cefotaksym/ceftriakson, jednak zarówno PSP jak i PNSP wykazywały obniżoną wrażliwość na erytromycynę (5-20%). Obserwowano znaczne środowiskowe różnice we wrażliwości na tetracykliny (59-98% szczepów wrażliwych) i kotrimoksazol (43-91%). Większość szczepów pneumokoków nie wykazujących wrażliwości na inne leki niż beta-laktamy pochodziła z ośrodków, gdzie izolowano szczepy PNSP co wskazuje na wielooporność tych szczepów.

Tabela III przedstawia wyniki dotyczące *Staphylococcus aureus*. Izolaty obejmowały szczepy pochodzące z przypadków zakażeń jak również od osób skolonizowanych. Stwierdzono dość zróżnicowany odsetek szczepów wrażliwych na penicylinę (*penicillin susceptible S. aureus* - PSSA): 7-31%

Tab. II. Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Streptococcus pneumoniae* Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains

Ośrodek	Liczba szczepów		Odsetek szczepów wrażliwych									
			Penicylina		Cefotaksym		Tetracyklina		Erytromycyna		Kotrimoksazol	
	szp	amb	szp	amb	szp	amb	szp	amb	szp	amb	szp	amb
Koszalin	37		42		100		59		86		43	
Kołobrzeg	22	91	100	100			95	96	95	96	91	91
Gryfice	64	95	97	96	100	100			93	93	70	54
Stargard	50		73						92			
Sz-n PSK-1	40		88		100		80		80		48	
Sz-n PSK-2	35	16	100	100					93	95		
Sz-n WSZ	94		100		100		98		81		86	

w poszczególnych ośrodkach oraz szczepów opornych na metycylinę (*methicillin resistance S. aureus* - MRSA): 3-42%. Szczepy MRSA w niewielkim odsetku były izolowane także od pacjentów ambulatoryjnych (mi. 4% w Kołobrzegu). Wrażliwość szczepów MRSA na inne grupy leków wykazuje bardzo duże indywidualne zróżnicowanie w analizowanych ośrodkach: erytromycyna (16-50% szczepów wrażliwych), cyprofloksacyna (17-80%), gentamycyna (16-90%) kotrimoksazol (38-100%). Wszystkie izolaty MRSA były wrażliwe na wankomycynę.

Wrażliwość *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* izolowanych głównie z krwi, moczu, ropy przedstawiono w tabeli

IV. Większość izolowanych *Enterococcus faecalis* wykazywała wrażliwość na ampicylinę (85-98%), stanowiącą lek z wyboru. Z kolei szczepy *Enterococcus faecium* cechowała znaczna aczkolwiek zróżnicowana oporność na ampicylinę (63-98%). W większości ośrodków enterokoki wykazywały wrażli

wość na wankomycynę i teikoplaninę. Szczepy *Enterococcus faecalis* o obniżonej oporności na glikopeptydy stwierdzono w PSK-2 w Szczecinie (3% na wankomycynę, 5% na teikoplaninę) oraz w Koszalinie (7% na wankomycynę) a *Enterococcus faecium* w Koszalinie i Gdańsku (12% i 18% na wankomycynę). Wrażliwość enterokoków na inne leki była wyraźnie zróżnicowana w poszczególnych ośrodkach (tetracyklina: 28-76%, cyprofloksacyna: 19-62%, wysokie stężenia gentamycyny (120 ug): 0-83%, nitrofurantoina: 28-100%).

W tabeli V przedstawiono wrażliwość *Haemophilus influenzae* izolowanych głównie z zakażeń dróg oddechowych. Wszystkie szczepy izolowane od pacjentów szpitalnych oraz ambulatoryjnych wykazywały wysoką wrażliwość na ampicylinę (92-97%) oraz cefuroksym (94-100%), a w Kołobrzegu również na doksyklicynę (94-96%). Wrażliwość na kotrimoksazol wahała się w granicach 62-87%.

Tab. III ■ Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Staphylococcus aureus* Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains

Ośrodek	Liczba szczepów	PSSA	MRSA	Odsetek szczepów MRSA wrażliwych			
				Erytro- mycyna	Cyproflo- sacyna	Genta- mycyna	Kotrimo- ksazol
Gdańsk	1614		42%				99
Koszalin	577	31%	29%	21	80	90	83
Kołobrzeg	184/635	25 / 11%	11 / 4%	20	59	53	85
Gryfice	253		11%				
Stargard	159		3%				
Sz-n PSK-1	96	7%	8%	50	17	25	100
Sz-n PSK-2	315	19%	20%	16	28	16	75
Sz-n WSZ	387	6%	8%	31	73	28	38

W kolejnych tabelach przedstawiono wrażliwość jelitowych pałeczek Gram-ujemnych: *Escherichia coli* (tab. VI) oraz *Klebsiella pneumoniae* (tab. VII) izolowanych głównie z zakażeń dróg moczowych, ropy, ran pooperacyjnych, krwi. Wrażliwość na ampicylinę wynosiła 35-52% dla *Escherichia coli*, natomiast tylko 0-16% dla *Klebsiella pneumoniae*. Wyższą wrażliwość szczepy wykazywały na amoksycylinę/kwas klawulanowy - odpowiednio 59-84% i 50-92%. Szczepy *Escherichia coli* były wrażliwe w 61-81% na cefalosporyny I generacji, w 83-100% II generacji i w 87-100% III generacji, zaś *Klebsiella pneumoniae* odpowiednio: 39-79%, 36-96% i 71-93%. Stwierdzono pojawienie ^{S1?} szczepów opornych na imipenem: w WSZ w Szczecinie (1%) i Koszalinie (8%), Większość szczepów wykazywała wrażliwość na gentamycynę i amikacynę (78-100%), jedynie w PSK-2 w Szczecinie odsetki wrażliwych izolatów *Klebsiella pneu*

moniae były poniżej 43%. Wrażliwość na chinolony I, II i III generacji wahała się w granicach 50-100%. Najwyższe odsetki szczepów wrażliwych na chinolony izolowano w Gryficach i Stargardzie: 100% na chinolony II i III generacji, 83% na chinolony I generacji. Większość szczepów wykazywała wrażliwość na kotrimoksazol i nitrofurantoinę (67-97%). Niższe odsetki wrażliwych powyższe leki *Klebsiella pneumoniae* (48-57%) stwierdzono w Koszalinie oraz w PSK-1 i PSK-2 w Szczecinie.

Wrażliwość szczepów *Citrobacter sp.* oraz *Enterobacter sp.* przedstawiono w tabeli VIII. Szczepy te izolowane w poszczególnych ośrodkach, a także z różnych oddziałów (Chirurgia Ogólna oraz Pediatria PSK-1 Gdańsk) wykazują zróżnicowaną wrażliwość, praktycznie na wszystkie badane chemioterapeutyki. Większość szczepów była oporna na ampicylinę, amoksycylinę/kwas klawulanowy i cefalosporyny I generacji za wyjątkiem szczepów izolowanych w Gryficach

Tab. IV Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Enterococcus faecalis* oraz *Enterococcus faecium* Antibiotic susceptibility of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains

Ośrodek	Liczba szczepów	PSSA	MRSA	Odsetek szczepów MRSA wrażliwych			
				Erytro-mycyna	Cyprofloksacyna	Genta-mycyna	Kotrimo-ksazol
Gdańsk	1614		42%				99
Koszalin	577	31%	29%	21	80	90	83
Kołobrzeg	184/635	25 / 11%	11 / 4%	20	59	53	85
Gryfice	253		11%				
Stargard	159		3%				
Sz-n PSK-1	96	7%	8%	50	17	25	100
Sz-n PSK-2	315	19%	20%	16	28	16	75
Sz-n WSZ	387	6%	8%	31	73	28	38

A - szczepy *Enterococcus faecalis*

B - szczepy *Enterococcus faecium*

(31-62% wrażliwych na ampicylinę oraz amoksycylinę/kwas klawulanowy). Większość szczepów izolowanych w Gryficach była także wrażliwa na cefalosporyny II i III generacji: *Citrobacter* w 100%, *Enterobacter* w 63-87%, zaś w pozostałych ośrodkach 16-83%. Wszystkie izolowane szczepy *Citrobacter* oraz większość *Enterobacter*, niezależnie od ośrodka były wrażliwe na imipenem. Oporne na imipenem *Enterobacter* izolowano w PSK-1 w Szczecinie (2%) i Koszalinie (19%). Bardzo zróżnicowaną wrażliwość, nie wykazującą korelacji, stwierdzono na piperacylinę (0-72%), piperacylinę/tazobaktam (57-100%), ciprofloksacynę (33-100%) oraz amikacynę (34-100%).

W tabeli IX przedstawiono wrażliwość *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter sp.* izolowanych w poszczególnych ośrodkach oraz z różnych oddziałów, która podobnie

jak dla szczepów *Citrobacter* i *Acinetobacter* wykazuje bardzo duże zróżnicowanie. Porównując wrażliwość *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* na trzech oddziałach PSK-1 w Gdańsku: Chirurgia Ogólna, Oddział Intensywnej Terapii, Chirurgia Plastyczna, najniższe odsetki wrażliwych szczepów stwierdzono na Oddziale Chirurgii Plastycznej (piperacylina 6%, 4%, piperacylina/tazobaktam 28%, 19%, caftazydym 18%, 12%, amikacyna 36%, 18%, cyprofloksacyna 31%, 20%. Około 35% szczepów *Pseudomonas aeruginosa* oraz 1-2% *Enterobacter* izolowanych z tego oddziału było opornych na karbapenemy. Najwyższy jednak odsetek szczepów opornych na karbapenemy stwierdzono w Koszalinie (66%, 60%). Z kolei wszystkie szczepy *Pseudomonas aeruginosa* izolowane na Chirurgii Ogólnej w Gdańsku oraz w Stargardzie były wrażliwe na imipenem.

Tab. V Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Haemophilus influenzae* Antibiotic susceptibility of *Haemophilus influenzae* strains

Ośrodek	Liczba szczepów		Odsetek szczepów wrażliwych							
			Ampicylina		Cefuroksym		Kotrimoksazol		Doksycyklina	
	szp	amb	szp	amb	szp	amb	szp	amb	szp	amb
Koszalin	59		95		100		62			
Kołobrzeg	90	375	97	97	94	95	82	65	96	94
Gryfice	74	91	92	97	98	100	82	93		
Sz-n PSK-1	22		95		95		87			
Sz-n PSK-2	29	101	93	96	97	98	68	65		
Sz-n WSZ	68		94		98		66			

nem, a szczepy *Enterobacter* dodatkowo na Oddziale Intensywnej terapii w Gdańsku, w PSK-1 w Szczecinie i Gryficach. Natomiast na Oddziale Intensywnej Terapii w PSK-2 w Szczecinie stwierdzono szczepy o najniższej oporności na amikacynę (30%, 10%) oraz na cyprofloksacynę (26%, 16%). Niskie odsetki szczepów wrażliwych na cyprofloksacynę izolowano także w Stargardzie (33%, 13%).

DYSKUSJA

Pojawienie się w ostatnich latach nowej sytuacji epidemiologicznej związanej z gwałtownym narastaniem oporności wśród drobnoustrojów odpowiedzialnych za zakażenia szpitalne i pozaszpitalne spowodowało wzrost zainteresowania racjonalnym leczeniem zakażeń w oparciu o aktualną analizę mikrobiologiczno-epidemiologiczną. Daje ona możliwość poznania etiologii różnego typu zakażeń, wzorów oporności izolowa-

nych drobnoustrojów oraz pojawiających się gwałtownie nowych mechanizmów oporności. Prawidłowe oznaczenie wrażliwości drobnoustrojów na leki i kliniczna interpretacja wyniku jest jednym z najważniejszych elementów rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej, ponieważ uzyskane dane powinny stanowić bazę do opracowywania zasad antybiotykoterapii w szpitalu a także w podstawowej opiece zdrowotnej. W odróżnieniu od innych grup leków, skuteczność antybiotyków stale się zmienia się, zaś niekontrolowane ich stosowanie sprzyja lokalnej selekcji opornych mutantów lub klonalnemu rozprzestrzenianiu się wieloopornych szczepów nabywających oporność za pomocą plazmidów czy transpozonów koniugacyjnych (1, 2, 4, 8, 9, 12). Wyraźną zależność pomiędzy narastaniem oporności drobnoustrojów a zużyciem chemioterapeutyków na oddziale potwierdzają również wcześniejsze własne badania (11).

Zróznicowane wyniki wrażliwości na chemioterapeutyki istotnych z klinicznego

Tab. VI. Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Escherichia coli* Antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* strains

Ośrodek	Liczba szczepów	Odsetek szczepów wrażliwych					
		Ampicylina	Amoksycyлина/kw.klaw	Cefalosporyny I gen.	Cefalosporyny II gen.	Cefotaksym	Imipenem
Gryfice	225	52	96	63	100	100	100
Koszalin	444	35	59	76		91	100
Stargard	375	38	66	81	90	87	
SznPSK-1	162	33	78	76	83	88	100
SznPSK-2	412	47	74	61	85	96	
Sz-n WSZ	1176	48	84	65	91	90	99

c.d.	Odsetek szczepów wrażliwych						
	Gentamycyna	Amikacyna	Chinolony.I	Chinolony.II	Chinolony.III	Kotrimoksazol	Nitrofurantoina
Gryfice	99	100	86	97	98	74	87
Koszalin	85	89	72	83	89	67	
Stargard	92	93	82		47	78	89
Sz-nPSK-1	93	95	58	70	72	60	97
Sz-nPSK-2	94	97	58	83	78	78	84
Sz-n WSZ	94	95	77	72	76	81	90

punktu widzenia patogenów uzyskane w poszczególnych ośrodkach a nawet poszczególnych oddziałach tego samego szpitala potwierdzają silną presję selekcji opornych szczepów w warunkach intensywnego stosowania leków przeciwbakteryjnych. Ma to miejsce na ogół na oddziałach zabiegowych, noworodkowych, pediatrycznych czy intensywnej opieki, gdzie leczeni są chorzy zwykle z dodatkowymi czynnikami ryzyka. Szczególnie zróżnicowana okazała się wrażliwość pałeczek Gram-ujemnych, zarówno

z rodziny *Enterobacteriaceae* jak i niefermentujących z grupy *Pseudomonas/Acintetobacter*. Występowanie ogromnego zróżnicowania wśród dotychczas poznanych mechanizmów oporności pałeczek Gram-ujemnych, zwłaszcza w stosunku do antybiotyków betalaktamowych, łatwość ich szerzenia się oraz przekazywania szczepom wrażliwym, a także niezwykle szeroki zakres specyficzności substratowej (np. betalaktamazy typu ESBL czy AmpC) stwarza nieograniczone wręcz możliwości lokalnego powsta-

Tab. VII. Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Klebsiella pneumoniae* Antibiotic susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* strains

Ośrodek	Liczba szczepów	Odsetek szczepów wrażliwych					
		Ampicylina	Amoksycyлина/kw.klaw	Cefalosporyny I gen.	Cefalosporyny II gen.	Cefotaksym	Imipenem
Koszalin	86	10	63	39		52	95
Gryfice	39	8	92	45	87	90	100
Stargard	31	0	79	75	96	81	
Sz-nPSK1	42	0	83	79	86	93	100
Sz-nPSK2	65	16	50	63	76	71	100
Sz-n WSZ	62	5	74	56	66	81	100

c.d.	Odsetek szczepów wrażliwych						
	Gentamycyna	Amikacyna	Chinolony I	Chinolony II	Chinolony III	Kotrimoksa-zol	Nitrofuranto-ina
Koszalin	78	80	67	67	74	70	48
Gryfice	100	100	83	100	100	80	80
Stargard	96	96	83	100	100	92	
Sz-nPSK1	93	93		80	81	83	57
Sz-nPSK2	43	27	50	88	78	78	53
Sz-n WSZ	84		58	68	74	71	69

wania fenotypów oporności., przysparzając tym samym mikrobiologom i klinicytom trudności w interpretacji wyników antybiogramów (5,8). Wyższe odsetki opornych szczepów izolowano na ogół w dużych szpitalach (Koszalin) lub szpitalach klinicznych (Gdańsk, Szczecin), nie mniej w mniejszych szpitalach obserwowano wysokie odsetki szczepów opornych na pojedyncze grupy, np. *Pseudomonas/Acinetobacter* na cyprofloksacynę w Stargardzie.

Interesującą obserwacją, pozostającą w sprzeczności z panującą powszechnie opinią lecz zgodną z krajowymi wynikami reali-

zacji Projektu Aleksander (12) jest niski odsetek w analizowanym regionie szpitalnych i pozaszpitalnych szczepów *Haemophilus influenzae* opornych na ampicylinę, który nie przekracza 7% i wskazuje na przydatność aminopenicylin w leczeniu nieinwazyjnych zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje.

Wszystkie izolowane szczepy *Streptococcus pyogenes* w dalszym ciągu wykazują wrażliwość na penicylinę a w niektórych ośrodkach również na erytromycynę. Stwierdzenie w Koszalinie, Gryficach i Szczecinie w kilku - kilkunastu procentach szczepów o zmniejsz-

Tab. VIII. Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Citrobacter sp.* i *Enterobacter sp.*
Antibiotic susceptibility of *Citrobacter spp.* and *Enterobacter spp.* strains

Ośrodek	Liczba szczepów		Odsetek szczepów wrażliwych									
			Ampicylina		Amoksylicyna/ kw.klaw.		Piperacylina		Piperacylina/ tazobactam		Cyprofloksacyna	
			Cit	Ent	Cit	Ent	Cit	Ent	Cit	Ent	Cit	Ent
Gdańsk Chir.Og.	28	42					43	27	58	60	68	41
Gdańsk Pediatria	21	114					48	69	95	82	100	94
Koszalin	19	38	0	0	17	5	46	44			53	97
Gryfice	17	19	58	31	62	45	72	63	100	100	100	100
Stargard	9	17	0	0	0	0	67	0			100	75
Sz-n PSK-1	2	58	0	2	0	3	50	18	100	57	100	33
Sz-n PSK-2	30	57	20	11	32	17	33	25	50	69	75	90

c.d.	Odsetek szczepów wrażliwych											
	Cefalosporyny I generacji		Cefalosporyny II generacji		Cefotaksym		Ceftazydym		Imipenem		Amikacyna	
	Cit	Ent	Cit	Ent	Cit	Ent	Cit	Ent	Cit	Ent	Cit	Ent
Gdańsk Chir.Og.							65	12	100	100	61	86
Gdańsk Pediatria							90	70	100	100	95	91
Koszalin	12	6					62	43	100	81	84	84
Gryfice	25	4	100	63	100	82	100	87	100	100	92	95
Stargard	0	0	40	35	50	60	33	83			100	85
Sz-n PSK-1	0	5	50	16	50	16	50	16	100	98	50	34
Sz-n PSK-2	27	16	46	27	44	55	37	57	100	100	35	61

Cit - *Citrobacter sp.*

Ent - *Enterobacter*

szanej wrażliwości na makrolidy (wynik wrażliwości na erytromycynę jest reprezentatywny dla pozostałych makrolidów) oraz klindamycynę może być związane z lokalnym zwiększonym zużyciem tych grup leków.

Wielokrotnie opisywany gwałtowny wzrost wieloopornych szczepów *Streptococcus pneumoniae* w licznych krajach Europy (1, 2), a w ostatnich latach także w Polsce (12) dotyczy również analizowanego regio

Tab. IX. Wrażliwość na antybiotyki szczepów *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* sp.
Antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. strains

Ośrodek	Liczba szczepów		Odsetek szczepów wrażliwych													
			Piperacy- -lina		Piperacy- -lina/taz.		Ceftazy- -dym		Imipenem		Meropenem		Amikacyna		Cyproflo- ksacyna	
	Ps	Ac	Ps	Ac	Ps	Ac	Ps	Ac	Ps	Ac	Ps	Ac	Ps	Ac	Ps	Ac
Gdańsk Chir.Og.	97	36	39	34	77	40	62	45	100	100	100	100	74	56	76	64
Gdańsk OIT	316	91	33	1	52	22	42	22	86	100	86	100	69	21	58	15
Gdańsk Chir.Pl.	246	210	6	4	28	19	18	12	64	99	66	98	36	18	31	20
Sz-nPSK-1	50	18	56	17	63	31	82	33	94	100	92	100	70	39	74	81
Sz-n PSK2	144	133	33	17	74	47	76	15	85	100			51	14	45	21
Sz-n PSK2 OIT	50	64	18	17	74	45	63	8	61	98			30	10	26	16
Koszalin	122	7	67	40			58	29	34	40			67	71	68	29
Gryfice	39	26	81	7	82	50	89	23	87	100			80	15	93	16
Stargard	64	19	92				84	27	100	100			84	15	33	13

Ps – *Pseudomonas aeruginosa*

Ac – *Acinetobacter* sp.

nu. Występowanie szczepów PNSP ma wprawdzie charakter lokalny (Stargard, Koszalin), nie mniej odsetek PNSP w tych ośrodkach w ostatnich latach wydaje się wzrastać. Wyizolowane szczepy wykazywały wprawdzie wrażliwość na cefalosporyny III generacji, jednak w znacznym odsetku były odporne na inne grupy leków.

Zróżnicowany udział szczepów MRSA (od kilku do kilkudziesięciu procent) wśród patogenów szpitalnych w poszczególnych ośrodkach oraz izolacja enterokoków o zmniejszonej wrażliwości na glikopeptydy w niektórych szpitalach wskazuje również na lokalne uwarunkowania (liczba łóżek, oddziały zwiększonego ryzyka, stosowane procedury, schematy postępowania terapeutycznego...) jako główne czynniki po-

wstawania i selekcji szczepów opornych, a tym samym podnosi znaczenie własnych, rzetelnie prowadzonych i analizowanych badań mikrobiologiczno-epidemiologicznych w ustalaniu zasad racjonalnej antybiotykoterapii.

Analiza rutynowych wyników oznaczania wrażliwości drobnoustrojów w oparciu o standardy NCCLS wydaje się przedstawiać dość wiarygodne dane odnośnie oporności izolowanych szczepów, charakterystyczne dla danego ośrodka czy regionu. Konieczna jest jednak dalsza weryfikacja szczepów opornych celem ustalenia stopnia oporności, mechanizmu kodującego, a także pokrewieństwa genetycznego izolowanych szczepów. Przydatne w tym zakresie są metody przeglądowe, oznaczanie MIC (mini-

malne stężenie hamujące), wykrywanie mechanizmów oporności oraz metody molekularne (PCR, LCR, RFLP, RAPD, PFGE) (3, 6, 10). Weryfikacja szczepów opornych jest częściowo wykonywana we własnych laboratoriach a także w Krajowym Ośrodku Referencyjnym. Celowe byłoby powołanie regionalnych ośrodków referencyjnych, współpracujących z Ośrodkiem Krajowym. Miałyby one obowiązek stałej analizy oraz weryfikacji pojawiających w terenie szczepów opornych a w związku z tym mogłyby skuteczniej wpływać na wprowadzanie zasad racjonalnej terapii zakażeń w regionie.

WNIOSKI

Wrażliwość ważnych klinicznie drobno-ustrojów izolowanych w północno-zachodnim regionie Polski jest zróżnicowana.

Zróżnicowanie dotyczy nie tylko szpitala, ale również poszczególnych oddziałów, zwłaszcza w odniesieniu do pałeczek Gram-ujemnych

Zasady racjonalnej antybiotykoterapii w szpitalu czy regionie powinny opierać przede wszystkim na wynikach własnych badań mikrobiologiczno-epidemiologicznych

PIŚMIENNICTWO

1. Appelbaum PC. Emerging resistance to antimicrobial agents in Gram-positive bacteria - Pneumococci. *Drug* 1996, 51 (suppl.1), 1-8
2. Baquero F. Epidemiology and management of penicillin-resistant pneumococci. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1996, 9: 372-379
3. *Current Protocols for Clinical Microbiology. Antimicrobial Susceptibility Testing* Red.: J. Hindler. ASM Washington 1995
4. Durand-Gasselin B, Leclercq R, Girard-Pipau F i inni. Evolution of bacterial susceptibility to antibiotics during a six-year period in hematology unit. *J Hosp Infect* 1995, 29: 19- 33
5. Gniadkowski M. Beta-laktamazy u pałeczek Gram-ujemnych. *Nowa Medycyna* 1007, IV, 20- 26
6. Hryniewicz W, Trzeciński K, Zaręba T. Oznaczanie wrażliwości bakterii na chemioterapeutyki - zasady doboru antybiotyków w rutynowej diagnostyce zakażeń bakteryjnych. *Mikrobiologia Medycyna* 1998, 1(14): 22-34
7. Hryniewicz W, Młodzińska E Żurek E, i in. V Krajowy Zewnętrzny Sprawdzian Wiarygodności Badań Mikrobiologicznych - PO- LMICRO, 98. *Mikrobiologia Medycyna* 1999, 2(19): 29-37
8. Livermore DM. Betalaktamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995, 8: 557-584
9. Monsen T, Ronnmark M, Olofsson C i inni. Antibiotic Susceptibility of Staphylococci Isolated in Blood Cultures in Relation to Antibiotic Consumption in Hospital Wards. *Scand J Infect Dis* 1999, 31: 399-404
10. Murawska B, Dzierżanowska D. Zastosowanie metod biologii molekularnej w diagnostyce mikrobiologicznej. *Mikrobiologia Medycyna* 1999, 2(19): 38-44
11. Nikodemski T. Bakteriologiczna i kliniczna analiza zakażeń u pacjentów Oddziału Intensywnej Terapii. Praca doktorska, Pomorska Akademia Medyczna, Szczecin, 1997
12. Trzeciński K, Hryniewicz W. I Grupa Robocza Projektu Aleksander. Antimicrobial susceptibility of common bacterial pathogens isolated from lower respiratory tract infections in Poland. *Med. Sci Monit.* 1997, 3: 714-722

ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ W POŁUDNIOWYM REGIONIE POLSKI. ANALIZA WRAŻLIWOŚCI CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH SZPITALNYCH ZAKAŻEŃ DRÓG ODDECHOWYCH NA LEKI PRZECIWBAKTERYJNE*

Antibiotic resistance of bacteria isolated in southern Poland.
Analysis of the etiological factors susceptibility of the hospital respiratory tract
infections to antibacterial drugs

Agata Pietrzyk, Małgorzata Bulanda, Piotr B. Heczko

Instytut Mikrobiologii Collegium Medicum UJ Dyrektor Instytutu: Prof, dr hab. Piotr B. Heczko

***Streszczenie.** Narastanie oporności drobnoustrojów chorobotwórczych na leki i wzrastający procent szczepów wieloopornych stanowi poważny problem w leczeniu wielu zakażeń bakteryjnych. W niniejszej pracy przedstawiono analizę oporności na leki drobnoustrojów najczęściej wywołujących szpitalne zakażenia dolnych dróg oddechowych. Materiały do badań stanowiły płwocina, popłuczyny oskrzelowe i płyn opłucnowy, pochodzące od chorych hospitalizowanych w II Katedrze Chorób Wewnętrznych CM UJ w Krakowie, w latach 1995-97. Analizie poddano szczepy następujących bakterii: Staphylococcus aureus (501 szczepów), Escherichia coli (362 szczepy), Klebsiella pneumoniae (216 szczepy), Pseudomonas aeruginosa (279 szczepów) i Acinetobacter spp. (137 szczepy). Oporność na wybrane leki przeciwbakteryjne badano standardową metodą dyfuzyjno-krażkową wg Kirby-Bauera, a wyniki interpretowano zgodnie z kryteriami NCCLS.*

Przeprowadzona analiza wykazała, że 5,8% uzyskanych szczepów S.aureus stanowiły szczepy odporne na metycylinę (MRSA). Wśród przebadanych szczepów gronkowca złocistego nie zidentyfikowano szczepów opornych na wankomycynę. Ponad 40% szczepów było natomiast opornych na gentamycynę i ciprofloksacynę. Pałeczki P.aeruginosa i Acinetobacter spp. charakteryzowały się wysoką częstością oporności na ureidopenicyliny (40%-73% szczepów opornych), aminoglikozydy (44%-52% szczepów opornych na gentamycynę) i fluorochinolony (37-54%). Najniższy odsetek szczepów opornych wystąpił w przypadku ceftazydymu i imipenemu. Pałeczki z rodzaju Enterobacteriaceae były w 46%-74% odporne na ampicylinę i w blisko 30% na cefalotynę. Około 10% szczepów E.coli i ponad 20% szczepów K pneumoniae stanowiły szczepy odporne na cefalosporyny III generacji. Wszystkie badane szczepy były natomiast wrażliwe na imipenem.

***Summary.** Increasing frequency of resistance of pathogenic microorganisms to antimicrobial drugs and occurrence of multiresistant bacteria makes an important problem in successful treatment of many infections. This paper shows analysis of data on resistance of most common pathogens of the hospital lower respiratory tract infections. Materials for isolation were sputa, bronchial washings and pleural fluids taken from patients treated in the II Clinic of Internal Diseases, University Hospital in Cracow, Poland in years 1995-1997. The analysed bacterial isolates were: Staphylococcus aureus (501 strains), Escherichia coli (362 strains), Klebsiella pneumoniae (216 strains), Pseudomonas aeruginosa (279*

strains) and Acinetobacter spp. (137 strains). Their resistance to selected antibacterial agents was tested by the standard Kirby-Bauer test and the results interpreted according the NCCLS criteria.

It was shown that 5,8% of S.aureus strains were resistant to methicillin (MRSA). No vancomycin resistant S. aureus strain was found. Over 40% of the tested S. aureus strains were resistant to gentamicin and ciprofloxacin. Pseudomonas and Acinetobacter rods were frequently resistant to ureidopenicillins (40-73% of resistant strains), aminoglycosides (44-52% of resistant strains to gentamicin) and fluoroquinolones (37-54%), but retained their susceptibility to ceftazidime and imipenem. Enterobacteriaceae rods were in 46-74% resistant to ampicillin and in 30% to cephalotin. About 10% of E.coli strains and over 20% of Klebsiella pneumoniae strains were resistant to cephalosporins of the III generation but all of them were susceptible to imipenem.

W pracy przedstawiono częstość występowania szczepów opornych na leki przeciwbakteryjne dla wybranych czynników etiologicznych, wywołujących zakażenia dolnych dróg oddechowych u pacjentów hospitalizowanych w regionie południowej Polski.

WSTĘP

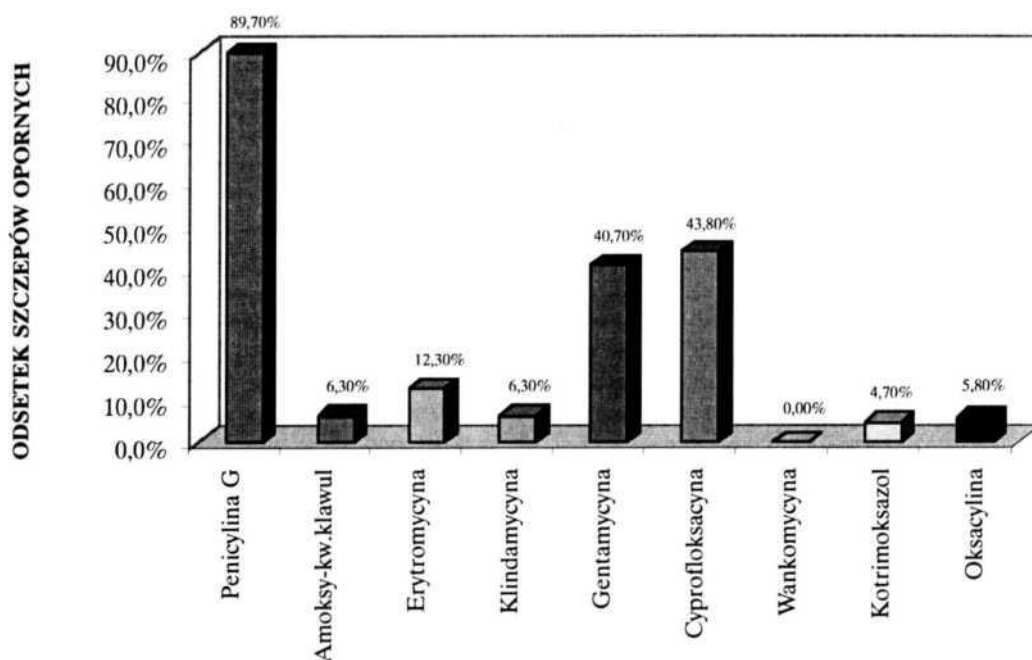
Obserwowane w ostatnich latach narastanie oporności drobnoustrojów chorobotwórczych na leki i pojawienie się szczepów wieloopornych stanowi poważny problem w leczeniu wielu zakażeń bakteryjnych. Zjawisko to jest bezpośrednią konsekwencją nabywania przez szczepy bakteryjne nowych mechanizmów oporności i przekazywania genów kodujących oporność nawet między filogenetycznie odległymi gatunkami bakterii (1, 5, 9, 13). Powszechne i nieracjonalne stosowanie leków przeciwbakteryjnych w profilaktyce i leczeniu chorych w warunkach szpitalnych prowadzi do selekcji szczepów opornych i ich szybkiego rozprzestrzeniania się a tym samym prowadzi do obniżenia efektywności i podwyższenia kosztów leczenia. Współczesna chemioterapia powinna być więc oparta na analizach czynników etiologicznych zakażeń, ocenie ich oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe i znajomości mechanizmów nabywania tej oporności. Badania mikrobiologiczne pozwalające na ocenę lekooporności

określonych szczepów drobnoustrojów chorobotwórczych mają bardzo istotny wpływ na zmniejszenie tempa narastania oporności bakterii w danym środowisku, zwłaszcza w środowisku szpitalnym.

Celem pracy było przedstawienie fragmentu analizy wyników badań bakteriologicznych prowadzonych u chorych hospitalizowanych w regionie południowej Polski. Analiza ta dotyczy oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe wybranych drobnoustrojów chorobotwórczych, stanowiących najczęstsze czynniki etiologiczne szpitalnych zakażeń dolnych dróg oddechowych.

MATERIAŁY I METODY

Badaniami objęto chorych hospitalizowanych na oddziale pulmonologicznym II Katedry Chorób Wewnętrznych CM UJ w latach 1995-97 oraz pacjentów przebywających na oddziale intensywnej opieki medycznej i alergologii, leczonych uprzednio na oddziale pulmonologicznym. Materiały do badań stanowiły płwocina, popłuczyny oskrzelowe i płyn opłucnowy. Ogółem przebadano 32X5 próbek materiałów. Drobnoustroje identyfikowano zgodnie z ogólnie przyjętymi metodami (10). Wrażliwość na leki badano standardową metodą dyfuzyjno-krażkową wg Kirby-Bauera. Oznaczanie wrażliwości prowadzono na podłożu Mueller-Hintona (MHA), inkubując hodowle



Rycina 1. Oporność szczepów *Staphylococcus aureus*
Figure 1. The resistance of *Staphylococcus aureus* strains

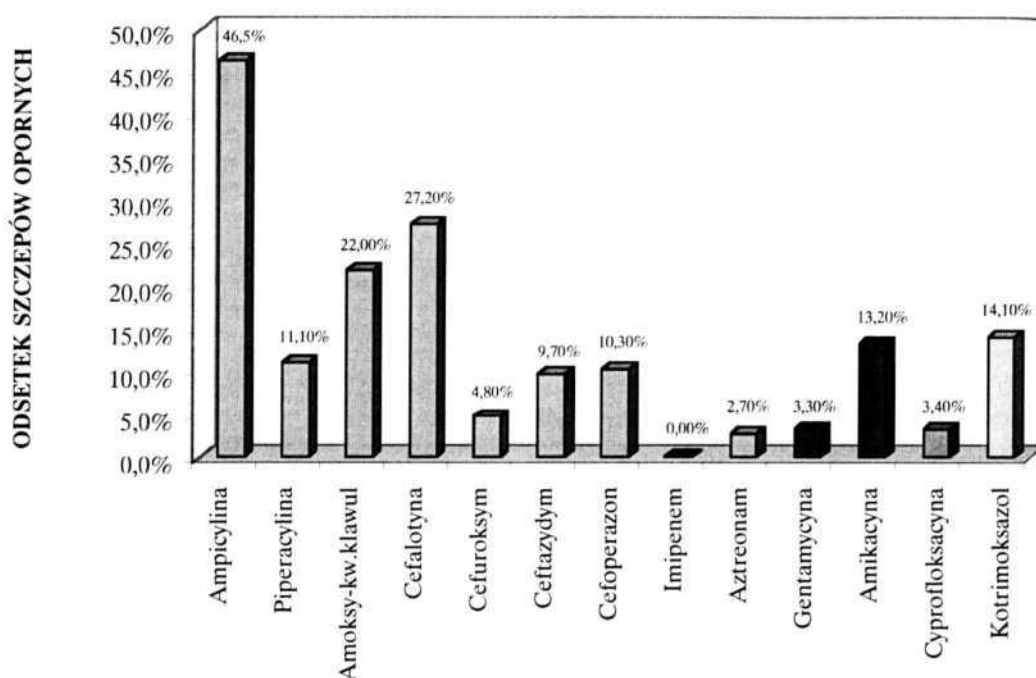
przez 24h w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych. Do badań wykorzystano krążki antybiotykowe firmy bioMerieux. Oporność szczepów *Staphylococcus aureus* na metycylinę oznaczano techniką dyfuzji w żelu agarowym. Oznaczenia wykonano zgodnie z zaleceniami NCCLS stosując krążki z oksacyliną (11). Wyniki wszystkich oznaczeń odczytywano po 20 godzinach inkubacji. Jakikolwiek wzrost, występujący w strefie zahamowania wzrostu identyfikowano jako świadczący o oporności badanego szczepu.

Przeanalizowano oporność na leki 501 szczepów *Staphylococcus aureus*, 362 szczepów *Escherichia coli*, 216 szczepów *Klebsiella pneumoniae*, 279 szczepów *Pseudomonas aeruginosa* i 137 szczepów *Acinetobacter spp.*

WYNIKI I OMÓWIENIE

Wyniki analizy oporności wyizolowanych szczepów bakteryjnych przedstawiono w postaci rycin oznaczonych cyframi od 1 do 5.

Obecnie przyjmuje się, że ponad 90% szczepów *Staphylococcus aureus* jest opornych zarówno na działanie penicylin naturalnych, jak i aminopenicylin i ureidopenicylin (8). Zjawisko to jest związane z wytwarzaniem penicylinazy - enzymu hydrolizującego penicylinę. Oporne na penicylinę szczepy gronkowca złocistego mogą być jednak wrażliwe na działanie preparatów skojarzonych z inhibitorami. Spośród wyizolowanych 501 szczepów *S.aureus* blisko 90% charakteryzowało się opornością na penicylinę



Rycina 2. Oporność szczepów *Escherichia coli*
Figure 2. The resistance of *Escherichia coli* strains

G, podczas gdy zaledwie 6% było opornych na amoksylicynę z kwasem klawulanowym. Szczepy gronkowca złocistego charakteryzowały się ponadto wysoki, przekraczającą 40% częstością oporności na gentamycynę i cyprofloksacynę, pozostając wrażliwe na erytromycynę, klindamycynę i kotrimokszazol. W przypadku tych trzech leków częstość występowania szczepów opornych była rzędu 5-15%.

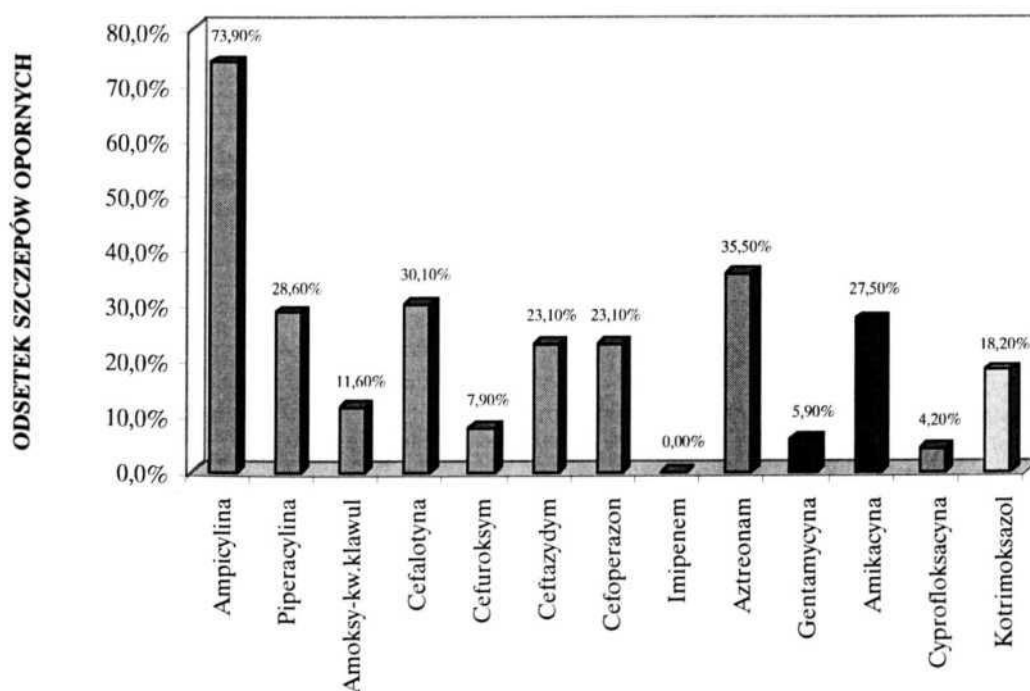
W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się zakażeniom wywoływanych przez gronkowce oporne na metycylinę (6). Oporność na metycylinę oznacza bowiem jednoczesną oporność na wszystkie antybiotyki 13-laktamowe. Dane z licznych ośrodków na terenie Polski wskazują, że odsetki szczepów metycylinoopornych są różne i wahają się w granicach od kilku do kilkudziesięciu procent

w zależności od profilu oddziału, typu szpitala i lokalizacji na terenie Polski (12). Z uzyskanych danych wynika, że częstość występowania szczepów metycylinoopornych w materiałach pobranych od badanych pacjentów nie była wysoka. Jedynie 5,8% szczepów *S.aureus* stanowiły szczepy metycylinooporne. Wśród wszystkich badanych szczepów *S.aureus* nie zidentyfikowano ani jednego szczepu opornego na wankomycynę.

Szczepy pałeczek Gram-ujemnych izolowanych z materiałów pochodzących od chorych hospitalizowanych badano pod kątem wrażliwości na penicyliny, penicyliny z inhibitorami, cefalosporyny, imipenem, aminoglikozydy i cyprofloksacynę. W grupie pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* do najczęściej izolowanych należały gatunki *Escherichia coli*

i *Klebsiella pneumoniae*. W przypadku tych bakterii za najważniejszy mechanizm oporności uważa się obecnie produkcję B-laktamaz o rozszerzonym profilu substratowym (ESBL), zdolnych do rozkładu cefalosporyn II i III generacji i monobaktamów. W ostatnich latach coraz częściej obserwuje się pojawianie się takich szczepów bakterii w środowisku szpitalnym (2, 4, 7). Wśród badanych szczepów *E.coli* odsetek szczepów opornych na cefalosporyny II i III generacji był stosunkowo niski i wynosił od 5-10%. W przypadku szczepów *K.pneumoniae* ponad 20% było opornych na cefalosporyny III generacji i ponad 35% na aztreonam. Wzory oporności badanych szczepów bakterii wskazują na prawdopodobną obecność enzymów ESBL u blisko 10% izolatów *E.coli* i około 25% izolatów *K.pneumoniae*.

(3-laktamazy o rozszerzonym profilu substratowym, występujące u *E.coli* i *K.pneumoniae* były początkowo hamowane przez penicyliny z inhibitorami, zwłaszcza amoksylicylinę z kwasem klawulanowym. Obecnie jednak coraz częściej obserwuje się brak skuteczności tych leków wobec pałeczek produkujących te enzymy. Z uzyskanych danych wynika, że 22% wyizolowanych szczepów *E.coli* i 11% szczepów *K.pneumoniae* charakteryzowało się opornością na amoksylicylinę z kwasem klawulanowym. Należy podkreślić, że wśród badanych szczepów pałeczek obserwowano wysoką częstość oporności szczególnie na ampicylinę (powyżej 70% w przypadku *K.pneumoniae* i ponad 45% w przypadku *E.coli*), i cefalotynę (około 30% w obu przypadkach). Wszystkie wyizolowane szczepy pałeczek

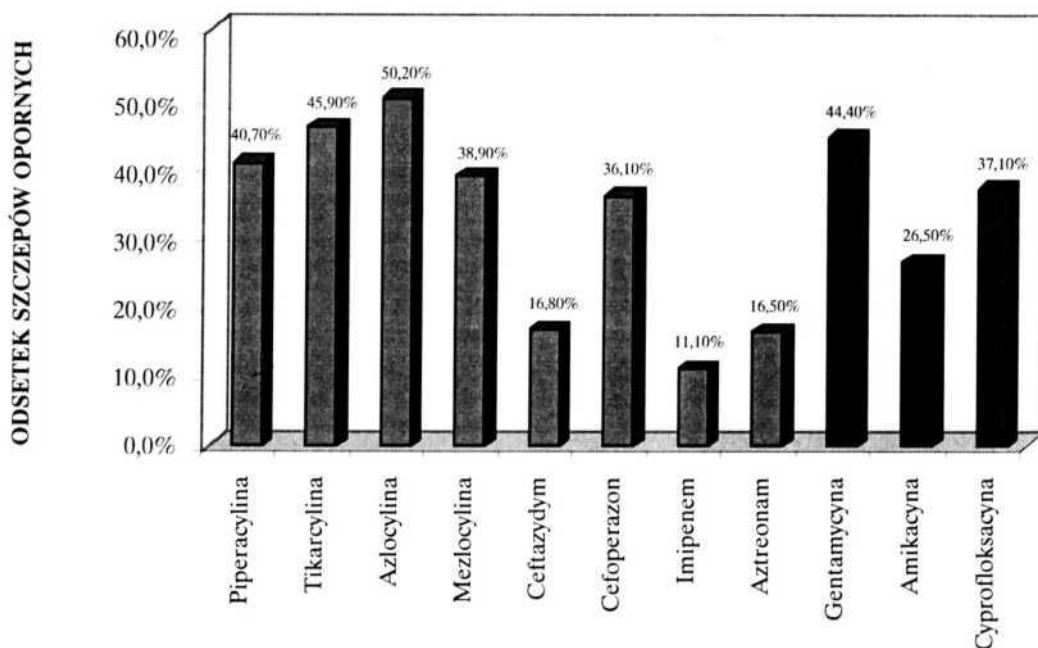


Rycina 3. Oporność szczepów *Klebsiella pneumoniae*
Figure 3. The resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains

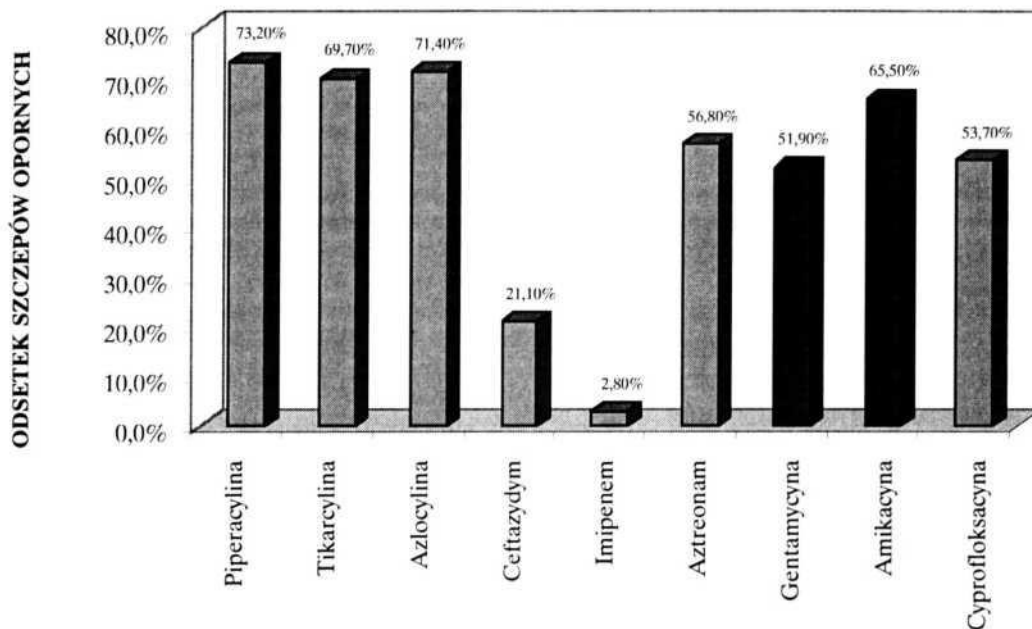
Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae* były wrażliwe na imipenem. Poza narastającą opornością na B-laktamy obserwuje się także wzrost liczby szczepów opornych na aminoglikozydy i fluorochinolony. Z uzyskanych danych wynika, że odsetek szczepów pałeczek *E.coli* i *K.pneumoniae* opornych na gentamycynę i na cyprofloksacynę był rzędu kilku procent. Ponad 13% szczepów *E.coli* i ponad 27% szczepów *K.pneumoniae* charakteryzowało się natomiast opornością na amikacynę.

Obok pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* do najczęściej izolowanych należały Gram-ujemne, tlenowe pałeczki niefermentujące z rodzajów *Pseudomonas* i *Acinetobacter*. Bakterie te stanowią istotne czynniki etiologiczne wielu zakażeń, a w szczególności zapaleń płuc u chorych hospitalizowanych na oddziałach intensywnej opieki medycznej. Cechą charakterystyczną tych pa-

łeczek jest oporność na większość dostępnych w terapii leków. Przeprowadzona analiza oporności na antybiotyki B-laktamowe wykazała, że wśród 279 wyizolowanych szczepów *Pseudomonas aeruginosa* blisko 50% stanowiły szczepy odporne na ureidopenicyliny i karboksypenicyliny. Ponad 35% szczepów było także opornych na cefoperazon. Najniższy odsetek szczepów opornych wystąpił w przypadku ceftazydymu (około 17%) i imipenemu (około 11%). W odniesieniu do innych danych krajowych odsetki te są stosunkowo wysokie (3, 14). Oporność *P.aeruginosa* na antybiotyki B-laktamowe jest skojarzona z opornością na aminoglikozydy, a w szczególności na gentamycynę. Z uzyskanych danych wynika, że odsetek szczepów opornych na gentamycynę był wysoki i wynosił blisko 45%, a na amikacynę około 27%. Wyniki te są zbliżone do wyników uzyskanych przez Trzcíńskiego i wsp.



Rycina 4. Oporność szczepów *Pseudomonas aeruginosa*
Figure 4. The resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains



Rycina 5. Oporność szczepów *Acinetobacter spp*
 Figure 5. The resistance of *Acinetobacter spp.* strains

(14). Należy podkreślić, że wyizolowane szczepy *Paeruginosa* charakteryzowały się także wysoką częstością oporności na cyprofloksacynę (około 40%), lek bardzo często stosowany w terapii zakażeń wywołanych przez tę pałeczkę. Obok pałeczek *Paeruginosa* w środowisku szpitalnym często występują także pałeczki z rodzaju *Acinetobacter*, przy czym najczęściej z gatunku *A.baumanii*. Cechą charakterystyczną tych drobnoustrojów jest oporność na większość leków stosowanych w terapii. Wśród badanych szczepów *Acinetobacter spp.* wystąpił wysoki odsetek szczepów opornych na penicyliny (około 70% szczepów opornych na piperacylinę, tikarcylinę i azlocylinę). Zaobserwowano także wysoki procent szczepów opornych na gentamycynę (powyżej 50%) i amikacynę (ponad 65%). Oporność na cyprofloksacynę przekroczyła natomiast

50%. Najniższy odsetek szczepów opornych wystąpił w przypadku ceftazydymu i imipenemu. Jedynie 2,8% szczepów zidentyfikowano jako odporne na imipenem. Wadą tej analizy jest brak identyfikacji gatunkowej *Acinetobacter*, gdyż wiadomo, że szczepy odporne spotyka się częściej wśród pałeczek *Acinetobacter baumanii*, niż wśród innych gatunków tego rodzaju. Tym niemniej należy stwierdzić, że uzyskane szczepy *Acinetobacter spp.* charakteryzowały się występowaniem najwyższych odsetków szczepów opornych na poszczególne grupy leków.

WNIOSKI

Szczepy *Staphylococcus aureus* charakteryzowały się wysoką częstością oporności na gentamycynę i cyprofloksacynę, pozostając

w 100% wrażliwe na wankomycynę. Wśród wszystkich izolowanych szczepów gronkowca złocistego, szczepy metycylinooporne stanowiły 5,8%.

Tlenowe pałeczki niefermentujące *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter spp.* wykazywały wysoki odsetek szczepów opornych (przekraczający 50%) na penicyliny, aminoglikozydy i fluorochinolony.

Pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* były w 46-74% oporne na ampicylinę i w blisko 30% na cefalotynę, pozostając w 100% wrażliwe na imipenem i w ponad 95% na cyprofloksacynę. Szczepy *Klebsiella pneumoniae* charakteryzowały się około 2-krotnie wyższym odsetkiem szczepów opornych na cefalosporyny III generacji i amikacynę, niż szczepy z gatunku *Escherichia coli*.

Analiza oporności na leki szczepów izolowanych jako czynniki etiologiczne zakażeń chorych hospitalizowanych w danym środowisku powinna być podstawą do tworzenia zasad terapii empirycznej i racjonalnej polityki antybiotykowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Barie PS. Antibiotic-resistant gram-positive cocci: implications for surgical practice. *World JSurg* 1998, 22:118-126.
2. Dzierżanowska D, Jeljaszewicz J. Mechanizmy bakteryjnej oporności na antybiotyki. *Nowa Medycyna* 1997, 16:22-25.
3. Dzierżanowska D. Antybiotykoooporne bakterie w szpitalu. *Nowa Medycyna* 1997, 16:18-22.
4. Gniadkowski M. Beta-laktamazy u pałeczek Gram-ujemnych. *Mikrobiologia Medycyna*
5. Gransden WR. Antibiotic resistance. Nosocomial gram-negative infection. *J Med Microbiol* 1992, 46:436-439.
6. Hryniewicz W. Oporność na metycylinę szczepów *Staphylococcus aureus*. *Mikrobiologia Medycyna* 1995, 2/3:12-19.
7. Hryniewicz W. Problemy oporności na antybiotyki u najczęstszych patogenów szpitalnych. *Nowa Medycyna* 1998, 11:3-7.
8. Hryniewicz W. Współczesna antybiotykoterapia: spojrzenie mikrobiologa. *Mikrobiologia Medycyna* 1998, 2:23-29.
9. Murray BE. Vancomycin-resistant Enterococci. *Am J Med* 1997, 101:284-293.
10. Murray PR. *Manual of Clinical Microbiology* - six edition. Wyd. Murray PR. Asm Waszyngton 1995.
11. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests - Sixth Edition; Approved Standard. NCCLS Document M2-A6, January 1997.
12. Piechowicz L, Namysł E, Galiński J. Występowanie metycylinoopornych gronkowców w Polsce i ich charakterystyka. *Med Dośw Mikrobiol* 1993, 45:273-276.
13. Szabo D, Bares I, Rozgonyi F. Extended-spectrum beta-lactamases: an actual problem of hospital microbiology (a review). *Acta Microbiol Immunol Hung* 1997, 44:309-325.

*Praca częściowo wykonana w ramach projektu badawczego zamawianego Z

ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ BAKTERII W REGIONIE WSCHODNIM POLSKI

Antibiotic – resistant bacteria in East region of Poland

Maria Lucyna Zaremba

Zakład Mikrobiologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. M.L. Zaremba

Streszczenie. Wśród szczepów gronkowców (880 – *S. aureus* i 1946 – koagulazo ujemne gronkowce (CNS)) wyosobnionych w latach 1997–1999 (od stycznia do czerwca) od pacjentów leczonych w szpitalach i ambulatoryjnie wykazano 51 (5,9%) MRSA (methicillin – resistant *S. aureus*) (wszystkie z genem *mec A*) i 299 (15,4%) szczepów MRCNS. W ostatnich latach oporność na ampicylinę wykazywano z częstością 13,1% (263/2007), 31,1% (33/106), 46,8% (146/312), 60,8% (162/259) i 66,4% (954/1437) wśród szczepów bakteryjnych należących odpowiednio do: *Enterococcus faecalis*, *Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis* i *Escherichia coli*. Wśród szczepów opornych na ampicylinę zdolność do produkcji β -laktamazy wykazywano z następującą częstością: *E. faecalis* – 66%, *H. influenzae* – 82%, *H. parainfluenzae* – 90% i *M. catarrhalis* – 51%. Należy odnotować, że w ciągu ostatnich 10 lat obserwowano wzrost oporności na ampicylinę wśród szczepów tych gatunków (np. *H. influenzae*: 1987 – 10,9% i 1997 – 31,1%). Około 10% szczepów *E. faecalis* było opornych na wysokie stężenia aminoglikozydów (HLR szczepy). Pierwsze szczepy *Streptococcus pneumoniae* odporne na penicylinę G (MIC \geq 2 mg/l) wyosobniono w latach 1993–94 od dzieci leczonych ambulatoryjnie w Białymstoku (27,1%; 13/48). Wśród 95 szczepów pneumokoków izolowanych w latach 1997–99 oporność na ampicylinę wykazano tylko u 4 (4,2%) z nich. Częstość oporności na niektóre antybiotyki takie jak cefuroksym (26,3%), cefotaksym (17,6%), aztreonam (18,1%) i ofloksacynę (9,2%) wykazywana wśród szczepów *Klebsiella pneumoniae* była wyższa niż wśród szczepów *E. coli* (odpowiednio: 11%, 8,8%, 7,9% i 1%). Wśród szczepów *P. aeruginosa* izolowanych w latach 1997–99 częstość oporności na wybrane antybiotyki wynosiła: karbenicylina – 65%, piperacylina – 31%, cefazydym – 17,5%, aztreonam – 20,2%, imipenem – 8%, gentamycyna – 32%, amikacyna – 19% i cyprofloksacyna – 19%.

Summary. Among staphylococci strains (880 – *S. aureus* and 1946 – CNS; coagulase negative staphylococci) isolated from hospitalized and ambulatory patients during 1997–1999 (I–VI) there were 51 (5,9%) MRSA (methicillin – resistant *S. aureus*) (all with gene *mec A*) and 299 (15,4%) MRCNS strains. During last years, rates of ampicillin (AM) – resistant strains were 13,1% (263 of 2007), 31,1% (33 of 106), 46,8% (146 of 312), 60,8% (162 of 259) and 66,4% (954 of 1437) among bacteria belonging to *Enterococcus faecalis*, *Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis* and *Escherichia coli*, respectively. Among AM – resistant strains of these species β -lactamase producing strains were found as follows: *E. faecalis* – 66%, *H. influenzae* – 82%, *H. parainfluenzae* – 90% and *M. catarrhalis* – 51%. It should be noted that an increasing resistance of these species to ampicillin was observed in our studies during last ten years (i.e. *H. influenzae*: 1987 – 10,9% and 1997 – 31,1%). About 10% strains of *E. faecalis* with high level resistance to aminoglycosides (HLR strains) were found. First strains of *Streptococcus pneumoniae* with resistance to penicillin G (MIC = 2 mg/l) were isolated during 1993 – 94 from ambulatory children treated in Białystok (27,1%; 13 of 48). Among 95 pneumococci strains isolated during 1997–99 only 4 (4,2%) penicillin resistant strains were observed. Rates of resistant strains to some antibiotics such as cefuroxime (26,3%), cefotaxime (17,6%), aztreonam (18,1%) and ofloxacin (9,2%) among *Klebsiella pneumoniae*

were higher than among *E. coli* (11%, 8,8%, 7,9% and 1%, respectively) strains. Incidence rates of resistance to some antibiotics among *P. aeruginosa* strains isolated during 1997-99 were as follows: carbenicil- lin - 65%, piperacillin - 31%, cefazidime - 17,5%, aztreonam - 20,2%, imipenem - 8%, gentamicin - 32%, amikacin - 19% and ciprofloxacin - 19%.

Przedstawiono częstość występowania oporności na wybrane antybiotyki wśród bakterii z rodzajów *Staphylococcus* (głównie MRSA i MRCNS) i *Haemophilus* oraz gatunków *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa* wyisobnionych w ostatnich latach od chorych leczonych w regionie wschodnim Polski.

Liczne bakterie, które aktualnie są uznanymi czynnikami chorobotwórczymi, w przeszłości odznaczały się wrażliwością na antybiotyki, lub też wykazywały przewidywalne wzory oporności, obecnie cechują się nieprzewidywalną opornością na chemioterapeutyki. Odnosi się to m.in. do ziarniaków Gram dodatnich z rodzajów *Staphy-*

lococcus i *Enterococcus* oraz gatunku *Streptococcus pneumoniae*, ziarniaków Gram ujemnych z gatunku *Moraxella (Rranhamella) catarrhalis*, pałeczek Gram ujemnych z rodzaju *Haemophilus*, pałeczek jelitowych (m.in. *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*) i pałeczek niefermentujących glukozy (m.in. *Pseudomonas aeruginosa*). W niniejszym artykule zwrócono uwagę na częstość występowania antybiotykooporności wśród szczepów bakterii z wymienionych rodzajów i/lub gatunków, wyisobnionych od pacjentów leczonych w regionie wschodnim Polski. Uzasadnia to fakt, że bakterie te w większości należały w ostatnich latach do najczęściej izolowanych w Zakładzie Mikrobiologii AMB z próbek materiałów od chorych leczonych w różnych jednostkach

Tabela I. Częstość występowania wybranych gatunków bakteryjnych w próbkach materiałów od chorych leczonych w latach 1997-1999 w różnych jednostkach służby zdrowia województwa podlaskiego

Nazwa bakterii	Rok	1997	1998	1999 (I-VI)	Razem
Ziarniaki Gram-dodatnie		* 1797 (22,5)	2361 (29,5)	771 (28,1)	4929 (26,3)
<i>Staphylococcus aureus</i>		284 (3,6)	415 (5,2)	182 (6,6)	881 (4,7)
Gronkowce koagulazo ujemne (CNS)		791 (9,9)	917 (11,2)	239 (8,7)	1947 (10,4)
<i>Staphylococcus</i>		1075 (13,5)	1332 (16,6)	421 (15,3)	2828 (15,1)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		47 (0,4)	33 (0,4)	15 (0,7)	95 (0,5)
<i>Enterococcus faecalis</i>		675 (8,5)	996 (12,4)	335 (12,2)	2006 (10,7)
Pałeczki Gram-ujemne		1618 (20,2)	1888 (23,2)	675 (24,6)	4181 (22,3)
<i>Escherichia coli</i>		1312 (16,5)	1437 (29,5)	530 (19,3)	3279 (17,5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		160 (2,0)	204 (2,5)	56 (2,0)	420 (2,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		146 (1,8)	214 (2,7)	89 (3,2)	449 (2,4)
Liczba próbek materiałów		7975	8008	2743	18726

Liczba szczepów (%) (liczony z ogólnej liczby badanych próbek materiałów)

Tabela II. Oporność na metycylinę (MR) wśród szczepów z gatunku *Staphylococcus aureus* (MRSA) i gronkowców koagulazo-ujemnych (MRCNS)

Lata	Staphylococcus aureus		Gronkowce koagulazo-ujemne (CNS)	
	Liczba szczepów badanych	MRSA Liczba (%)	Liczba szczepów badanych	MRCNS Liczba (%)
1988–89*	671	49 (7,3)	311	49 (15,8)
1997	283	16 (5,6)	791	155 (16,9)
1998	415	19 (4,6)	917	107 (12,0)
1999 (I–VI)	182	16 (8,8)	239	37 (15,5)
1998–99	597	35 (5,9)	1156	144 (12,5)

* wg Zaremba i in. (17, 24).

szpitalnych i ambulatoryjnych regionu wschodniego (ostatnio – województwo podlaskie) (tab. I).

STAPHYLOCOCCUS

Bakterie z rodzaju *Staphylococcus* w ostatnich latach zajmują drugie miejsce po *Escherichia coli* pod względem częstości izolowania ich z próbek różnych materiałów od chorych leczonych w szpitalach i przychodniach regionu wschodniego; szczególnie dotyczy to szczepów z gatunków innych niż *S. aureus*, wspólnie określonych jako gronkowce koagulazo ujemne (CNS) (tab. I).

Od wielu już lat oporność na penicylinę G wśród szczepów z gatunku *S. aureus* jest ustabilizowana na bardzo wysokim poziomie – 80–90%; dotyczy to praktycznie wszystkich ośrodków krajowych jak i ośrodka białostockiego. Szczepy *S. aureus* odporne na penicylinę izolowane w ostatnich latach w około 90% wytwarzały β -laktamazę ocenianą w teście z nitrocefina.

Z pierwszych ogólnopolskich badań przeprowadzonych w roku 1986 pod kierunkiem Borowskiego (1) wiadomo, że

wśród 1285 szczepów *S. aureus* oporność na metycylinę wykazano u 168 (13,1%) z nich, a częstość ta była zróżnicowana w zależności od miasta (od 7,4% - Poznań i 7,9% - Gdańsk do 21,4% - Katowice i 25,0% - Bydgoszcz); w Białymstoku częstość ta wynosiła 8,6% i 17,1% w zależności od szpitala. Największa częstość izolowania szczepów MRSA dotyczyła różnych próbek materiałów pochodzących od chorych leczonych w oddziałach intensywnej opieki medycznej (OIOM = 58,5%), a najmniejsza oddziałów dermatologicznych (3,8%) (1). W tych badaniach zwrócono też uwagę na występowanie oporności na metycylinę wśród szczepów z gatunku *S. epidermidis* (76/451 = 16,9%); w Białymstoku częstość ta wynosiła 13% i 10,5%, w zależności od szpitala (1).

Kontynuowane badania w ośrodku białostockim potwierdzały w kolejnych latach wysoką częstość występowania szczepów MRSA i MRCNS w próbkach materiałów od pacjentów leczonych w OIOM-ach, która wynosiła >30% dla wymazów z rurek intubacyjnych (3, 17, 20, 24).

Porównanie częstości występowania szczepów MRSA i MRCNS w latach

Tabela III. *Haemophilus influenzae* - oporność na ampicylinę

Rok publikacji	1989 wg (2)	1990 wg (5)	1993 wg (10)	1995-1996 wg (21, 22)	1998 wg (7)
Liczba szczepów badanych	193	158	191	179	106
- serotyp b (%)	41 (21,2)	34 (21,5)	37 (19,4)	53 (29,6)	28 (26,4)
- serotyp nie-b (%)	152 (78,8)	124 (78,5)	154 (80,6)	126 (70,4)	78 (73,6)
Liczba szczepów opornych (%)	21 (10,9)	22 (13,9)	30 (15,7)	39 (21,8)	33 (31,1)
β-laktamaza (+)	12 (57,1)	13 (59,1)	21 (70,0)	27 (69,2)	27 (81,8)
serotyp b	9 (22,0)	10 (29,4)	12 (32,4)	17 (32,1)	11 (39,3)
- β-laktamaza (+)	7 (77,8)	8 (80,0)	9 (75,0)	12 (70,6)	8 (72,7)
nie-b	12 (7,9)	12 (9,7)	18 (11,7)	22 (17,5)	22 (28,2)
- β-laktamaza (+)	5 (41,7)	5 (41,7)	12 (66,7)	15 (68,2)	19 (84,4)

Tabela IV. *Haemophilus parainfluenzae* w zakażeniach układu oddechowego u dzieci

	Liczba badanych dzieci	Liczba szczepów (%)	Liczba badanych dzieci	Liczba szczepów (%)
Dzieci chore:	459	315 (68,6)	141	101 (71,6)
- URTI	392	272 (69,4)	109	79 (72,5)
- LRTI	67	43 (64,2)	32	22 (68,8)
Dzieci zdrowe:	100	80 (80,0)	-	
Oporność na ampicylinę (MIC \geq 4 mg/l):		1 (0,3)	(MIC \geq 2 mg/l):	44 (43,6)
- β-laktamaza (+)		1	- β-laktamaza (+)	39 (88,6)
Rożkiewicz D. 1990 (5)			Rożkiewicz D. i in., 1998 (7)	

1988-89 oraz 1998-99 przedstawiono w tabeli II. Z danych tych wynika, że nie zaobserwowano wzrostu występowania szczepów gronkowców opornych na metycylinę w ciągu ostatniej dekady; nieco wyższe odsetki w latach 1988-89 (7,3% - MRSA i 15,8% - MRCNS) (17) wynikają z większej liczby badanych pacjentów leczonych na oddziałach chirurgicznych i OIOM. W latach 1998-99 dominowały szczepy gronkowców wyosobnione od dzieci hospitalizowanych oraz od dorosłych i dzieci leczonych ambulatoryjnie (5,9% - MRSA i 12,5% - MRCNS).

Oporność na metycylinę wśród szczepów z gatunku *S. aureus* wyosobnionych w ostatnich latach uwarunkowana była obecnością genu *mec A* zlokalizowanego w chromosomie, co potwierdzono w metodzie PCR. Szczepy z wieloraką opornością na różne grupy antybiotyków wykazywano częściej wśród różnych gatunków MRCNS niż wśród MRSA (3, 17, 24). Szczegółowa charakterystyka fenotypów i genotypów oporności wśród gronkowców opornych na metycylinę będzie podana w odrębnym opracowaniu.

ENTEROCOCCUS

Ziarniaki Gram-dodatnie z rodzaju *Enterococcus*, głównie z gatunku *E. faecalis*, niedawno traktowane tylko jako komensale przewodu pokarmowego, obecnie są trzecim pod względem częstości czynnikiem etiologicznym szpitalnych posocznic i drugim co do częstości czynnikiem etiologicznym ran i zakażeń układu moczowego u pacjentów hospitalizowanych (12).

Bakterie te, należały do najczęściej (8,5% – 12,2%) izolowanych z różnych próbek materiałów od chorych, zarówno hospitalizowanych jak i leczonych ambulatoryjnie, jak na to wskazuje analiza własna dokonana w latach 1997–1999 (I–VI) (p. tab. I). Taka częstość daje trzecią lokatę enterokokom po pałeczkach *Escherichia coli* i gronkowcach (łącznie: *S.aureus* i gronkowce koagulazo ujemne (CNS)) (p. tab. I).

Z różnych ośrodków zagranicznych i niektórych krajowych wiadomo, że możliwości leczenia zakażeń enterokokowych stają się coraz bardziej ograniczone z uwagi na narastającą oporność tych bakterii na ampicylinę, penicylinę, gentamycynę, streptomycynę i glikopeptydy (wankomycyna i teikoplanina). Wykazano również spadek aktywności synergistycznej aminoglikozydów skojarzonych z antybiotykami działającymi na ścianę komórkową bakterii (12). Warunkiem skutecznej terapii jest więc precyzyjne określenie wrażliwości enterokoków na antybiotyki i badanie fenotypów oporności, a w przyszłości również genotypów.

Z dotychczasowej analizy własnej fenotypów oporności na antybiotyki wiadomo, że wśród szczepów enterokoków około 10% charakteryzowało się wysokim stopniem oporności na antybiotyki aminoglikozydowe (tzw. szczepy HLR) (brak efektu synergistycznego z β -laktamem). Oporność na ampicylinę wśród szczepów *E. faecalis* wyosobnionych w latach 1997–1999 (I–VI) wykazano

odpowiednio z następującą częstością: 21,2% (143/675) - 1997 r., 9,2% (92/996) - 1998 r. i 8,3% (28/336) - 1999 (I–VI). Szczepy odporne na ampicylinę wytwarzały B-laktamazę ocenianą w szybkim teście z nitrocefiną (krążki „Cefinase” - firmy BioMericux) odpowiednio z następującą częstością: 63,7%, 72,8% i 60,7%; szczepy te były wrażliwe na Augmentin i Unasyn. Pozostałe szczepy enterokoków, odporne na ampicylinę, jak można sądzić z tej analizy, charakteryzowały się innym mechanizmem oporności niż produkcja B-laktamazy. Szczegółowe charakterystyki fenotypów oporności na antybiotyki enterokoków będą opracowane odrębnie.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Do roku 1996 oporność na penicylinę G wśród szczepów pneumokoków izolowanych w Polsce opisywana była niezwykle rzadko. Zaremba i in. (15) w roku 1996 donieśli o wynikach systematycznych badań wykonanych u 167 dzieci w wieku od 2 miesięcy do 15 lat leczonych ambulatoryjnie z powodu zakażeń górnych i dolnych dróg oddechowych. Autorki od 48 (28,7%) dzieci z wymazów gardła wyosobniły pneumokoki, wśród których aż 13 (27,1%) charakteryzowało się całkowitą opornością na penicylinę G (MIC > 2 mg/l; średnica strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z oksacyliną – 1 / μ g < 20 mm). Wśród 48 szczepów *S. pneumoniae* wykazano też oporność na inne antybiotyki z następującą częstością: klindamycyna - 4,2%, erytromycyna - 10,4%, tetracyklina - 70,8%, doksyklina - 62,5% i cyprofloksacyna - 25%; nie wykazano oporności na wankomycynę i te- i koplanię (15).

W latach 1997–1999 (I–VI) wśród 95 szczepów *S. pneumoniae* wyosobnionych od dzieci i dorosłych leczonych w różnych jednostkach służby zdrowia w Białymstoku częstość oporności na penicylinę dotyczyła tylko 4 (4,2%)

Tabela V. Aktywność wybranych antybiotyków doustnych wobec 181 szczepów *Moraxella catarrhalis* wyosobnionych od dzieci leczonych ambulatoryjnie z powodu zakażeń dróg oddechowych

Antybiotyk	Zakres wartości MIC (mg/l)	MIC90 (mg/l)	R*	Szczepy odporne	
				Liczba	(%)
Ampicylina	0,008 – 256	2,66	≥ 2	110 **	(60,8)
Cefradyna	0,008 – 256	49,72	≥ 16	105	(58,0)
Cefaklor	0,008 – 64	7,96	≥ 16	18	(9,9)
Cefuroksym	0,008 – 32	3,21	≥ 8	2	(1,1)
Erytromycyna	0,008 – 256	7,00	≥ 1	77	(42,5)
Doksycyklina	0,008 – 32	3,76	≥ 8	16	(8,8)

* R - stężenie krytyczne dla szczepów opornych (MIC w mg/l) ** 52 (47,3%) - B-laktamaza (+)

szczepów. Oporność na inne antybiotyki kształtowała się następująco: erytromycyna - 18 (18,9%), tetracykliny - 20 (21%), klinda- mycyna - 8 (8,4%) i trimetoprim / sułfametok- sazol - 10 (10,5%).

HAEMOPHILUS

Z doniesień pochodzących z ośrodków zagranicznych wiadomo, że pierwsze szczepy z gatunku *Haemophilus influenzae* odporne na ampicylinę wyosobniono we wczesnych latach siedemdziesiątych. W roku 1987 pod kierunkiem Borowskiego przeprowadzono po raz pierwszy w Polsce wieloośrodkowe badania (Białystok, Gdańsk, Łódź, Kraków, Warszawa) nad częstością występowania oporności na wybrane antybiotyki wśród pałeczek z gatunku *H. influenzae* (2). Wśród 439 szczepów *H. influenzae* wyosobnionych od dzieci i dorosłych oporność na ampicylinę wykazano u 80 (18,2%) z nich; tylko 37 (46,3%) szczepów wytwarzało 13-laktamazę. Częstość oporności na ampicylinę była zróżnicowana w poszczególnych ośrodkach od najwyższej - 50% w Gdańsku do najniższej

- 12,1% w Łodzi; w Białymstoku odsetek ten wynosił 13,3%.

W kolejnych latach w ośrodku białostockim podejmowano systematycznie ukierunkowane badania dzieci z zakażeniami górnych i/lub dolnych dróg oddechowych leczonych ambulatoryjnie (5-10,18, 21). Stosowane od lat jednolite - wystandaryzowane metody badawcze, zwłaszcza do oceny wrażliwości tych bakterii na antybiotyki (MIC w mg/l), umożliwiają dokonanie porównawczej analizy wyników. Załączona tabela (tab. III) przedstawia analizę wyników dotyczących częstości występowania oporności na ampicylinę wśród szczepów *H. influenzae* wyosobnionych i badanych w poszczególnych latach (wg 2, 5, 7, 10, 21, 22).

Zwraca uwagę fakt 3-krotnego wzrostu (10,7% - 1989 i 31,1% - 1998) częstości występowania oporności na ampicylinę wśród szczepów z gatunku *H. influenzae* w okresie 10-letniej obserwacji. Wzrosła też częstość od 57,1% do 81,8% szczepów *H. influenzae*, których oporność na ampicylinę uwarunkowana była wytwarzaniem przez nie B-laktamazy; szczególnie dotyczyło to szczepów nie należących do serotypu b (nie b: B-laktama-

za od 41,7% – 1989 do 84,4% – 1998) (tab. III).

W badaniach własnych w ostatnich latach dokonano również oceny wrażliwości na wybrane antybiotyki wśród szczepów *H. influenzae* w zależności od serotypu (a, b, c, d, e i f) (7, 21, 22). Oporność na ampicylinę z wysoką częstością wykazano nie tylko wśród szczepów należących do serotypu b (32,1% wg (21, 22) i 39,3% wg (7)), lecz także wśród szczepów serotypu a (17,4% wg (21, 22) i 30% wg (7)) oraz szczepów nie typujących się (NT – 18,9% wg (21, 22) i 34,6% wg (7)). Oporność na ampicylinę wykazano również u pojedynczych szczepów należących do serotypu c i e. Wśród szczepów *H. influenzae* wykazano oporność na cefaklor (4,5% wg (22) i 3,7% wg (7)) i na cefuroksym (2,2% i 1,9% odpowiednio). Szczepy odporne na cefuroksym były też odporne na Augmentin i Unasyn. Odnotowano nieznaczny wzrost oporności z 12,8% (22) do 16% (7) na doksyklicynę wśród szczepów *H. influenzae*; oporność na ten antybiotyk częściej dotyczyła serotypu b niż a i NT. Ostatnio też wyisobniono z krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego od dziecka szczep *H. influenzae* typu b, który był odporny na cefalosporyny III generacji (6).

Jak dotąd oporności na ampicylinę nie stwierdzono wśród szczepów należących do gatunków takich jak *H. haemolyticus*, *H. parahaemolyticus* i *H. aphrophilus*, które były izolowane od dzieci chorych i zdrowych (5, 7, 8, 21). Niepokojącym jest natomiast fakt gwałtownego wzrostu w ostatnich latach częstości (> 40%) występowania oporności na ampicylinę wśród szczepów z gatunku *H. parainfluenzae* (tab. IV) (7), z których aż prawie 90% wytwarzało β -laktamazę. We wcześniejszych badaniach własnych szczepy *H. parainfluenzae* odporne na ampicylinę wykazywano tylko sporadycznie (1/315 wg (5) i 2/44 wg (23)). Ostatnio, wśród 211 badanych szczepów tego gatunku 102 (48,3%) by-

ły odporne na ampicylinę, z których aż 92 (90,2%) produkowało 13-laktamazę.

MORAXELLA CATARRHALIS

Na początku lat 70-tych bakterie z gatunku *Moraxella catarrhalis* (wcześniej znane jako *Branhamella* lub *Neisseria*) były wrażliwe na praktycznie wszystkie antybiotyki stosowane w leczeniu zakażeń układu oddechowego, w tym na penicyliny, tetracykliny i erytromycynę. Obecnie sytuacja przedstawia się odmiennie. W końcu lat siedemdziesiątych wyisobniono w Europie i USA pierwsze szczepy *M. catarrhalis* produkujące 13-laktamazę, a w latach 80-tych częstość ta już dotyczyła > 80% szczepów; głównie (90%) enzym BRO-1 (12).

Szczepy z gatunku *M. catarrhalis* mogą być odporne na antybiotyki inne niż 13-laktamazy. Praktycznie wszystkie szczepy odznaczają się opornością na wankomycynę, trimetoprim i klindamycynę, przy czym mechanizmy tej oporności nie są znane. Mimo oporności na trimetoprim, bakterie te wykazują zwykle wysoką wrażliwość na skojarzenie trimetoprimu i sulfametoksazolu (kotrimoksazol, Bisseptol); oporność na to skojarzenie wykazywana jest również ostatnio w wielu krajach. W latach osiemdziesiątych wykryto też oporność na tetracykliny oraz na erytromycynę i na aminoglikozydy.

Do roku 1991 nie stwierdzano oporności na penicylinę/ampicylinę wśród szczepów *M. catarrhalis* izolowanych z próbek materiałów od chorych leczonych w różnych jednostkach służby zdrowia miasta Białegostoku i jednostek terenowych regionu wschodniego. Z tego okresu brak też doniesień pochodzących z innych ośrodków krajowych. W roku 1993 Zaremba i in. (23) doniosła

o pierwszych 4 szczepach *M. catarrhalis* opornych na ampicylinę wśród 18 szczepów badanych (częstość – 22,2%); szczepy te wytwarzały 13-laktamazę (szybki test z nitro-

cefina). Z systematycznych badań prowadzonych przez Zarembę i in. (16, 21) w latach 1993-94 wiadomo, że wśród 181 szczepów *M. catarrhalis* izolowanych głównie od dzieci leczonych ambulatoryjnie z powodu zakażeń układu oddechowego, aż 110 (60,8%) było opornych na ampicylinę (MIC > 2 mg/l), z których tylko 52 (47,3%) wytwarzały B-laktamazę. Jakubicz i Leszczyńska (4) wśród 78 szczepów *M. catarrhalis* wyosobnionych od chorych z zakażeniami układu oddechowego, zarówno dorosłych jak i dzieci, leczonych w latach 1994-95 w różnych jednostkach służby zdrowia w Białymstoku wykazali 52 (66,7%) szczepy odporne na ampicylinę (ocena w metodzie krążków bibułowych), z których 69% wytwarzało B-laktamazę.

Wśród szczepów *M. catarrhalis* badanych przez Zarembę i in. (16, 21) wykazano wysoką częstość oporności także na cefradynę (58%) i erytromycynę (42,5%); występowały też szczepy odporne na cefaklor (9,9%) i cefuroksym (1,1%) oraz na doksycylinę (8,8%) (tab. V). Należy zwrócić uwagę na fakt, że częstości oporności wśród szczepów pochodzących z tego samego okresu (1994—95) od innych chorych, oceniane rutynowo metodą dyfuzyjno krążkową, na erytromycynę (30,7%), cefuroksym (21,8%) i tetracykliny (37,2%) (4) różnią się od podanych w tabeli V (16, 21); z reguły są znacznie wyższe. Wśród szczepów *M. catarrhalis* badanych przez Jakubicza i Leszczyńską (4) wykazano też wysoką częstość oporności na antybiotyki aminoglikozydowe takie jak gentamycyna i netilmycyna (po 20,5%) oraz na trimetoprim/sulfametoksazol (34,6%); autorzy nie wykazali oporności na ofloksacynę i Augmentin (amoksycylina/kwas klawulanowy). Zaremba i in. (18) wcześniej wykazali oporność na ofloksacynę u 2 (5%) wśród 40 badanych szczepów *M. catarrhalis*.

ESCHERICHIA COLI

Pałeczki z gatunku *Escherichia coli* należały do najczęściej izolowanych z różnych próbek materiałów (głównie z próbek moczu) od chorych leczonych w latach 1997-99 (I-VI) w szpitalach i poradniach miasta Białegostoku i województwa (p. tab. I.). Szczegółowa analiza wyników badania wrażliwości szczepów tego gatunku wskazuje na wzrost częstości oporności na ampicylinę w roku 1998 (954/1437 - 66,4%) w porównaniu do szczepów *E. coli* izolowanych i ocenianych

10 lat wcześniej (36,7%) (10). Szczepy odporne na ampicylinę w większości były wrażliwe na preparaty skojarzone z inhibitorami B-laktamaz, takie jak Augmentin i/lub Unasyn; tylko 7,7% szczepów *E. coli* pozostawało opornych na te preparaty w roku 1998. Odnotowano nieznaczny wzrost oporności na cefuroksym (11%), cefotaksym (8,8%) i aztreonam (7,9%) wśród szczepów izolowanych w roku 1998 w porównaniu do tych częstości obserwowanych pod koniec lat osiemdziesiątych (odpowiednio około 6%, 2% i 3%) (17). W roku 1998 po raz pierwszy wykazano oporność na imipenem wśród *E. coli* (1%). Antybiotyki aminoglikozydowe wykazywały nadal wysoką aktywność wobec szczepów *E. coli*, co wyrażone było bardzo niskimi odsetkami szczepów opornych na gentamycynę (7,5%), netilmycynę (3,5%) i amikacynę (3,7%) w roku 1998, w porównaniu do lat wcześniejszych (17, 19). Szczepy *E. coli* charakteryzowały się ostatnio również niskim stopniem oporności na chinolony (kwas naldyksowy 25/233 - 10,7%, norfloksacyna 11/248 - 4,4% i ofloksacyna 1/97 - 1%) i nitrofurantoinę (48/624 - 7,7%). Wyższe odsetki oporności dotyczyły tylko tetracyklin (349/927 - 37,6%). Nie odnotowano w ostatnich latach wzrostu oporności na fluorochinolony wśród szczepów *E. coli* w porównaniu do szczepów tego gatunku badanych w latach 1986-91 (11, 13, 17, 18).

KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Wśród łącznej liczby 420 szczepów z gatunku *Klebsiella pneumoniae* wyosobnionych w ośrodku białostockim w ostatnich latach (1997–1999 (I – VI) (p. tab. I) oporność na cefuroksym, cefotaksym i aztreonam wykazano odpowiednio z częstością: 26,3%, 17,6% i 18,1%. Nie stwierdzono oporności tylko na karbapenemy. Wśród szczepów opornych na ampicylinę aż 22,9% (73/319) było nadal opornych na Augmentin i/lub Unasyn, co wskazuje na wzrost takiej oporności w porównaniu do szczepów tego gatunku badanych w latach 1987–1990 (oporność na Augmentin – 5,6%, a na Unasyn – 9,9% wśród szczepów *K. pneumoniae* opornych na ampicylinę) (10). Zwraca uwagę fakt stwierdzenia wyższych odsetków oporności na antybiotyki aminoglikozydowe (gentamycyna – 17,4%, netilmycyna – 7,7% i amikacyna – 5,7%) wśród szczepów *K. pneumoniae* w porównaniu do *E. coli* (p. wyżej) oraz brak wzrostu oporności w ostatnich latach w porównaniu do szczepów izolowanych i badanych w latach osiemdziesiątych (11, 17, 19). Oporność na chinolony wykazano z następującą częstością: kwas nalidyksowy – 24,3% (41/169), norfloksacyna – 8,6% (15/175) i ofloksacyna – 9,2% (14/152). Wskazuje to na ponad dwukrotny wzrost oporności na ofloksacynę w porównaniu do szczepów *K. pneumoniae* izolowanych i badanych w latach 1986–1991, gdy częstość oporności na ten chemioterapeutyk oceniono na 4,1% (14/343) (17, 18).

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Należy na wstępie odnotować, że w ostatnich latach (p. tab. I) obserwowano wzrost częstości izolowania szczepów z gatunku *Pseudomonas aeruginosa* z różnych próbek materiałów od chorych leczonych nie tylko w oddziałach szpitalnych, lecz i w przychod-

niach. Szczepy *P. aeruginosa* izolowane w końcu lat 80-tych, głównie od chorych z OIOM charakteryzowały się w 100% opornością na karbenicylinę i gentamycynę; oporność na amikacynę dotyczyła od 15 do >50% szczepów (14, 17, 19).

Wśród łącznej liczby 449 szczepów *P. aeruginosa* izolowanych w ostatnich latach 1997–1999 odnotowano oporność na antybiotyki z następującą częstością: karbenicylina – 64,6%, tikarcylina/kwas klawulonowy – 40,6%, piperacylina – 31,2%, cefotaksym – 17,5%, aztreonam – 20,2%, imipenem – 7,6%, gentamycyna – 31,5%, netilmycyna – 29,1%, amikacyna – 19,0% i cyprofloksacyna – 17,6%. Oporność na ofloksacynę i cyprofloksacynę z częstością 5,7% (4 na 70 szczepów badanych) odnotowano wśród szczepów z gatunku *P. aeruginosa* wyosobnionych w latach 1986–88 i z częstością 6,4% (7/109) w roku 1989 (13, 17, 18). Z badań własnych wiadomo, że wśród szczepów z rodzaju *Pseudomonas* (głównie gatunku *P. aeruginosa*) wyosobnionych w latach 1990–91 częstość oporności na ofloksacynę wynosiła już 18,4% w porównaniu do 10,1% w roku 1989 (18). Od tego okresu (1990–1991) nie odnotowano więc już wzrostu oporności wśród *P. aeruginosa* na fluorochinolony.

WNIOSKI

W ostatnich latach nie odnotowano wzrostu częstości oporności na metycylinę wśród gronkowców (MRSA i MRCNS) oraz wzrostu oporności na fluorochinolony wśród gronkowców, pałeczek *E. coli* i *P. aeruginosa* w porównaniu do końca lat 80-tych.

Odnutowano wzrost oporności na ampicylinę, uwarunkowanej produkcją B-laktamazy, wśród bakterii Gram-ujemnych z gatunków *Haemophilus influenzae* (serotyp a, b i NT), *II. parainfluenzae* i *Moraxella catarr-*

halis oraz Gram-dodatnich ziarniaków z gatunku *Enterococcus faecalis*.

Od 1993 roku wykazywana jest oporność na penicylinę wśród bakterii z gatunku *Streptococcus pneumoniae*.

Wśród enterokoków wykazywana jest oporność na wysokie stężenia aminoglikozydów (HLR - 10%).

W ostatnich latach wykazano oporność na karbapenemy wśród pałeczek z gatunku *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*.

PIŚMIENNICTWO

1. Borowski J. Surveillance of MRS in Poland. Br J Clin Prac 1988, 42 (Suppl. 57): 72-73.
2. Borowski J, Zaremba M, Denys A i in. A nationwide survey of Haemophilus influenzae resistance in Poland. J Chemother 1989, 1 (Suppl. to no 4): 294-296.
3. Gajewski A. Potencjalne rezerwuary gronkoców opornych na metycylinę (MRS) w środowisku szpitalnym. Rozprawa doktorska, Akademia Medyczna, Białystok, 1992.
4. Jakubicz P, Leszczyńska K. Występowanie Moraxella catarrhalis u chorych z zakażeniami dróg oddechowych. Med. Dośw. Mikrobiol 1997, 49: 55-60.
5. Rożkiewicz D. Udział pałeczek z rodzaju Haemophilus w zakażeniach układu oddechowego u dzieci. Rozprawa doktorska, Akademia Medyczna, Białystok, 1990.
6. Rożkiewicz D, Ołdak E, Kuryłowicz T. i in. Powtórne zapalenie opon mózgowo rdzeniowych wywołane przez Haemophilus influenzae typu b. Pediatra Polska 1998, 73: 953 - 956.
7. Rożkiewicz D., Popławska D., Wróblewska H. i in. Udział pałeczek z rodzaju Haemophilus w zakażeniach układu oddechowego u dzieci leczonych ambulatoryjnie oraz ich wrażliwość na wybrane antybiotyki doustne. Pediatra Polska 1998,73: 865-871.
8. Rożkiewicz D., Taraszkiewicz F., Zaremba M. Występowanie pałeczek z rodzaju Haemophilus w wymazach z gardła u dzieci zdrowych. Przegl Ped 1992, 22: 231-235.
9. Rożkiewicz D., Zaremba M., Taraszkiewicz F. Charakterystyka szczepów z gatunku Haemophilus influenzae wyisobnionych od dzieci z zakażeniem układu oddechowego. Pediatra Polska 1992, 67 (Supl. do nr 9-10): 322-325.
10. Rożkiewicz M., Zaremba M., Rożkiewicz M. i in. Sensitivity rates to Augmentin and Unasyn among Gram negative bacilli and staphylococci. J Chemother 1993, 5 (Suppl. n. 1): 24-26.
11. Zaremba M. Przeciwbakteryjne działanie norfloksacyny. w: Nolicin w leczeniu zakażeń układu moczowego. Materiały Sympozjum, Warszawa, Nove Mesto KRKA 1990: 14-32.
12. Zaremba M.L., Borowski J. Mikrobiologia lekarska, wyd II, Wyd Lek PZWL, Warszawa, 1997: 1-864.
13. Zaremba M., Borowski J., Rożkiewicz M. i in. In vitro activity of ofloxacin against Gram negative bacilli and staphylococci. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, Special Issue, 1991: 235-236.
14. Zaremba M., Borowski J., Rożkiewicz M. i in. Sensitivity rates to cefpirome among Gram negative bacilli. w: Recent advances in chemotherapy. Proc 17 th ICC, Berlin, 1991. Antimicrobial Section I.E. (ed. D. Adam), Munich: Futuramed Publ 1992: 362-363.
15. Zaremba M., Daniluk T., Popławska D. i in. Oporność na penicylinę wśród szczepów Streptococcus pneumoniae wyisobnionych od dzieci leczonych ambulatoryjnie z powodu zakażeń dróg oddechowych. Mat Nauk XXIII Zj Pol Tow Mikrobiol OŁ PTM, Łódź 1996: 452.
16. Zaremba M., Popławska D., Rożkiewicz M. i in. Wrażliwość szczepów z gatunku Moraxella catarrhalis na wybrane antybiotyki doustne. Mat Nauk XXIII Zjazdu Pol Tow Mikrobiol. OŁ Łódź 1996: 453.
17. Zaremba M., Rożkiewicz M., Borowski J. Przeciwbakteryjna aktywność cyprofloksacyny. Wyd KRKA - Slovenia, Druk Kočevski tisk, 1993: 1-24.
18. Zaremba M., Rożkiewicz M., Pydzińska J. i in. 6 Years of experience with sensitivity testing of various Gram negative and Gram po-

- sitive clinical strains to ofloxacin. *Drugs* 1993, 45 (Suppl. 3): 161-162.
1. Zaremba M., Rożkiewicz M., Pydzińska J. i in. Comparative activity of isepamicin and amikacin against clinical isolates. *J Chemother* 1993, 5 (Suppl. n. 1): 47-48.
 2. Zaremba M., Rożkiewicz M., Rożkiewicz D. i in. Incidence rate of staphylococcal strains and their sensitivity to some antibiotics among hospitalized patients. 2nd Intern Conf of the Hosp Infect Soc, London 2-6 September 1990. *Hospital infection - towards the year 2000*. London: Hosp Inf Soc 1990: 154.
 3. Zaremba M., Rożkiewicz M., Rożkiewicz D. i in. In vitro activity of some oral antibiotics against *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* strains isolated from ambulatory children. 7 th European Congress of Clin Microbiol Infect Dis, ...
 4. Zaremba M., Rożkiewicz D., Rożkiewicz M. i in. Aktywność wybranych antybiotyków doustnych wobec różnych serotypów *Haemophilus influenzae* wyosobnionych od dzieci leczonych ambulatoryjnie. *Mat Nauk XXIII Zjazdu Pol Tow Mikrobiol, OL Łódź* 1996: 441.
 5. Zaremba M., Rożkiewicz M., Wróblewska H. i in. Cefuroksym aksetyl (Zinnat) w leczeniu ambulatoryjnym zakażeń dróg oddechowych u dzieci i dorosłych. Glaxo - Dział Informacji Naukowej, A.W.R. „TEMIKO”, Warszawa, 1993: 1-15.
 6. Zaremba M., Rożkiewicz M., Zaremba K. i in. In vitro antimicrobial susceptibility of methicillin - resistant staphylococci. Seventh International Congress on Rapid Methods and Automation in Microbiology

ANTYBIOTYKOOPORNE BAKTERIE U CHORYCH LECZONYCH W ODDZIALE INTENSYWNEJ TERAPII

Antibiotico resistant bacilli in Intensive Care Unit

Urszula Zielińska, Jacek Jastrzębski

Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii CMKP, Warszawa

Kierownik Kliniki prof. dr hab. med. Jacek Jastrzębski

Streszczenie. Cel: Pracę wykonano w celu ustalenia jakie bakterie antybiotykooporne występują w naszym OIT. Metoda: W latach 1997–1998 leczono 642 chorych u których przeprowadzono badania bakteriologiczne. U 65 z tych chorych stwierdzono na podstawie badań bakteriologicznych wystąpienie ciężkich zakażeń, a u 25 chorych rozpoznano wstrząs septyczny. Główne obserwacje i wyniki: Stwierdzono że w 1998 roku wzrosła liczba szczepów *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae* opornych na antybiotyki. Wnioski: Obecnie w naszym oddziale nie możemy nadal stosować monoterapii przeciwko tym szczepom, a konieczne jest stosowanie kilku antybiotyków np. Piperacylina/Tazobactam, Ciprofloxacyna i Amikacyna.

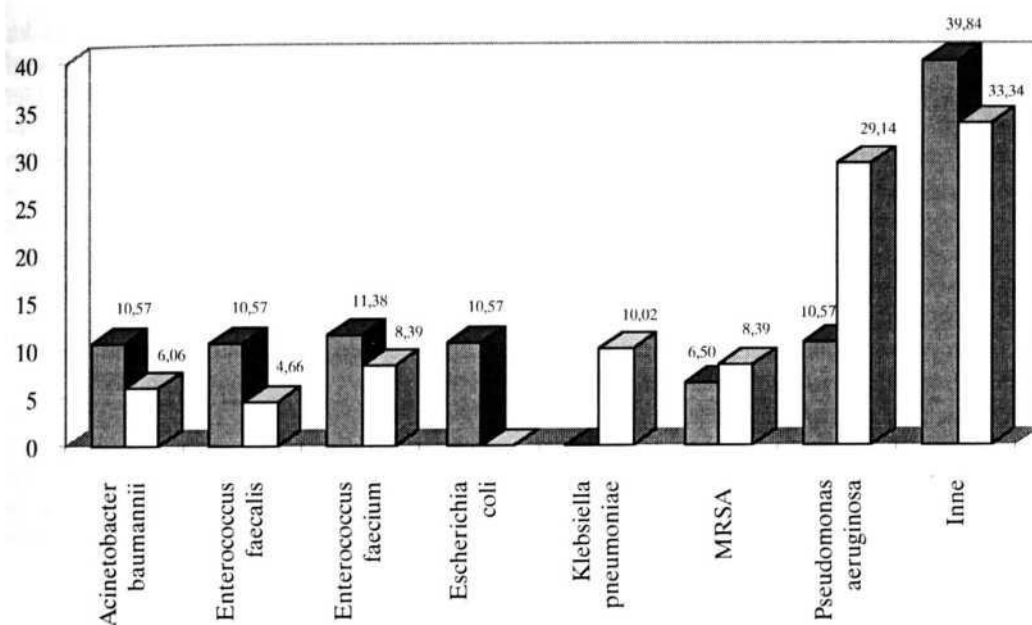
Summary. Objective: To define of the epidemiology antibiotico resistant bacilli in Intensive Care Unit. Methods: Within years 1997 and 1998 642 patients were studied in 10 per cent (65 patients) of them serious infection was confirmed and in 25 patients septic shock was diagnosed. Main observations and results: It has been found that number of *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* bacilli resistant to antibiotics increased subsequently. Conclusions: No monotherapy is possible against *Pseudomonas aeruginosa* in our ICU. We have to use combination of several antibiotics eg. Piperacilline/Tazobactam, Ciprofloxacinum and Amikacine.

Występowanie bakterii w środowisku szpitalnym jest zjawiskiem powszechnym, często niosącym za sobą ryzyko wystąpienia zakażeń, które w swoim przebiegu mogą okazać się trudne do leczenia i nierzadko śmiertelne. Jednak największe trudności terapeutyczne dotyczą zakażeń wywołanych przez szpitalne szczepy wielooporne. Grupą chorych szczególnie narażoną są pacjenci z Oddziału Intensywnej Terapii.

WSTĘP

Oddział Intensywnej Terapii zajmuje szczególne miejsce, i to nie tylko ze względu

na wykonywane tam zabiegi ratujące najczęściej życie chorego, ale również z powodu największego ryzyka zakażenia chorego. Ryzyko to jest związane przede wszystkim z inwazyjnymi zabiegami diagnostycznymi i leczniczymi, w czasie których istnieje możliwość wprowadzenia, w obręb jałowych fizjologicznie jam ciała bakterii bytujących na skórze czy błonach śluzowych [10, 11]. Utrzymywanie przez wiele dni, a nawet tygodni, cewników, drenów, wkłuc centralnych może w bardzo wielu przypadkach spowodować zakażenie drogą wstępującą. Najbardziej jednak pacjenci z tego oddziału, z racji jego specyfiki, narażeni są na zakażenia dolnych dróg oddechowych co w następstwie może doprowadzić



Rycina 1. Częstości występowania drobnoustrojów w Oddziale Intensywnej Terapii u 17 i 48 chorych w latach 1997 i 1998

Frequencies of bacteria detection in ICU in 17 and 48 patients in years 1997 and 1998 respectively

Tabela 1. Wrażliwość *Pseudomonas aeruginosa* na wybrane antybiotyki
Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* strains on selected antibiotics

Antybiotyki	Rok 1997 (17 chorych)		Rok 1998 (48 chorych)	
	Wrażliwe	Oporne	Wrażliwe	Oporne
Ticarcylina	92%	8%	20%	80%
Piperacylina	0%	46%	31%	69%
Ceftazydym	54%	46%	21%	79%
Imipenem	85%	15%	44%	56%
Amikacyna	62%	38%	56%	44%
Ciprofloksacyna	23%	77%	51%	49%
Piperacylina/tazobactam	69%	31%	56%	44%

dzić do zapalenia płuc. Intubując pacjenta, stosując oddech kontrolowany, pozbawiamy go możliwości nawilżania, ogrzewania i oczyszczania mieszaniny oddechowej, ale również znosimy kaszel, który zapobiega nadmiernemu gromadzeniu się wydzieliny z dróg oddechowych [1, 10, 11]. Długotrwałe utrzymywanie rurki intubacyjnej (co w niektórych sytuacjach staje się koniecznością) niszczy w znacznym stopniu aparat rzęskowy, co może doprowadzić do zmian zapalnych.

Nie bez znaczenia są również czynniki ryzyka związane z samymi pacjentami hospitalizowanymi w OIT. Większość z nich to chorzy z obniżoną odpornością, u których zwalczenie zakażenia, do którego doszło w czasie pobytu w szpitalu a szczególnie w OIT jest bardzo trudne [9, 11]. Dość dużą grupę pacjentów stanowią chorzy po rozległych operacjach w obrębie jamy brzusznej, często przyjmowani po operacjach przeprowadzanych w trybie ostrym, a więc w brudnym polu operacyjnym. Szczególną grupę stanowią pacjenci oparzeni, u których zakażenie rozwija się jako powikłanie oparzenia, a rokowanie uzależnione jest od stopnia i powierzchni oparzenia.

Narażeni na ryzyko zakażenia bakteriami bytującymi w środowisku OIT są również pacjenci nieprzytomni (po NZK, udarach, wylewach do CUN, urazach wielonarządowych), a także ci, którzy zostali przyjęci z powodu załamania się wydolności narządowej.

Szczególne znaczenie ma ciągła opieka nad pacjentem – a więc wszystkie zabiegi lecznicze a przede wszystkim pielęgnacyjne, które stwarzają ryzyko przeniesienia zakażenia przez ręce personelu z jednego chorego na drugiego [9, 10]. Nie bez znaczenia jest również nosicielstwo wśród personelu jak i wśród samych chorych, a także czas hospitalizacji pacjenta w szpitalu szczególnie przed zabiegiem operacyjnym [9, 10].

Ze względu na zwiokrotnione ryzyko, terapia zakażeń występujących w OIT jest bardzo trudna. Biorąc pod uwagę coraz większy odsetek zakażeń wywołanych przez szczepy antybiotykooporne – terapia ich jest często długa, kosztowna i często kończąca się niepowodzeniem.

METODA

W naszym oddziale intensywnej terapii hospitalizowaliśmy (ciągu ostatnich 2,5 lat) 642 pacjentów, z czego około 10% tzn. 65 chorych stanowili pacjenci z zakażeniami. U 25 chorych rozpoznaliśmy pełnoobjawowy wstrząs septyczny, którego potwierdzenie bakteriologiczne uzyskaliśmy tylko w połowie przypadków (dodatnie posiewy krwi).

W sytuacjach, w których nie możemy czekać z podaniem antybiotyku lek ten jest podawany empirycznie. Dwa razy w roku doko-

Tabela II. Wrażliwość *Acinetobacter baumannii* na wybrane antybiotyki
Sensitivity of *Acinetobacter baumannii* strains on selected antibiotics

Antybiotyki	Rok 1997 (17 chorych)		Rok 1998 (48 chorych)	
	Wrażliwe	Oporne	Wrażliwe	Oporne
Imipenem	100%	0%	100%	0%
Tobramycyna	33%	67%	65%	35%
Amikacyna	50%	50%	8%	92%

nujemy analizy posiewów z materiałów pobranych od pacjentów i wrażliwości wyizolowanych szczepów na antybiotyki i chemioterapeutyki. Każdy z chorych traktowany jest indywidualnie, ale analiza taka pozwala nam określić z dużym prawdopodobieństwem skuteczność stosowanych przez nas antybiotyków.

WYNIKI

Od lat w OIT głównymi patogenami są pałeczki niefermentujące *Pseudomonas aeruginosa* (Ryc. 1) – izolowany głównie z rurek intubacyjnych u chorych długo wentylowanych respiratorem jak i z ran u chorych oporzonych oraz *Acinetobacter baumannii* – gdzie źródłem zakażenia jest aparatura i sprzęt [12].

Bardzo dużym problemem są zakażenia wywołane przez bakterie z rodzaju *Enterococcus* – najczęstszym źródłem zakażenia są własne bakterie chorego, namnażające się po wcześniejszej antybiotykoterapii cefalosporynami III i IV generacji, długo przebywającego w szpitalu, którego własne szczepy bakteryjne zostały zastąpione przez szczepy szpitalne [7, 8, 9, 13]. W 98 r wzrosła znacząco liczba izolacji szczepów *Klebsiella pneumoniae* wytwarzających β -laktamazę o rozszerzonym spektrum substratowym. Enzym ten rozkłada wszystkie antybiotyki β -laktamowe z wyjątkiem cefamycyn i karbapenemów – ale możliwości leczenia zakażenia wywołanego przez ten szczep są co najmniej ograniczone (6). Niewątpliwie bardzo dużym problemem są w oddziałach intensywnej terapii ziarenkowce metycylinooporne, zarówno *Staphylococcus aureus* jak i gronkowce koagulazo ujemne.

Można by powiedzieć, że skład izolatów powtarza się co roku, występują one tylko w innej kolejności i w innym procencie w stosunku do całości (Ryc. 1).

Najbardziej niepokoi nas, iż na przestrzeni każdego badanego okresu czasu narasta oporność tych najbardziej patogennych szczepów (Tab. I).

Właściwie można powiedzieć że jednym z najbardziej skutecznych antybiotyków (biorąc pod uwagę wyniki posiewów bakteriologicznych, a więc wrażliwość szczepów na antybiotyki) jest Imipenem (Tab. II i III). Właściwości fizykochemiczne tego antybiotyku takie jak: doskonała penetracja do różnych tkanek, osiągnięcie stężenia terapeutycznego w wybranych tkankach, stosunkowo nieliczne

i rzadko spotykane działania niepożądane, oraz unikalne spektrum przeciw bakteryjne sprawiają że jest bardzo dobrym antybiotykiem w ciężkich zakażeniach. Jednak zbyt częste stosowanie go doprowadza do selekcji szczepów na niego naturalnie opornych takich jak *Stenotrophomonas maltophilia* [3].

Tabela III. Wrażliwość na wybrane antybiotyki szczepów *K. pneumoniae* wykrytej u 48 chorych w roku 1998
Sensitivity of *K. pneumoniae* strains detected in 48 patients in 1998 year on selected antibiotics

Antybiotyki	Wrażliwe	Oporne
Ceftriaxon	28%	72%
Imipenem	100%	0%
Ciprofloksacyna	52%	48%
Piperacylina/ /tazobactam	52%	48%

Poza tym wzrasta odsetek szczepów opornych na ten antybiotyk i to nie tylko wśród pałeczek *Enterobacteriaceae*, ale także wśród pałeczek niefermentujących czego przykładem mogą być szczepy *Pseudomonas aeruginosa*. Imipenem jest często jedynym antybiotykiem, który może być zastosowany w OIT [2]. To wszystko zmusza nas do przestrzegania ści-

Tabela IV. Wrażliwość na aminoglikozydy wybranych drobnoustrojów wykrywanych u 17 chorych w roku 1997 i 48 chorych w roku 1998

Sensitivity on aminoglycosides of selected strains detected in 17 and 48 patients in 1997 and 1998 years

Drobnoustroje	gentamycyna	tobramycyna	netilmycyna	amikacyna
E.coli	77%	75%	77%	77%
Pseudomonas	15%	31%	23%	62%
Klebsiella	28%	29%	44%	54%
Acinetobacter	8%	33%	17%	50%

siych wskazań do podawania antybiotyku i to nie tylko w oddziale intensywnej terapii, ale przede wszystkim w innych oddziałach Szpitala, a szczególnie w oddziałach zabiegowych.

Niemniej ważnym i trudnym do rozwiązania problemem jest oporność na antybiotyki z grupy aminoglikozydów [8] (Tab. IV). Chociaż antybiotyki aminoglikozydowe nie są stosowane w monoterapii spełniają ważną rolę w leczeniu skojarzonym głównie w zakażeniach wywołanych przez pałeczki Gram-ujemne. Wśród nich oporność na antybiotyki 13-laktamowe bywa skojarzona z opornością na aminoglikozydy. Głównie problem ten dotyczy gentamycyny, najmniejszy jednak procent szczepów opornych jest na amikacynę. W naszym oddziale od 3 lat ograniczyliśmy zastosowanie aminoglikozydów, a z niektórych z nich zrezygnowaliśmy zupełnie. Pomimo tego wzrost wrażliwości na gentamycynę jest bardzo powolny.

DYSKUSJA

Olbrzymim problemem są zakażenia wywołane przez szczepy wielooporne bakterii Gram dodatnich: szczepy metycylinooporne, których głównym rezerwuarem są ludzie oraz szczepy z rodzaju *Enterococcus*. W przypadku ziarenkowców oporność na metycylinę oznacza również oporność na wszystkie antybiotyki B-laktamowe a bardzo często również na makrolidy klindamycynę, tetracykliny, (z

wyjątkiem minocykliny) aminoglikozydy chloramfenicol a nawet chinolony [4, 5]. Coraz trudniejsze do leczenia stają się zakażenia wywołane przez wielooporne szczepy *Enterococcus faecium*. W obu tych przypadkach lekami z wyboru w ciężkich zakażeniach są antybiotyki glikopeptydowe. Pozostawiając pierwszeństwo wankomycynie do terapii zakażeń MRSA i MR CNS. Natomiast teikoplanina wydaje się być skuteczniejsza w zakażeniach spowodowanych przez *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* [5, 14].

Wzrost izolacji tych szczepów z materiału klinicznego, a co za tym idzie wzrost zakażeń, powoduje wzrost zużycia antybiotyków. Co w niedługim czasie może doprowadzić do izolacji szczepów opornych na oba te antybiotyki [8] W naszym oddziale jak dotąd takich szczepów nie izolowano, (szczepy takie izolowano już na świecie – gronkowca złocistego o zmniejszonej wrażliwości na wankomycynę określane jako VISA [5, 7], szczepy o umiarkowanej i dużej oporności na teikoplaninę, a także szczepy *Enterococcus faecium* oporne na wankomycynę [4, 7, 9].

Taki wzór wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki szczepów izolowanych z materiałów klinicznych może być przerażający, gdyż wniosek nasuwa się sam, iż niezbyt odległy jest czas gdy żaden ze stosowanych antybiotyków nie zadziała i nie będzie w stanie wspomóc chorego w walce z chociażby najbliższym zakażeniem.

Jedną z głównych przyczyn tego zjawiska

jest niekontrolowane stosowanie antybiotyków o szerokim spektrum, które w rezultacie doprowadza do indukcji oporności. I bez względu na sposób powstawania tej oporności, czy jest to mutacja, nabywanie genów ze środowiska, czy selekcja szczepów naturalnie opornych, które nabyły cech zjadliwości sprawia iż szczepy stają się wielooporne.

Znając mechanizmy oporności na antybiotyki, a przede wszystkim pamiętając o tym w codziennej praktyce szpitalnej trzeba ograniczyć występowanie tego zjawiska, ograniczając zużycie antybiotyków.

Oddział Intensywnej Terapii działa w ściśle określonej strukturze szpitala i przyjmuje pacjentów z tegoż szpitala. W większości przypadków leczonych już antybiotykami, często bez wcześniejszych posiewów, bez znajomości flory bakteryjnej oddziału i jej antybiotykowrażliwości, bez analizy skuteczności leczenia celowanego. Dlatego też pacjenci Ci są przyjmowani do OIT gdy rozwijające się zakażenie powoduje niewydolność narządową. Spadek liczby badań bakteriologicznych jest zjawiskiem bardzo niepokojącym. Oszczędzanie środków finansowych przez oddziały na badaniach bakteriologicznych jest bardzo pozorne, gdyż wielokrotna antybiotykoterapia i leczenie zakażeń powoduje wzrost kosztów.

Trzeba pamiętać, iż antybiotykoterapia jest tylko fragmentem terapii, czasami bardzo małym, chociaż niezwykle istotnym. Podawanie antybiotyków tak jak podawanie innych leków jest obarczone występowaniem działań niepożądanych. Czasami bardzo trudno ustrzec się interakcji między podawanymi lekami. Wreszcie może się okazać iż szczep wrażliwy *in vitro* jest klinicznie oporny (*in vivo*).

Szybkie rozprzestrzenianie się różnych mechanizmów oporności, czynniki ryzyka związane z pacjentem, oraz cechy biologiczne bakterii stwarzają możliwość zakażenia szczepami wieloopornymi, w których nasze działa-

nia terapeutyczne są bardzo ograniczone.

Dlatego też w obecnej dobie najważniejszym wydaje się zapobieganie rozprzestrzeniania się szczepów patologicznych, a przede wszystkim wieloopornych.

WNIOSKI

1. Obecnie w naszym oddziale nie możemy nadal stosować monoterapii przeciwko tym szczepom, a konieczne jest stosowanie kilku antybiotyków np. Piperacylina/Tazo- bactam, Ciprofloxacyna i Amikacyna.

2. Przestrzeganie zasad reżimu sanitarnego może w najbliższej przyszłości znacząco zmniejszyć liczbę zakażeń (8).

PIŚMIENNICTWO

1. Bulanda M., Siewierska M., Heczko P.B. Postacie kliniczne zakażeń szpitalnych Nowa Medycyna 11/98, s. 7-16
2. D'Agata E.M., Venkataraman L., DeGirolami P. Colonization with broad-spectrum cephalosporin-resistant Gram-negative bacilli in intensive care units during a nonoutbreak period: Prevalence, risk factor, and rate of infection. Critical Care Medicine 1999, 27, 1090-1095
3. Dierżanowska D. Antybiotykoterapia w zakażeniach szpitalnych Zakażenia szpitalne, Red. Dierżanowska D., Jeljaszewicz J., a-medica press 1999, s. 557-561
4. Dierżanowska D. Oporność bakterii na antybiotyki Zakażenia szpitalne, Red. Dierżanowska D., Jeljaszewicz J. a-medica press 1999 s. 42-51.
5. Dierżanowska D. Rola antybiotykkoopornych gronkowców (MRSA) w zakażeniach szpitalnych, Terapia 1998, nr 3, s.16-19
6. Gniadkowski M. Beta-laktamazy u pałeczek Gram ujemnych Mikrobiologia Medycyna Nr 2 (11) 1997 s. 17-24
7. Hryniewicz W. Antybiotykkooporność. Medycyna po dyplomie 1998 vol. 7 Nr 10 s. 29-38

8. Hryniewicz W. Problemy oporności na antybiotyki u najczęstszych patogenów szpitalnych *Nowa Medycyna* 1998 nr 11 s. 3-7
9. Kawalec M., Hryniewicz W. Oporność enterokoków na aminoglikozydy i glikopeptydy - podstawy biologiczne i znaczenie kliniczne - *Nowa Klinika* 1999 vol. 6 No 5, s. 520-523
10. Łysenko L. Przyczyny i sposoby zwalczania zakażeń wewnątrz oddziału intensywnej terapii 1998 VIII konferencja szkoleniowo-naukowa *Anestezjologia i Intensywna Terapija lat 90* - materiały s. 5-27
11. Maciejewski D. Oddziały intensywnej terapii Zakażenia szpitalne, Red. Dierżanowska D. Jeljaszewicz J. *α-medica press* 1999 s. 373-395.
12. Stefaniuk E. Pałeczki *Acinetobacter* sp. Nowy wielooporny czynnik etiologiczny zakażeń szpitalnych, *Nowa Klinika* 1999 vol. 6 No 5 s. 529-531
13. Zaręba T. Hryniewicz W. Kliniczne znaczenie zakażeń *Enterococcus* sp., *Nowa Medycyna* 1997 nr 4 s. 30-33
14. Zeckel M.L. A closer look at Vankomycin, Teikoplanin and Antimicrobial Resistance *Journal Chemotherapy* 1997, 9 s. 311-335

LEKOOPORNE INFEKCJE W GINEKOLOGII I PERINATOLOGII

Longin Marianowski

I Katedra i Klinika Położnictwa i Ginekologii AM w Warszawie Kierownik: prof, dr hab. med. Longin Marianowski

Streszczenie. Lekooporność stanowi coraz większy problem w klinicznych dziedzinach zabiegowych, a więc także w ginekologii i perinatologii. W związku z nadużywaniem leków antybakteryjnych coraz częściej mamy do czynienia z trudnymi do opanowania infekcjami zarówno w przebiegu zakażeń pooperacyjnych jak i w przypadku infekcji u noworodków i kobiet ciężarnych. Przedstawiona praca stanowi przegląd piśmiennictwa dotyczącego tego zagadnienia.

Summary. Antimicrobial drug resistance seems to be more and more important problem in current gynaecology and perinatology. The wide use of antibiotics led to frequent incidence of difficult to treat infections in patient who underwent gynaecological surgery, in neonates and pregnant women. Presented paper review literature concerning above problem.

Lekooporne infekcje w położnictwie i ginekologii stanowią złożony i trudny klinicznie problem. Szerokie stosowanie antybiotyków, wielokrotnie bez uzasadnionych wskazań powoduje narastanie lekooporności szczepów bakteryjnych. Szczególne nasilenie tego zjawiska ma miejsce w zakładach leczenia zamkniętego. Związane jest to ze znacznie częstszym stosowaniem antybiotyków, w przypadkach ciężko przebiegających infekcji, a w oddziałach zabiegowych jako profilaktyka zakażeń pooperacyjnych. Szczególnym wskazaniem do stosowania leków przeciwbakteryjnych w położnictwie jest zagrażający poród przedwczesny. Jest to jedna z najczęściej występujących patologii ciąży i w większości przypadków jej przyczyną jest czynnik infekcyjny. Stosowanie więc chemioterapii stanowi w tym przypadku niezbędne leczenie przyczynowe. Innym, stanowiącym zagrożenie dla matki i płodu przypadkiem w patologii ciąży jest sytuacja, w której dochodzi do przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. U ciężarnych, u których dochodzi do PROM w cią-

ży niedonoszonej, to jest przed okresem, w którym płód osiąga zdolność do życia oraz wydolność oddechową, stosowanie antybiotykoterapii, jako profilaktyki wstępującego zakażenia wewnątrzmacicznego płodu jest niezbędne dla przedłużenia trwania ciąży i dla zwiększenia szans przeżycia dla dziecka. Pozwala również na uniknięcie powikłań infekcyjnych w przebiegu porodu u matki.

Tak więc we współczesnym położnictwie i ginekologii istnieje wiele wskazań do szerokiego stosowania antybiotykoterapii, niemniej jednak istnieje wciąż problem nadużywania tych leków bez uzasadnionych wskazań, bądź też stosowanie antybiotyków o zbyt szerokim spektrum działania bez oceny lekowrażliwości bakterii.

Jeśli chodzi o czynniki patogenetyczne infekcji w położnictwie i ginekologii to należy zwrócić uwagę na fakt, że w większości przypadków są to zakażenia bakteriami identycznymi jak te znajdujące się w pochwie. Możemy mieć więc do czynienia zarówno z infekcjami patogenami tlenowymi jak i beztleno-

wymi i najczęściej są to infekcje mieszaną florą bakteryjną.

W warunkach fizjologicznych pochwa zasiedlona jest całym szeregiem różnych bakterii zarówno bytującymi w warunkach tlenowych jak i beztlenowych. Do najczęściej izolowanych gatunków tlenowych należą: ziarniaki Gram-dodatnie (*Staphylococcus*, *Streptococcus*), pałeczki Gram-dodatnie (*Lactobacillus*, wzrastający warunkowo również w warunkach beztlenowych), oraz pałeczki Gram-ujemne (*E. coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*).

Spośród bakterii beztlenowych izolowanych w warunkach fizjologicznych z pochwy należy wymienić: ziarniaki Gram-dodatnie (*Peptococcus* i *Peptostreptococcus*), pałeczki Gram-dodatnie (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*), pałeczki Gram- -ujemne (*Prevotella spp.*) oraz ziarniaki Gram- ujemne (*Yeillonella spp.*).

W warunkach fizjologicznych utrzymanie prawidłowej biocenozy pochwy zależne jest od pewnej równowagi ilościowej między tymi bakteriami oraz gatunkiem *Lactobacillus*. W sytuacji, w której dochodzi do zaburzenia tej równowagi dochodzi do klinicznego zapalenia pochwy, a następnie do infekcji wstępującej, obejmującej cały narząd płciowy, a nawet w niektórych przypadkach całą miednicę mniejszą. W przypadku infekcji u kobiety ciężarnej istnieje duże ryzyko powstania zakażenia jaja płodowego, wewnątrzmacicznej infekcji płodu, porodu przedwczesnego, przedwczesnego pęknięcia błon płodowych i innych powikłań.

Jednym z częściej występujących patogenów odpowiedzialnych za zakażenia w okresie okołoporodowym zarówno matek jak i noworodków są gronkowce.

Jeśli chodzi o zakażenia gronkowcowe metycylooporne to wiadomo jest, że oporność ta związana jest z występowaniem w ich ścianie komórkowej odmiennego niż w innych przypadkach białka wiążącego penicyliny:

PBP2a. Obecność tego białka uzależniona jest od genów chromosomalnych. Spośród wszystkich grup antybiotyków beta laktamowych gronkowce charakteryzują się naturalną opornością na amidynopenicyliny, temocylinę i aztreonam. W pozostałych przypadkach wysoka aktywność bakteriobójcza antybiotyków uległa znacznej redukcji z powodu produkcji beta-laktamaz pochodzenia plazmidowego.

Aktualnie 80–90% gronkowców może produkować beta laktamazę pochodzenia plazmidowego. Szczepy te odporne są na penicylinę, ale wrażliwe na metycylinę, nafcycylinę i penicyliny izoksazolilowe.

Wykazano, że w przypadku zakażeń gronkowcowych – koagulazo-ujemnych w oddziałach intensywnej terapii noworodkowej w 50% przypadków izolowano szczepy odporne na erytromycynę, Linkomycynę, tobramycynę, gentamycynę, kanamycynę tetracykliny oraz penicyliny. Stwierdzono również, że wysoki odsetek tych szczepów opornych jest na kilka antybiotyków równocześnie. W 92% izolowane szczepy wrażliwe były na vankomycynę, co wskazuje na zasadność stosowania tego leku w przypadku zakażeń tymi patogenami.

Kolejnym patogenem posiadającym bardzo duże znaczenie w położnictwie i ginekologii są paciorkowce. W celu zapobiegania zakażeń paciorkowcami głównie z grupy B zalecano do niedawna stosowanie ampicyliny, we wszystkich przypadkach przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, jako terapii wspomagającej leczenie zagrażającego porodu przedwczesnego.

Obecnie uważa się (Towers 1998), że szerokie stosowanie tego leku może być odpowiedzialne za występowanie wczesnej posocznicy paciorkowcowej (paciorkowce z innych grup) u noworodków, odpornej na leczenie tym antybiotykiem.

W związku z przytoczonymi danymi wydaje się, że należałoby stosować w tych przypadkach inny antybiotyk z grupy antybioty-

ków beta laktamowych. Istnieje jednak grupa kobiet, u których nie można ich podawać, ze względu np. na reakcję uczuleniową. W tym przypadku leczeniem z wyboru jest erytromycyna lub klindamycyna. Niestety w badaniach przeprowadzonych przez Pearlmana wykazano, że ok. 15% izolowanych paciorkowców wykazuje oporność w stosunku do erytromycyny a 16% w stosunku do klindamycyny.

Kolejną ważną przyczyną powikłań okresu perinatalnego obserwowanych u kobiet ciężarnych w położu oraz u noworodków są zakażenia pałeczkami Gram-ujemnymi z grupy *Enterobacteriaceae*. W przypadku tych bakterii obserwowana jest naturalna oporność na penicylinę G oraz penicyliny izoksazolilowe. Amidynopenicyliny wykazują aktywność wobec tych bakterii, co związane jest z ich zdolnością do wiązania z PBP2 (*penicilin binding protein*).

Jeśli chodzi o cefalosporyny, to ich aktywność w stosunku do bakterii z grupy *Enterobacteriaceae* wzrasta wraz z ich generacją. Natomiast aż 70% pałeczek wykazuje oporność na ampicylinę. Dopiero preparaty skojarzone z inhibitorami beta-laktamaz (sulbactamem lub kwasem klawulanowym) wykazują skuteczność wobec tych szczepów. Skuteczność antybiotyków beta laktamowych aktywnych wobec tych bakterii zależy od rodzajów, gatunków, a nawet szczepów w obrębie gatunków należących do tej rodziny. Również w Polsce na przestrzeni lat obserwuje się narastanie oporności na te antybiotyki. Częstość występowania szczepów opornych różni się w obrębie krajów, regionów, szpitala, oddziału a nawet próbki materiału pobranego do badania.

W ostatnich latach zaobserwowano zjawisko narastania oporności na niektóre antybiotyki beta laktamowe w trakcie kuracji pacjentów. Ostatnio opisano również szereg nowych beta-laktamaz, o rozszerzonym profilu substratowym, obejmującym często cefalosporyny III generacji oraz imipen.

Kolejnym ważnym patogenem, głównie z kolei w przypadkach ginekologicznych (u chorych po operacjach brzusznych) jest *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Acinetobacter*. Wszystkie szczepy wykazują oporność w stosunku do penicyliny, ampicyliny, cefalosporyn I i II generacji. Wrażliwość na cefalosporyny III generacji może być w tych przypadkach zmienna. Filie i współpracownicy wykazali w 1998 roku, że u pacjentek poddanych operacji w oddziałach akademickich ok. 20% szczepów *Pseudomonas* wykazuje oporność na imipen, podczas gdy w przypadku pacjentów przyjmowanych ambulatoryjnie 0 połowę mniej. Wskazuje to na wagę problemu nabywania oporności szczepów szpitalnych.

Obecnie ocenia się, że najwyższą skuteczność wobec tych patogenów spośród cefalosporyn III generacji wykazuje ceftazidim. Ważne jest również to, że w przypadku stosowania tego leku istnieje mniejsza szansa nabycia oporności przez bakterie niż w przypadku imipenu i ciprofloxacyny.

W przypadku zakażeń Gram ujemnymi bakteriami beztlenowymi leczeniem z wyboru są cefalosporyny II i III generacji. Liczne odporne szczepy na ampicylinę odzyskują wrażliwość na skojarzone jej preparaty z inhibitorami beta-laktamaz.

Bardzo częstą przyczyną zapalenia pochwy u kobiet - schorzenia istotnego nie ze względu na jego ciężkość, a ze względu na częstość występowania i skłonności do nawrotów. Spinillo i współpracownicy wykazali, że w większości przypadków nawracających infekcji grzybiczych wywoływane one są szczepami *Candida glabrata*, opornymi na standardowe leczenie przeciwgrzybicze. Wykazał on, że w prawie 8% są one odporne na pochodne imidazolowe. W większości przypadków tych infekcji nie dochodzi do uogólnienia ze względu na to, że u pacjenta ze sprawnym układem immunologicznym, mechanizmy odpowiedzi nieswoistej, są w stanie ograniczyć proces zapalny.

Rozwój antybiotykoterapii na przestrzeni ostatnich 70 lat pozwolił na skuteczne leczenie większości zakażeń. Narastanie oporności związane ze zbyt częstym stosowaniem tych leków powoduje dalsze poszukiwania nowych syntetycznych antybiotyków o coraz szerszym spektrum działania.

W przypadku antybiotyków beta-laktamowych różnice w ich spektrum działania zależne są w głównym stopniu od różnic w strukturze cząsteczek. Ważne jest również ich powinowactwo do białek wiążących penicyliny, które stanowią punkt uchwytu w komórkach bakteryjnych. Kolejnym bardzo istotnym czynnikiem warunkującym spektrum działania tych antybiotyków jest ich wrażliwość bądź też stabilność na beta laktamazy wytwarzane przez bakterie oraz częstość występowania oporności naturalnej i nabytej wśród bakterii.

Oporność bakterii wobec antybiotyków beta laktamowych zależna jest od obecności plazmidów i transpozomów. Dużo rzadziej jest pochodzenia chromosomalnego. W większości przypadków oporność ta przejawia się wytwarzaniem beta-laktamaz. Oporność bakterii na antybiotyki beta-laktamowe związana jest też niekiedy ze zmianami w składzie ilościowym i jakościowym w białkach PBP (*penicillin binding proteins*) co następuje w wyniku mutacji genowych. Najrzadszą przyczyną narastania oporności bakterii na antybiotyki beta-laktamowe są zmiany przepuszczalności błony zewnętrznej bakterii dla tych antybiotyków.

W wielu przypadkach oporności bakterii na szeroko stosowane antybiotyki w zakażeniach w ginekologii, lekiem drugiego rzutu jest imipen. Antybiotyk ten nie ulega hydrolizie przez większość ze znanych beta-laktamaz. Wykazuje on wysoką aktywność bakteriobójczą wobec pałeczek Gram-ujemnych, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides* oraz bakterii Gram-dodatnich. Oporność na imipen szczepów szpitalnych zależna jest od plazmidów lub/i transpozomów. W niewielu

przypadkach oporność ta jest pochodzenia chromosomalnego.

Kolejną grupą leków szeroko stosowaną w infekcjach narządów płciowych są antybiotyki aminoglikozydowe. Naturalna oporność na te antybiotyki występuje wśród ziarniaków Gram-dodatnich i rodzajów *Streptococcus* i *Enterococcus*. Wykazują one działanie bakteriobójcze wobec bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych w tym wobec pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*. Niestety obserwuje się stałe narastanie oporności na te antybiotyki. Oporność ta warunkowana jest enzymatyczną inaktywacją antybiotyków przez: acetylotransferazy, adenylotransferazy i fosfotransferazy pochodzenia plazmidowego. Rzadko oporność ta uwarunkowana jest zmianą przepuszczalności antybiotyków przez struktury powierzchniowe bakterii.

Na podstawie danych literaturowych oraz doświadczeń własnych należy jeszcze raz podkreślić jak poważny problem stanowią lekooporne infekcje w położnictwie i w ginekologii.

Nie można zapominać, że powszechne stosowanie profilaktyki antybiotykowej zakażeń lekami o szerokim spektrum działania powoduje narastanie oporności szczepów szpitalnych w podobnym stopniu jak szerokie stosowanie tych leków w infekcjach bez wcześniejszego badania lekowrażliwości, co uniemożliwia wybór leków skutecznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Bhutta Z. Neonatal infections. *Curr Opin Pediatr* 1997, 9: 133-140.
2. Dahms R, Johnson E., Statz C., Lee J., Durni D., Beilman G. Third-generation cephalosporins and vancomycin as risk factors for postoperative vancomycin-resistant enterococcus infection. *Arch Surg* 1998, 133: 1343-1346.
3. De-Sutter Ph., Amy J. Postoperative infections in obstetrics and gynaecology. *Contemp Rev Obstet Gynaecol* 1995, 7: 239-243.

1. Filie M., Bauemfcind A., Eberlein E., Jun- gwirth R., Schneider I., Speer G., Dierich M., Allerberger F Imipenem resistance in Pseu- domonas aeruginosa. Wien Klin Wochenschr 1997,110:715-720.
2. Gyssens I. Preventing postoperative infections. Current treatment recommendations Drugs 1999,57/2: 175-185.
3. Henry-Suchet J., Tannous W. Medical management of chronic Chlamydia trachomatis salpingitis resistant to usual antibiotics. Use of ofloxacin alone or combined with other an- ti-chlamydia antibiotics. Contracept Fertii Sex 1993,21: 627-9.
4. Leszczyński P., Meisel-Mikolajczyk F., Dwor- czynska M., Cwyl-Zembrzuska L., Marianow- ski L. Occurrence of Bacteroides fragilis strains in full term and post term pregnancies. Gi- nekol Pol. 1995, 66: 324-9.
5. Sadów K., Derr R., Teach S. Bacterial infections in infants 60 days and younger:
6. Epidemiology, resistance, and implications for treatment Arch Pediatr Adolesc Med significance of drug resistance in vulvovaginal candidiasis. Gynecol Obstet Invest 1994, 38: 130-3.
8. Szumala A., Szczapa J., Kornacka M. Incidence and antibiotic resistance of coagulase-neg- ative staphylococci in a neonatal intensive care arc unit. Ginekol Poi 1994, 65: 368-71.
9. Tan T., Mason E., Barson W., Wald E., Schut- ze G., Bradley J., Arditi M., Givner L., Yogev R., Kwang-Sik-Kim, Kaplan S. Clinical characteristics and outcome of children with pneumonia' attributable to penicillin-susceptible and penicillin- nonsusceptible Streptococcus pneumoniae. Pediatrics 1998, 102 : 1369-1375.
10. Towers C., Carr M., Padiiia G., Asrat T. Potential consequences of widespread antepar- tal use of ampicillin. Am J Obstet Gynecol. 1998,179: 879-83.
11. Wiesenfeid H., Heine R. The use of once- daily dosing of gentamicin in obstetrics and gynecology. Infect Dis Obstet Gynecol. 1998, 6: 155-9.
12. Zambrano D. Recent advances in antibiotic

ANTYBIOTYKOOPORNE SZCZEPY *ACINETOBACTER BAUMANNII* WYSTĘPUJĄCE W POLSCE

Eugenia Gospodarek

Katedra i Zakład Mikrobiologii Akademii Medycznej w Bydgoszczy Kierownik:
prof. dr hab. Z. Dudziak

Grzegorz Ziółkowski Pracownia Mikrobiologii Klinicznej

Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego nr 5 im. św. Barbary w Sosnowcu
Kierownik: dr n. med. Grzegorz Ziółkowski

Streszczenie. Celem pracy była ocena wrażliwości pałeczek A. baumannii na antybiotyki oraz porównanie tych wyników z dwóch ekosystemów. Identyfikację gatunkową przeprowadzono przy pomocy API 20NE. Ocenę wrażliwości na antybiotyki przeprowadzono metodą krążkowo-dyfuzyjną. Wśród 1334 szczepów pałeczek Ad-netobacter sp., szczepy z gatunku A. baumannii stanowiły 86,0%. Ponad 96% szczepów pałeczek A. baumannii izolowano od chorych leczonych w szpitalu. Wszystkie szczepy były wrażliwe na imipenem. Różnice w odsetkach między szczepami A. baumannii wrażliwymi na antybiotyki izolowanymi w dwóch ekosystemach wynosiły od 1 do 47%. Szczepy A. baumannii wyodrębnione w Bydgoszczy były znamienne częściej wrażliwe niż szczepy izolowane w Sosnowcu na tykarcylinę z kwasem klawulanowym, piperacylinę z tazobaktamem, cefoksytynę, cefamarulol, ceftriakson, cefotaksym, ceftazydym, cefoperazon, aztreonam, amikacynę, netylmocynę, chinolortyl (p <0,0001), kotrimoksazol (p <0,001), tobramycynę, tetracyklinę (p <0,01) i tykarcylinę (p <0,02).

U 74,1% szczepów A. baumannii stwierdzono oporność na 10 i więcej antybiotyków.

W pracy oceniono wrażliwość 1127 szczepów pałeczek *Acinetobacter baumannii* na antybiotyki oraz porównano wyniki tej oceny z dwóch ekosystemów. Wszystkie szczepy były wrażliwe na imipenem. Ponad 74% szczepów było opornych na 10 i więcej antybiotyków. Szczepy *A. baumannii* wyodrębnione w Bydgoszczy były znamienne częściej wrażliwe niż szczepy izolowane w Sosnowcu.

WSTĘP

Postęp w medycynie wpływa na kształtowanie zależności między drobnoustrojami

i wzrost znaczenia w zakażeniach szpitalnych „nowych” patogenów. W ostatnich latach szczególnie rosnącego znaczenia w zakażeniach szpitalnych nabrały pałeczki z rodzaju *Acinetobacter* (1, 5, 15). Zakażenia te głównie dotyczą układu oddechowego, moczowego oraz ran chirurgicznych. Pałeczki *Acinetobacter sp.* stają się szczególnie ważnymi bakteriami na oddziałach intensywnej terapii (OIT) (4, 5). W większości przypadków zakażenia powodowane są przez szczepy grupy DNA 2, 3 i 13, spośród których *A. baumannii* ma największe znaczenie (1, 4, 7, 9).

W licznych doniesieniach udokumentowano wysokie tempo wzrostu oporności pa-

ważk *Acinetobacter sp.* na antybiotyki (1,6, 8, 9, 11, 15, 27, 28, 30). Niektóre szczepy są wrażliwe na szeroko-zakresowe cefalosporyny, aminoglikozydy i fluorochinolony. Najbardziej, czasem jedynie aktywnymi antybiotykami wobec pałeczek *Acinetobacter sp.* są karbapenemy i polimyksyny (1, 9, 27, 30).

Celem pracy była ocena wrażliwości pałeczek *A. baumannii* na antybiotyki oraz porównanie tych wyników dla szczepów wyosobnionych z dwóch ekosystemów.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 1334 szczepy pałeczek *Acinetobacter sp.* wyizolowane z materiałów klinicznych, ze środowiska szpitalnego. W Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Akademii Medycznej w Bydgoszczy (AM) izolowano 714 szczepów. Pozostałe szczepy otrzymano z niektórych laboratoriów mikrobiologicznych w Polsce, w większości z Pracowni Mikrobiologii Klinicznej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego nr 5 im. św. Barbary w Sosnowcu (SOS).

Identyfikację gatunkową przeprowadzono przy pomocy API 20NE (bioMérieux). Odczytu wyników dokonywano w systemie komputerowym ATB Expression (bioMérieux) z zastosowaniem bazy danych wersji V 2.4.7.

Ocenę wrażliwości pałeczek *A. baumannii* na antybiotyki przeprowadzono na podłożu Mueller-Hinton 2 Agar (bioMérieux) metodą krążkowo-dyfuzyjną. Stosowano krążki z ampicyliną (10µg), ampicyliną z sulbaktamem (10+10µg), amoksycyliną z kwasem klawulanowym (20+10µg), tykarcyliną (75µg), tykarcyliną z kwasem klawulanowym (75+10µg), piperacyliną (100µg), piperacyliną z tazobaktamem (100+10µg), cefoksytyną (30µg), cefuroksymem (30µg), cefamandolem (30µg), ceftriaksonem (30µg), cefotaksymem (30µg), ceftazydymem (30µg), cefoperazonem (30µg), aztreonamem (30µg),

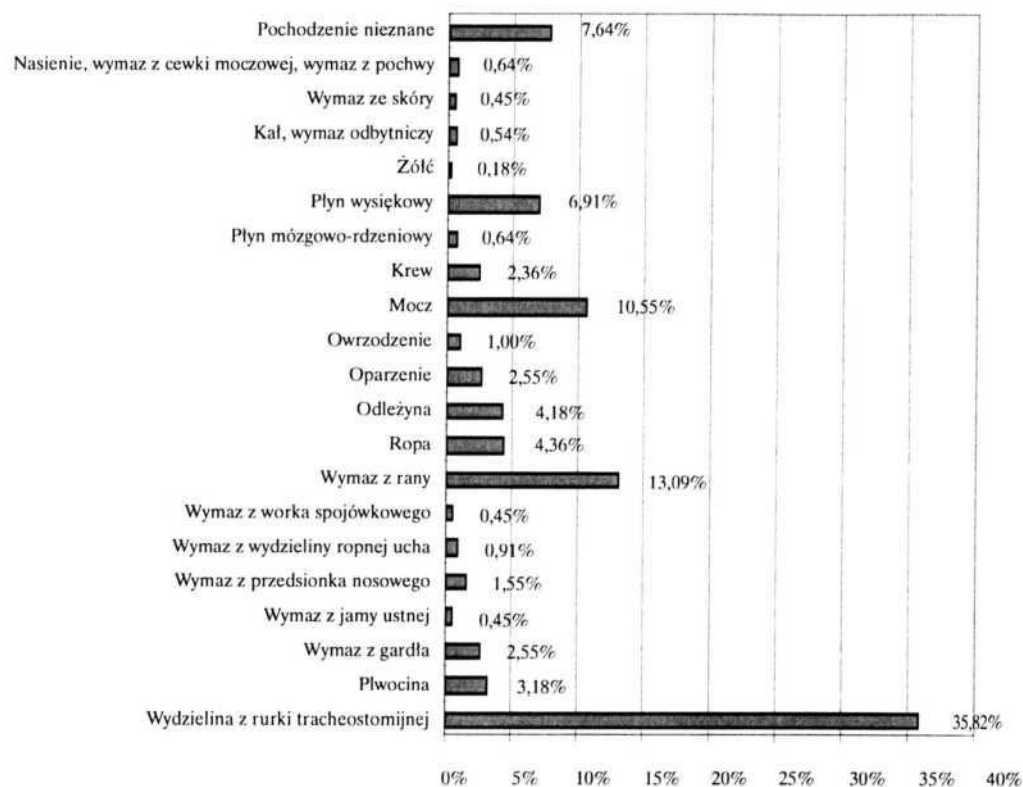
imipenemem (10µg), gentamycyną (10µg), tobramycyną (10µg), amikacyną (30µg), netylmycyną (30µg), norfloksacyną (10µg), pefloksacyną (5µg), ofloksacyną (5µg), cyprofloksacyną (5µg), tetracykliną (30µg), nitroksoliną (30µg), kotrimoksazolem (trimetoprim + sulfametoksazol (1,25+23,75µg) (BBL, bioMérieux, Oxoid). Odczyty prowadzono po 18–20 h inkubacji w temperaturze 35°C, interpretując wyniki na podstawie wielkości stref zahamowania wzrostu jako wrażliwy, średnio wrażliwy, oporny według aktualnie obowiązujących opracowań NCCLS (22).

Porównanie frakcji przeprowadzono stosując statystykę U (24). Statystyka U jest podstawą do weryfikacji hipotezy o równości frakcji i służy do wyznaczania istotności p. W pracy jako poziom istotny statystycznie przyjęto $p \leq 0,05$.

WYNIKI

Wśród 1334 szczepów pałeczek *Acinetobacter sp.*, szczepy z gatunku *A. baumannii* stanowiły 86,0%. Spośród 1100 szczepów klinicznych 35,8% wyodrębniono z wydzieliny pobranej z rurek tracheostomijnych, 13,1% z wymazów z ran, w 10,6% z moczu, w 6,9% z płynów wysiękowych. Szczegółowe wyniki tej analizy przedstawia ryc. 1. Szczepy z gatunku *A. baumannii* izolowano głównie od chorych leczonych w OIT (60,3%), w dalszej kolejności od chorych leczonych w oddziałach chirurgicznych (9,5%) i w oddziałach chorób wewnętrznych (7,5%) (ryc. 2). Spośród 53 szczepów pochodzących z nieożywionego środowiska szpitalnego szczepy *A. baumannii* stanowiły 50,9%, a ze środowiska pozaszpitalnego – 76,9%.

Wszystkie szczepy były wrażliwe na imipenem. Wśród 1127 szczepów *A. baumannii* pochodzących od chorych i ze środowiska szpitalnego najwięcej było wrażliwych na ni-



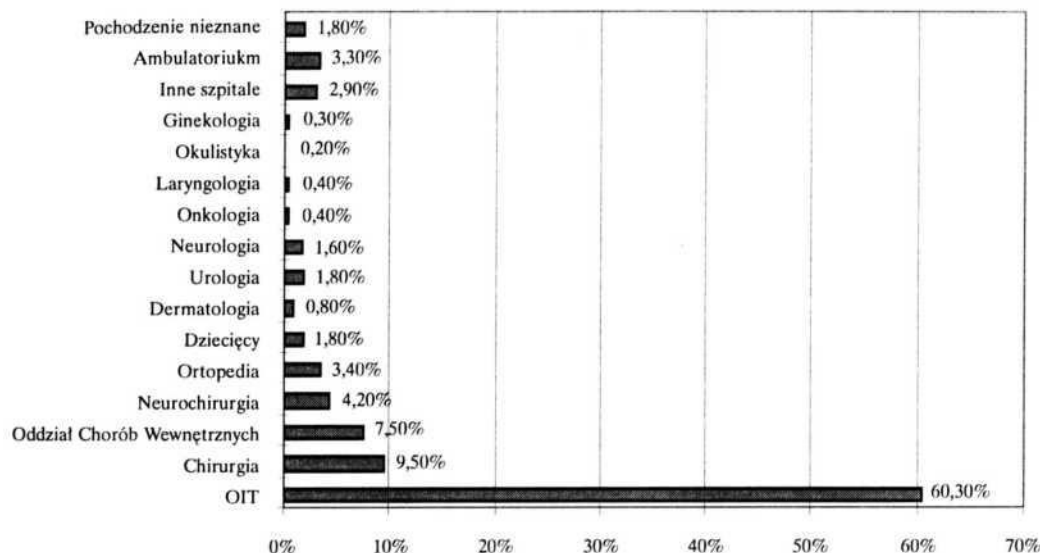
Ryc. 1. Szczepy *Acinetobacter baumannii* (n = 1100) wyosobnione z materiałów diagnostycznych

troksolinę (99,7%), netylmycynę (85,6%) i ampicylinę z sulbaktamem (76,8%). Wykryto ponad 57% szczepów wrażliwych na ofloksacynę i cyprofloksacynę. Szczegółowe ujęcie wyników tej oceny ilustruje ryc. 3.

Różnice w odsetkach między szczepami *A. baumannii* wrażliwymi na antybiotyki izolowanymi w AM a szczepami wyodrębnionymi w SOS wynosiły od 1 do 47% (ryc. 4). Wśród szczepów z AM, 78,2% było wrażliwych na ofloksacynę, natomiast z SOS - 31,3%. W grupie szczepów z AM stwierdzono 43,8% wrażliwych na ceftazydym, a z SOS - 29,3%. Na netylmycynę było wrażliwych 92,2% szczepów *A. baumannii* z AM i 77,7% szczepów z SOS. Szczegółowe zestawienie wyników tego porównania

nie uwzględnia ryc. 4. Szczepy *A. baumannii* wyodrębnione w AM były znacznie częściej wrażliwe niż szczepy izolowane w SOS na tykarcylinę z kwasem klawulanowym, piperacylinę z tazobaktamem, cefoksytyną, cefamandol, ceftriakson, cefotaksym, ceftazydym, cefoperazon, aztreonam, amikacynę, netylmycynę, chinolony ($p < 0,0001$), kotrimoksazol ($p < 0,001$), tobramycynę, tetracyklinę ($p < 0,01$) i tykarcylinę ($p < 0,02$).

U 74,1% szczepów *A. baumannii* stwierdzono oporność na 10 i więcej antybiotyków. Średnia liczba antybiotyków nieaktywnych wobec pałeczek *A. baumannii* wynosiła 14.



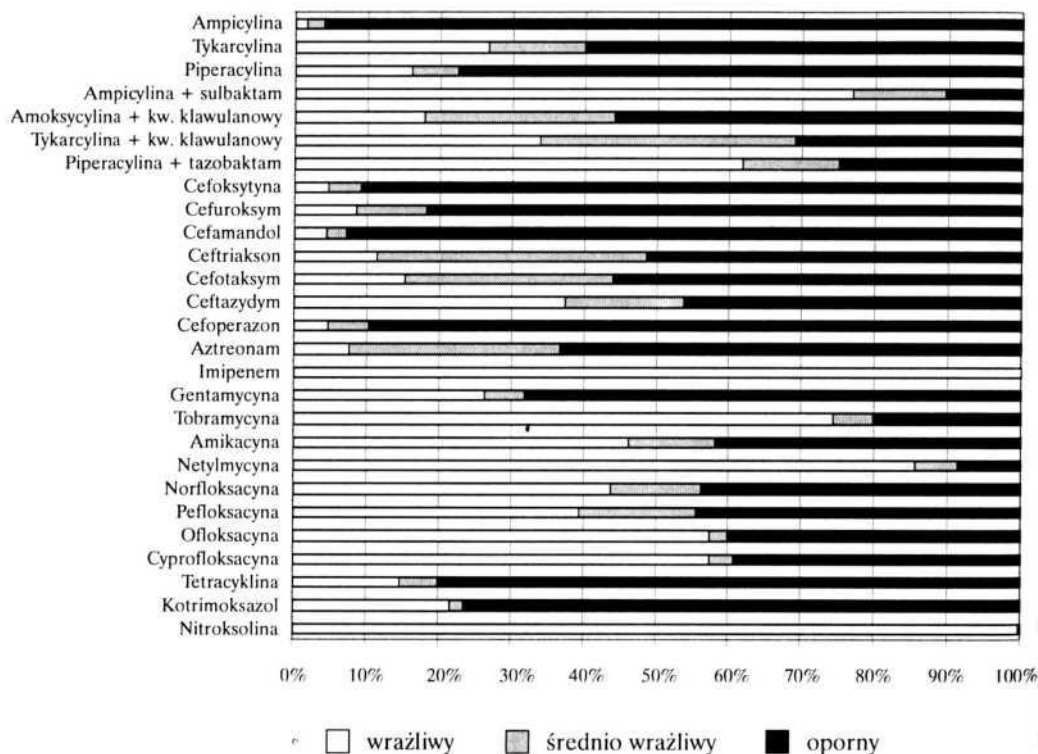
Ryc. 2. Szczepy *Acinetobacter baumannii* ($n = 1127$) wyosobnione od pacjentów i ze środowiska szpitalnego

DYSKUSJA

Pałeczki z rodzaju *Acinetobacter* choć rozpowszechnione są w przyrodzie i przez szereg lat uznawane za niechorobotwórcze dla człowieka, szczególnego znaczenia w zakażeniach szpitalnych nabrały w ostatnich latach (1, 9, 11). Znaczenie tych bakterii u człowieka w związku z jego pobytom w szpitalu potwierdziły otrzymane wyniki. Tylko 3,3% szczepów pochodziło od chorych leczonych ambulatoryjnie. Nie wykluczone, że chorzy ci byli wcześniej hospitalizowani. Otrzymane wyniki potwierdziły wcześniejsze, również własne spostrzeżenia (9, 11, 15), że pałeczki *A. baumannii* najczęściej izolowane są z materiałów z dróg oddechowych, materiałów ropnych, z wymazów z ran oraz z moczu. Z piśmiennictwa (1, 4, 14, 23) wynika, że pałeczki *A. baumannii* głównie pochodzą od chorych leczonych w OIT oraz w oddziałach chirurgicznych, dziecięcych i neurochirurgicznych. Przedstawione wyniki wykazały, że pałeczki te wyod-

rębniane są najczęściej od chorych leczonych w OIT, oddziałach chirurgicznych i oddziałach chorób wewnętrznych. Ma to zapewne związek ze stosowaniem inwazyjnych metod diagnostycznych i leczniczych, a także niezbędnej pielęgnacji i antybiotykoterapii empirycznej.

Rosnące zużycie antybiotyków sprzyja selekcji i rozprzestrzenianiu się w środowisku szpitalnym szczepów pałeczek *Acinetobacter sp.* o wielorakiej oporności (1). Stanowi to główny problem w leczeniu zakażeń z ich udziałem. Wszystkie szczepy *A. baumannii* były wrażliwe na imipenem. Według wielu ocen (1, 9, 27, 29) karbapenemy są najbardziej aktywnymi antybiotykami wobec pałeczek *Acinetobacter sp.*, choć pojawiają się szczepy odporne (2, 8, 10, 21, 27). W stosunku do nitroksoliny stwierdzono 99,3% szczepów wrażliwych. W piśmiennictwie brak danych odnośnie wrażliwości na ten chemioterapeutyk. Z uwagi na imponująco szybkie tempo wzrostu oporności na antybiotyki u pałeczek *Acinetobacter sp.* i rosnące zna-

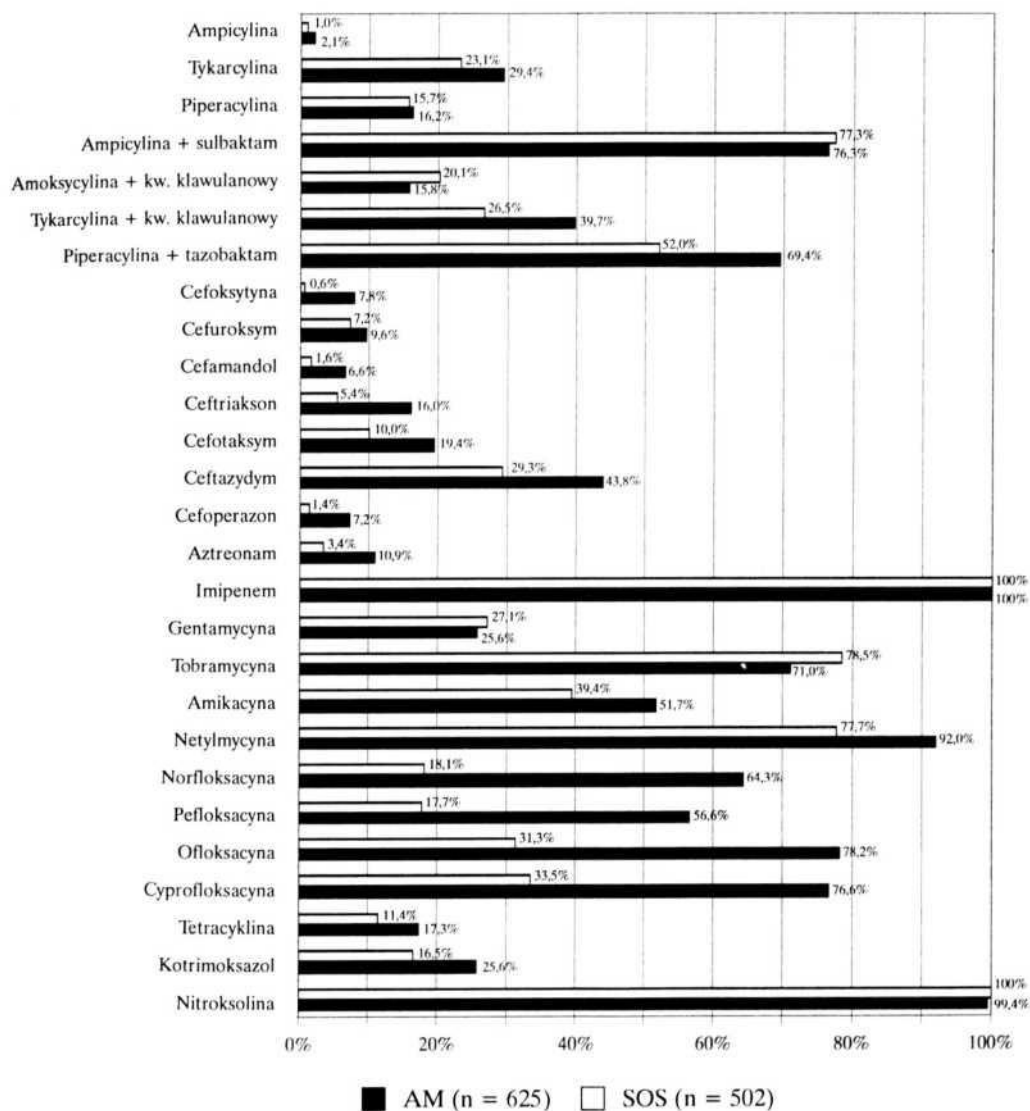


Ryc. 3. Wrażliwość na antybiotyki 1127 szczepów *Acinetobacter baumannii* wyizolowanych od pacjentów i ze środowiska szpitalnego

czenie tych bakterii w zakażeniach, w tym w zakażeniach układu moczowego, koniecznością staje się poszukiwanie nowych opcji terapeutycznych.

U pałeczek *Acinetobacter sp.* opisano poznane dotąd mechanizmy oporności na antybiotyki β -laktamowe, tj. wytwarzanie β -laktamaz, zmianę białek wiążących penicyliny oraz ograniczoną penetrację przez struktury powierzchniowe (1, 20). W badaniach własnych wykazano, że pałeczki *Acinetobacter sp.* zwykle były odporne na β -laktamy, a wpływ inhibitorów na zahamowanie aktywności hydrolitycznej β -laktamaz był zróżnicowany. Z zastosowanych 3 inhibitorów, sulbaktam najskuteczniej hamował aktywność β -laktamaz. Podobne wyniki

otrzymali inni autorzy (6, 30). Sulbaktam ma słabą aktywność wobec cefalosporynazy, ale jest aktywny wobec pałeczek *Acinetobacter sp.* (16), podobnie jak tazobaktam (29). Z piśmiennictwa (13, 30) wynika, że od 75% do 98% pałeczek *Acinetobacter sp.* wytwarza cefalosporynazy. Spośród zastosowanych cefalosporyn, najaktywniejszy był ceftazydym. Jest to zapewne związane z większą opornością tego antybiotyku na hydrolizę β -laktamaz pałeczek *Acinetobacter sp.* niż pozostałych cefalosporyn. Choć pałeczki *Acinetobacter sp.* wytwarzają β -laktamazy (13, 17, 18), przypuszcza się, że błona zewnętrzna może stanowić barierę w penetracji antybiotyków (20, 25) w związku z obecnością w niej niewielkiej



Ryc. 4. Wrażliwość na antybiotyki 1127 szczepów *Acinetobacter baumannii* wyizolowanych z dwóch ekosystemów

liczby kanałów porynowych wykazujących dodatkowo mały rozmiar w porównaniu z kanałami innych bakterii. Błona zewnętrzna może odgrywać ważną rolę w wydzielaniu β -laktamaz, które mogą być gromadzone w przestrzeni peryplazmatycznej

i mogą być wydzielane kiedy dochodzi do ich nadprodukcji.

W Niemczech aminoglikozydy są nieaktywne wobec *A. baumannii* (27). We Francji (1) stwierdzano najczęściej szczepy odporne na wszystkie aminoglikozydy, a najbardziej

aktywna wobec *J. baumannii* była netylmycyna (50%) i amikacyna (40%). W Hiszpanii (30) notowano 72% szczepów wrażliwych na amikacynę, 66% na netylmycynę, 50% na tobramycynę oraz 35% na gentamycynę. Wyniki własne wskazują, że najczęściej szczepów było wrażliwych na netylmycynę (85,6%), tobramycynę (74,4%), mniej na amikacynę (46,2%) i gentamycynę (26,3%). Oporność bakterii na aminoglikozydy najczęściej związana jest z obecnością enzymów modyfikujących te antybiotyki (1). Nie zawsze jednak obecność enzymów tłumaczy oporność na aminoglikozydy. Aktywności enzymatycznej nie wykazano u 19% szczepów opornych na aminoglikozydy (30).

Według badań przeprowadzonych w Niemczech (27, 29) i we Francji (12) odsetek szczepów opornych na fluorochinolony wynosił od 20 do 80%. Wyniki własne wskazują, że ponad 57% szczepów było wrażliwych na ofloksacynę i cyprofloksacynę oraz 43,7% na norfloksacynę i 39,3% na pefloksacynę. Mikrobiolodzy w Hiszpanii (30) odnotowali, że cyprofloksacyna (70%) i ofloksacyna (72%) były również bardziej aktywne niż norfloksacyna (18%). Nie wykluczone, że zmiany w białkach błony zewnętrznej warunkują oporność na chinolony u pałeczek *Acinetobacter sp.* Zatem celowe wydają się badania nad rozwojem mechanizmów oporności na fluorochinolony u pałeczek *Acinetobacter sp.*

Mikrobiolodzy w Japonii w 1985 roku (19), w Niemczech w 1989 roku (29)

i w Hiszpanii w 1993 roku (30) stwierdzili, że doksyicyklina obok imipenemu była najaktywniejszym antybiotykiem wobec pałeczek *Acinetobacter sp.* Z przeprowadzonych badań wynika, że tylko 14,6% szczepów było wrażliwych na tetracyklinę. Niewiele szczepów było również wrażliwych na kotrimoksazol (21,6%), który w Niemczech został oceniony jako aktywny lek wobec pałeczek

Acinetobacter sp. (29). Różnice we wrażliwości pałeczek *Acinetobacter sp.* na antybiotyki w różnych krajach oraz w ośrodkach w Polsce, co wykazano w niniejszej pracy, mogą wynikać ze stosowania różnych antybiotyków w profilaktyce i leczeniu zakażeń.

Z badań Joly-Guillou i wsp. (14) przeprowadzonych w 1990 roku wynika, że 53% szczepów było opornych na 9 i więcej antybiotyków. Wyniki własne wskazują, że ponad 74% analizowanych szczepów było opornych na 10 i więcej antybiotyków. Według danych przedstawionych w 1995 roku (wg 1) w Anglii 36% pacjentów zmarło z powodu zakażeń z udziałem pałeczek *Acinetobacter sp.* o wielorakiej oporności. Podobne obserwacje odnotowali mikrobiolodzy niemieccy (26). Z kolei w Danii (7), gdzie od lat prowadzi się racjonalną antybiotykoterapię i kontrolę zakażeń, z powodu zakażenia układowego z udziałem pałeczek *Acinetobacter sp.* umiera tylko 1–2 na 111 pacjentów.

Z racji rosnącego znaczenia pałeczek *A. baumannii* w zakażeniach szpitalnych i ich wielorakiej oporności na antybiotyki, istnieje potrzeba ewidencjonowania i uaktualniania danych o tych bakteriach z różnych ośrodków w Polsce. Mogą one służyć opracowaniu programów szpitalnej polityki antybiotykowej.

WNIOSKI

Pałeczki *A. baumannii* izolowano z różnych materiałów diagnostycznych, najczęściej z materiałów z dróg oddechowych, z wymazów z ran i materiałów ropnych oraz z moczem chorych leczonych w oddziałach intensywnej terapii, oddziałach chirurgicznych i w oddziałach chorób wewnętrznych.

Ponad 96% szczepów pałeczek *A. baumannii* izolowano od chorych leczonych

w szpitalu. Nie wykluczone, że pozostałe szczepy pochodziły od chorych wcześniej hospitalizowanych.

Imipenem, nitroksolina, ampicylina z sulbaktamem, ofloksacyna, cyprofloksacyna i netylmocyna były najaktywniejszymi antybiotykami wobec badanych szczepów *A. baumannii*.

Niskie odsetki szczepów wrażliwych na β -laktamy (wyjątek karbapenemy i ampicylina z sulbaktamem), gentamycynę, pefloksacynę, tetracyklinę i kotrimoksazol sugerują wyeliminowanie tych antybiotyków z leczenia empirycznego zakażeń z udziałem pałeczek *A. baumannii*.

Analizowane pałeczki *A. baumannii* w większości były szczepami o wielorakiej oporności.

Różnice we wrażliwości na antybiotyki między szczepami *A. baumannii* izolowanymi z różnych ekosystemów mogą być związane ze stosowaniem różnych antybiotyków w profilaktyce i leczeniu zakażeń.

PIŚMIENNICTWO

- Bergogne-Bérézin E., Joly-Guillou M.L., Towner KJ. *Acinetobacter*. Microbiology, epidemiology, infections, management. CRC Press Inc, New York 1996.
- Clark RB. Imipenem resistance among *Acinetobacter baumannii*: association with reduced expression of a 33-36 kDa outer membrane protein. *J Antimicrob Chemother* 1996, 38: 245-251.
- Crowe M., Towner K.J., Humphreys H. Clinical and epidemiological features of an outbreak of *acinetobacter* infection in an intensive therapy unit. *J Med Microbiol* 1995, 43: 55-62.
- Dijkshoorn L., van Dalen R., van Ooyen A. i in. Endemic *acinetobacter* in intensive care units; epidemiology and clinical impact. *J Clin Pathol* 1993, 46: 533-536.
- Fleischer M., Przondo-Mordarska A. Występowanie gatunków rodzaju *Acinetobacter* w materiale od chorych i w środowisku szpitalnym. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 1993, 45: 213-217.
- García-Arata M.I., Alarcón T, López-Brea M. Emergence of resistant isolates of *Acinetobacter calcoaceticus-A. baumannii* complex in spanish hospital over a five-year period. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1996,15: 511-515.
- Gerner-Schmidt P., Frederiksen W. *Acinetobacter* in Denmark. I. Taxonomy, antibiotic susceptibility, and pathogenicity of 112 clinical strains. *APMIS* 1993, 101: 815-825.
- Go S.E., Urban C., Burns J. i in. Clinical and molecular epidemiology of *acinetobacter* infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet* 1994, 344: 1329-1332.
- Gospodarek E. Wrażliwość na antybiotyki i biochemiczna aktywność szczepów *Acinetobacter* sp. izolowanych z różnych źródeł. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 1993, 45: 331-337.
- Hornstein M., Sautjeau-Rostoker C., Peduzzi J. i in. Oxacillin-hydrolyzing β -lactamase involved in resistance to imipenem in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol. Lett* 1997, 153: 333-339.
- Johnson D.R., Love-Dixon M.A., Brown W.J. i in. Delayed detection of an increase in resistant *Acinetobacter* at a Detroit hospital. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1992, 13: 394-398.
- Joly-Guillou M.L., Bergogne-Bérézin E. In vitro activity of sparfloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin and temafloxacin against clinical isolates of *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 1992, 29: 466-468.
- Joly-Guillou M.L., Bergogne-Berezin E., Philippon A. Distribution of 13-lactamases and phenotype analysis in clinical strains of *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antimicrob Chemother* 1988, 22: 597-604.
- Joly-Guillou M.L., Bergogne-Berezin E., Vieu J.F. A study of the relationships between antibiotic resistance phenotypes,

- and B-lactamase inhibitors, alone or associated, against clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: effect of combination with aminoglycosides. *J Antimicrob Chemother* 1995, 36: 619-629.
16. Labia R., Morand A., Lelievre V. i in. Sulbactam: biochemical factors involved in its synergy with ampicillin. *Rev Infec Dis* 1986, 5: 496-502.
 17. Morohoshi T., Saito T. Beta-lactamase and beta-lactam antibiotic resistance in *Acinetobacter anitratus* (syn. *A. calcoaceticus*). *J Antibiotic* 1977, 30: 969-973.
 18. Morohoshi T., Yamanaka K., Usui T. Susceptibility to antibiotics in *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antibiotics Res Assoc* 1989, 42: 138-140.
 19. Obana Y., Nishino T., Tanino T. In vitro and in vivo activities of antimicrobial agents against *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antimicrob Chemother* 1985, 15: 441-448.
 20. Obara M., Nakae T. Mechanisms of resistance to B-lactam antibiotics in *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antimicrob Chemother* 1991, 28: 791-800.
 21. Paton R.H., Miles R.S., Hood J. i in. ARI-1: Beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. In *J Antimicrob Agents* 1993, 2: 81-88.
 22. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Sixth Edition, Approved Standard. NCCLS Document M2-A6. 1997.
 23. Riley T.V., Webb S.A.R., Cadwallader H. i clinical, epidemiological and microbiological features. *Pathol* 1996, 28: 359-363.
 24. Sachs L. Applied statistics. Springer-Verlag, New York 1984.
 25. Sato K., Nakae T. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 1991, 28: 33-45.
 26. Seifert H., Baginsky R., Schulze A., i in. The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralbl Bakteriol* 1993, 279: 544-552.
 27. Seifert H., Baginsky R., Schulze A. i in. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* 1993, 37: 750-753.
 28. Struelens M.J., Carlier E., Maes N. i in. Nosocomial colonisation and infection with multiresistant *Acinetobacter baumannii*: outbreak delineation using DNA macrorestriction analysis and PCR-fingerprinting. *J Hosp Infect* 1993, 25: 15-32.
 29. Traub W.H., Spohr M. Antimicrobial drug susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter* species (*A. baumannii*, *A. haemolyticus*, genospecies 3, and genospecies 6). *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33: 1617-1619.
 30. Vila J., Marcos A., Marcos F. i in. In vitro antimicrobial production of β -lactamases, aminoglycoside-modifying enzymes, and chloramphenicol acetyltransferase by and susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993, 37: 138-141.

LEKOOPORNE ZAKAŻENIA PRZENOSZONE DROGĄ PŁCIOWĄ

Sławomir Majewski, Beata Młynarczyk

Instytut Wenerologii Akademii Medycznej w Warszawie

Dyrektor Instytutu Wenerologii: Prof, dr hab. med. Sławomir Majewski

Streszczenie Omówiono problem lekoopornych zakażeń przenoszonych drogą płciową. Szczegółowo przedstawiono współczesne problemy oporności dwoinek rzeżączki na leczenie antybiotykami. W ostatnich latach obserwuje się w świecie coraz więcej przypadków oporności dwoinek rzeżączki nie tylko na penicylinę ale również na inne antybiotyki, w tym cefalosporyny, spektynomycynę i fluorochinolony. Konieczne jest ciągle monitorowanie lekooporności dwoinek rzeżączki, szczególnie w populacji polskiej gdzie obecnie z wyboru stosuje się penicylinę.

Summary The problem of sexually transmitted drug resistant infections is discussed with a special emphasis to recent findings on antibiotic-resistant Neisseria gonorrhoeae. In the last years one can observe an increased resistance of Neisseria gonorrhoeae not only to penicillin, but also to new generation of antibiotics, including fluoroquinolones and cephalosporins. It is necessary to control drug-resistance of gonococcal strains in polish population since in Poland penicilin is still commonly used for treatment of gonorrhoea.

Według danych WHO w ostatnim czasie notuje się rocznie około 350–400 mln przypadków nie wirusowych zakażeń przenoszonych drogą płciową (*sexually transmitted infections*, STI) (2). Większość z nich (ponad 3/4) występuje w krajach rozwijających się. Najczęściej stwierdza się zakażenia *Trichomonas vaginalis* (ok. 50%), *Chlamydia trachomatis* (ok. 25%), *Neisseria gonorrhoeae* (ok. 20%) i *Treponema pallidum* (ok. 4%). Do najczęstszych wirusów przenoszonych drogą płciową należą wirusy brodawczaka (ponad 100 mln nowych zakażeń rocznie), wirusy opryszczki (około 80 mln zakażeń) oraz wirus HIV (kilka milionów nowych zakażeń rocznie) (2). Spośród STI największy problem lekooporności stanowią zakażenia *N.gonorrhoeae* wywołujące rzeżączkę oraz zakażenia HIV.

Rzeżączka jest jedną z najczęstszych chorób przenoszonych drogą płciową (*sexually transmitted disease*, STD) i rocznie w Euro-

pie i USA rejestruje się około 3 mln nowych przypadków. Nieleczona, lub leczona nieprawidłowo rzeżączka prowadzi do wielu powikłań, w tym do stanów zapalnych w obrębie miednicy mniejszej i niepłodności. Szacuje się, że w USA koszty leczenia rzeżączki i powikłań wynoszą około 2 mld dolarów rocznie. Jednym z istotnych powodów wystąpienia powikłań rzeżączki jest lekooporność *Neisseria gonorrhoeae*.

Specyfika leczenia rzeżączki polega m.in. na tym, że jest ona rozpoczynana natychmiast po rozpoznaniu zakażenia na podstawie stwierdzenia gram-ujemnych gonokoków w granulocytach obojętnochłonnych wydzieliny pobranej z dróg moczowo-płciowych lub z innych miejsc (9). Postępowanie takie, jak również profilaktyczne leczenie kontaktów ma na celu zapobieganie epidemicznemu szerzeniu się tej choroby. Stosowanie leku pierwszego rzutu (z wyboru) musi być w związku z tym oparte na znajomości

aktualnej sytuacji w zakresie lekooporności gonokoków w danej populacji w danym obszarze geograficznym. Ma to ogromne znaczenie w przypadku tzw. „importowanej rzeżączki” gdzie do zakażenia doszło w innej strefie geograficznej (15). W wielu krajach wprowadzono narodowe programy monitorowania lekooporności gonokoków, gdyż tego typu kontrola mikrobiologiczna stanowi skuteczne narzędzie nadzoru i pozwala na wczesne wdrożenie nowych zaleceń terapeutycznych (przyjmuje się, że należy rekomendować zmianę leku I rzutu jeśli oporność przekroczy 5% izolowanych szczepów).

Pierwszą skuteczną grupą leków w rzeżączce były wprowadzone w latach trzydziestych sulfonamidy. W ciągu kilkunastu lat doszło jednak do powstania tak dużej lekooporności na sulfonamidy, że zostały one zastąpione przez penicylinę. Początkowo, przez kilkanaście lat gonokoki były bardzo wrażliwe na penicylinę i w leczeniu rzeżączki wystarczająca była jednorazowa dawka 600000 j. Od końca lat pięćdziesiątych notowano ciągle zmniejszenie skuteczności małych dawek penicyliny i obecnie zaleca się w rzeżączce dawkę 4,8 mln jednostek penicyliny prokainowej z probenecydem (4). Pierwsze szczepy o udokumentowanej oporności na penicylinę wykryto w Wielkiej Brytanii i USA w 1976 roku (1, 12, 13). Dwoinki rzeżączki produkowały β -laktamazę (penicilinazę), enzym przerywający na drodze hydrolizy wiązania amidowe pierścienia laktamazowego w cząsteczce penicyliny, co powoduje całkowite zniesienie aktywności antybiotyku (7). Prawdopodobnie pierwsze szczepy produkujące β -laktamazę pojawiły się na Filipinach. W wyniku pojawiających się coraz częściej opornych dwoinek rzeżączki w 1976 roku WHO zaleciła laboratoriom wykrywanie i zgłaszanie tego typu szczepów. Do końca lat siedemdziesiątych wykryto oporność gonokoków w kilkudziesięciu krajach na całym świecie, zwłaszcza na Dalekim Wschodzie.

Również w Polsce, począwszy od 1978 roku stwierdza się szczepy dwoinek rzeżączki odporne na penicilinazę (16). Początkowo były to sporadyczne przypadki, a dopiero w 1988 roku stwierdzono w Instytucie Wenerologii występowanie licznych niepowodzeń leczenia rzeżączki penicyliną (do 18%). W związku z zagrożeniem wystąpienia epidemii rzeżączki β -laktamazododatniej wprowadzono rutynowe badania wszystkich hodowanych dwoinek *Neissera* w kierunku produkcji penicilinazy oraz szeroko zastosowano spektynomycynę. W wyniku podjętych działań uzyskano zmniejszenie odsetka szczepów opornych na penicylinę i w ostatnich kilkunastu latach stwierdza się ich mniej niż 5%. Utrzymujące się nadal zjawisko oporności dwoinek rzeżączki na β -laktamazę związane jest m.in. z szerokim stosowaniem doustnych penicylin.

W 1985 roku zanotowano także pierwsze przypadki oporności dwoinek rzeżączki na tetracykliny (3, 11, 14, 18). Mimo iż tetracykliny nie są zalecane jako monoterapia rzeżączki, są one jednak szeroko stosowane w wielu krajach rozwijających się. W roku 1989 oporność gonokoków na tetracykliny przybrała charakter epidemiczny i osiągnęła w Holandii 40% (19), co związane było z szerokim zastosowaniem tych antybiotyków w leczeniu nierzeżączkowych zapaleń cewki i innych chorób skóry (np. trądzika). Rok później w USA zanotowano również w ok. 40% przypadków oporności na penicylinę, tetracyklinę i spektynomycynę. Sytuacja ta spowodowała, że w 1993 roku CDC opracowało wytyczne leczenia niepowikłanej rzeżączki za pomocą cefalosporyn (np. cefixime 400 mg p.o. ceftriaxone 125 mg i.v.) lub fluorochinolonów (np. ciprofloxacyn 500 mg p.o., ofloxacyn 400 p.o.)(4)

Fluorochinolony w pojedynczej dawce są zazwyczaj skuteczne w leczeniu niepowikłanej rzeżączki, są dobrze tolerowane i stosunkowo tanie (5, 10). Od 1990 roku obserwuje

się jednak powolny wzrost oporności na fluorochinolony i doszło do znacznego zwiększenia MIC (minimal inhibitory concentration) z 1 g/L do 16 mg/L, zwłaszcza na Dalekim Wschodzie.

MOLEKULARNE PODŁOŻE OPORNOŚCI DWOINEK RZEŻĄCZKI NA ANTYBIOTYKI

W przypadku dwoinek rzeżączki wykazano, że oporność na antybiotyki ma charakter chromosomalny lub jest związana z plazmidem (7). Chromosomalna oporność na penicilinę związana jest z występowaniem addycyjnych mutacji w różnych loci: *penA*, *mtr* i *penB*. Mutacje genu *penA* kodującego białko wiążące penicilinę (penicilin-binding protein-2) zmniejszają powinowactwo peniciliny, genu *mtr*-wywołują usuwanie (efflux) antybiotyku z bakterii, a mutacje genu *penB* zmniejszają przepuszczalność błony komórkowej. Mutacje odpowiedzialne są także za oporność gonokoków w stosunku do cefalosporyn (np. ceftriaxonu), spektynomycyny i fluorochinolonów (6, 7, 8). Oporność na ceftriaxon związana jest z mutacjami zmieniającymi wiązanie się antybiotyku z rybosomami, a w przypadku oporności na fluorochinolony – z mutacjami genu kodującego enzym gyrazę DNA i topoizomerazę IV (17).

Oporność zależna od plazmidu odpowiedzialna jest za brak wrażliwości dwoinek rzeżączki na penicilinę (nawet w bardzo dużych dawkach); na tetracykliny i prawdopodobnie na inne antybiotyki (7). Wykazano, że istnieją dwa typy plazmidów: o masie 3.2 MDa (megadaltonów), który stwierdzono w Afryce i Anglii oraz o masie 4.4 MDa, który wyizolowano w krajach Dalekiego Wschodu i USA (7). W części przypadków szczepów izolowanych w Azji stwierdzono także obecność bardzo dużego plazmidu o masie 24.5 MDa, pozwalającego na przenoszenie plazmidu o masie 4.4

MDa. Należy podkreślić, że w drodze koniunkcji może dochodzić do wymiany plazmidów pomiędzy gonokokami i innymi bakteriami.

W ostatnich latach bardzo niepokojące jest pojawienie się szczepów dwoinek rzeżączki opornych na antybiotyki nowej generacji (6, 20). Jest bardzo znamienne, że problem rzeżączki odpornej na leczenie fluorochinolonami bardzo przypomina sytuację sprzed lat kiedy epidemicznie wystąpił spadek lub brak wrażliwości dwoinek rzeżączki na penicilinę. Pierwsze przypadki oporności na fluorochinolony zostały stwierdzone na Filipinach i należy się spodziewać, że brak wrażliwości na te leki stanie się wkrótce problemem w USA i w Europie.

Dlatego też ważne jest aby w rzeżączce nie stosować niższych niż zalecane dawek fluorochinolonów (tzn. 500 mg ciprofloksacyny lub 400 mg ofloksacyny). Fluorochinolony nie powinny być stosowane u osób, które mogły zakazić się dwoinkami rzeżączki w krajach Azji i Zachodniego Pacyfiku.

Należy pamiętać, że konieczny jest w naszym kraju stały nadzór epidemiologiczny i mikrobiologiczny, gdyż w przypadku zwiększenia odsetka szczepów opornych na penicilinę powyżej 5% będzie konieczne wdrożenie innych antybiotyków do leczenia rzeżączki. Wydaje się, że w przyszłości szerzej będzie stosowana spektynomycyna, gdyż dotychczas nie wykazano istotnej oporności dwoinek rzeżączki na ten antybiotyk.

PIŚMIENNICTWO

1. Ashford W.A., Golash R.G., Hemming V.G. Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. *Lancet* 1976; 2: 657-8
2. Came C. Recent advances: Sexually transmitted infections. *Br Med J* 1998; 317, 129-132
3. Centers for Disease Control. Tetracycline-resistant *Neisseria gonorrhoeae*-Georgia, Pennsylvania, New Hampshire. *MMWR* 1985; 34: 563-4, 569-70.

4. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *MMWR* 1993;42(RR-14):4-5
5. Crabbe F, Grobelaar TM, Van Dyck E, Dangor Y, Laga M., Ballard RC. Cefaclor, an alternative to third generation cephalosporins for the treatment of gonococcal urethritis in the developing world? *Genitourin Med.* 1997; 73:506-509
6. Handsfield H H, Whittington W.L. Antibiotic-resistant neisseria gonorrhoeae: the calm before another storm? *Ann Intern Med* 1996; 125:507-509.
7. Hawkey PM. The origins and molecular basis of antibiotic resistance *Br Med J* 1998; 317:657-660
8. Ison CA, Martin ICM, Susceptibility of gonococci isolated in London to therapeutic antibiotics: establishment of a London surveillance programme *Sex Transm Inf* 1999; 75:107-111
9. Jephcott A E Microbiological diagnosis of gonorrhoea *Genitourin Med* 1997;73:245-252
10. Jones R, Schwebke J, Thorpe E, Dalu Z A, Leone P., Johnson R Randomized trial of trovafloxacin and ofloxacin for single-dose therapy of gonorrhoea *Am J Med* 1998; 104:28-32
11. Knapp JS, Zenilman JM, Biddle J.W., Perkins GH, DeWitt WE, Thomas ML, Frequency and distribution in the United States of strains of *Neisseria gonorrhoeae*
12. Martin JE, Lester A, Price EV, Schmale JD, Comparative study of gonococcal susceptibility to penicillin in the United States, 1955-1969. *J Infect Dis* 1970;122:459-61.
13. Philips I. Beta-lactamase producing, penicillin-resistant gonococcus. *Lancet* 1976; 2:656-7.
14. Schwarcz SK, Zenilman JM, Schnell D, Knapp JS, Hook EW, Thompson S, National surveillance of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *JAMA* 1990;264:1413-7.
15. Sherrard J, Luzzi G, Edwards A. Imported syphilis and other sexually transmitted infections among UK travellers to Russia and Poland. *Genitourin Med* 1997;73:75.
16. Stapiński A, Mroczkowski TF, Dajek Z, Weyman-Rzucidło D, Hoffmann B. Pierwsze w Polsce zachorowania na rzeżączkę wywołaną przez *Neisseria gonorrhoeae* wytwarzającą penicylinazę *Przeg.Derm.*, 1979, 66:487-494
17. Tanaka M, Otsuki M, Nishino T, Kobayashi I, Matsumoto T, Kumazawa J. Mutation in DNA gyrase of norfloxacin-resistant clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* *Genitourin Med* 1996;72:295-297
18. Turner A, Gough K R, Leeming J P. Molecular epidemiology of tetM genes in *Neisseria gonorrhoeae* *Sex Transm Inf* 1999;75:60-66
19. Van de Laar MJW, Van Duynhoven YTHF, Dessens M., Van Santen M., Van Klingeren B. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the Netherlands, 1977-95 *Genitourin Med* 1997;73:510-517.
20. Weisfuse IB Gonorrhoea control and antimicrobial resistance *Lancet* 1998;351:928.

GRUŻLICA LEKOOPORNA W POLSCE. BADANIA EPIDEMIOLOGICZNE

Zofia Zwolska, Ewa Augustynowicz-Kopeć, Magdalena Klatt

Zakład Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Streszczenie Zjawisko oporności prątków na leki stanowi jeden z głównych problemów wyleczenia gruźlicy i jego monitorowanie jest jednym z najważniejszych elementów dobrze prowadzonych programów zwalczania gruźlicy. W 1994 r. WHO wspólnie z Międzynarodową Unią Przeciwgruźliczą rozpoczęła ewidencję gruźlicy lekoopornej w świecie. Polska przystąpiła do programu i przeprowadziła w 1997 r. pierwsze badania częstości występowania gruźlicy lekoopornej u chorych. Badania dotyczyły całego kraju i były wykonane w Laboratorium Referencyjnym we współpracy z regionalnymi laboratoriami prątka. Badano częstość występowania gruźlicy lekoopornej u chorych, którzy w okresie 12 miesięcy od 1 listopada 1996 r. do 1 listopada 1997 r. wydalali prątki gruźlicy, hodowane na pożywkach diagnostycznych i dla których wykonano testy lekowrażliwości wg. metody proporcji i w systemie Bactec na 4 główne leki: INH, RMP, SM i EMB. Analizę przeprowadzono u 3970 chorych potwierdzonych bakteriologicznie. Stosunek mężczyzn do kobiet wynosił 2,61: 1, wiek chorych był pomiędzy 6 a 83 lata. Większość chorych (86 % mężczyzn i 77 % kobiet) miała więcej niż 35 lat. Pierwotną oporność stwierdzono u 3,6 % chorych, z czego 2,4 % była zakażona szczepami opornymi na 1 lek. Nie znaleziono oporności pierwotnej na EMB. 18 chorych (0,6 %) było zakażonych prątkami wielolekoopornymi. Całkowita lekooporność w grupie nie leczonych przypadków była dla INH – 2,6 %, dla SM – 1,8 %, dla RMP – 0,7 % i dla EMB – 0,1 %. Nabytą w trakcie leczenia lekooporność stwierdzono u 17,0 % chorych. Większość z nich – 7,7 % wydalala szczepy odporne na 1 lek, 7,0 % – szczepy wielolekooporne. Całkowita lekooporność w grupie leczonych była dla INH – 14,8 %, dla SM 9,2 %, dla RMP – 7,8 % i dla EMB – 2,5 %. Nie znaleziono korelacji pomiędzy płcią chorych a częstością zakażeń prątkami pierwotnie lekoopornymi (3,7% mężczyzn i 3,3 % kobiet). Leczeni mężczyźni wydalali prątki lekooporne około 2,5 razy częściej niż kobiety (20 % versus 9,1 %). Średni wiek mężczyzn i kobiet wydalających prątki z lekoopornością pierwotną i wtórną był bardzo zbliżony.

Summary: Drug resistance is a major problem in the treatment of tuberculosis, and monitoring programmes are essential in control of this disease. In early 1994, the WHO's Global Tuberculosis programme joined forces with the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease and started the Global Project on Anti-tuberculosis Drug resistance Surveillance. Poland joined the WHO/IUATLD global project on DRT and carried out the first survey on drug resistance of TB patients in 1997. The programme covered the whole country, basing on cooperation between the National Reference Laboratory (NRL) with regional TB laboratories. Questionnaires and cultures were obtained from patients who excreted TB bacilli during the period from 1 November 1996 to 30 November 1997 (12 months). Drug susceptibility testing to INH, SM, EMB and RMP was performed on Lowenstein-Jensen medium according to the proportion method or/and radiometric Bactec 460 TB system. We included 3970 patients bacteriologically confirmed by culture in the one-year period study. The male to female ratio was 2,61 :1. The age of the patients were between 6 and 83 years. Majority patients (86 % males and 77 % of females) were older than 35 years. Primary resistance to any drug in new cases was found in 3,6 % of the patients, 2,4% of patients excreted monoresistant strains. No monoresistance to EMB have been found. 18 patients (0,6 %) were infected by MDR strains. Total resistance in new cases were for INH – 2,6 %, for SM – 1,8 %, for RMP – 0,7 % and for EMB – 0,1 %. Acquired resistance to any drug in treated cases was found in 17,0 % cases. Majority of cases – 7,7 % excreted monoresistant strains. 7,0 % were infected by MDR strains. Total resistance to INH was 14,8 %, to SM – 9,2 %, to RMP – 7,8 %, and to EMB – 2,5 %. No correlation was found between sex and primary resistance rates. Among new cases, 3,7 % of males and 3,3

% of females were infected with resistant strains. However, in the group treated cases, males (20 %) excreted resistant strains twice as much as females (9,1 %). Mean age of women and men infected primary and acquired resistant strains were very close.

Zbadano częstość występowania i wzory lekooporności prątków gruźlicy u 2976 nowo wykrytych i 994 leczonych chorych. Lekooporność pierwotną stwierdzono u 3,6 %, lekooporność nabytą u 17,0 % chorych. Oporność wielolekową stwierdzono w 0,6% i w 7,0% u nowo wykrytych i leczonych chorych odpowiednio. Mężczyźni i kobiety zakażeni byli prątkami pierwotnie lekoopornymi w podobnych odsetkach, podczas gdy lekooporność wtórna występowała 2,5 razy częściej u mężczyzn. Dominującą opornością wśród zbadanych szczepów była lekooporność na izoniazyd (INH).

WSTĘP

Znaczne pogorszenie się sytuacji epidemiologicznej gruźlicy w świecie stało się faktem i nie można już traktować tej choroby jako „choroby przeszłości”. Światowa Organizacja Zdrowia uznała gruźlicę jako zagrożenie dla zdrowia ludności w skali całego Globu. Skalę problemu gruźlicy w świecie określają następujące dane - 1/3 ludności świata tj. około 1700 mln ludności jest zakażona prątkiem gruźlicy i z tej grupy jeszcze przez wiele dziesiątek lat będą wywodzić się nowe zachorowania na gruźlicę. Wg szacunku WHO corocznie zapada na gruźlicę około 8 mln ludzi. Liczba zgonów spowodowanych gruźlicą osiągnęła poziom nie notowany dotąd w historii świata - 3 mln. rocznie. Gruźlica jest najczęstszym i największym pojedynczym zabójcą wśród chorób zakaźnych. Wzrostowi wszystkich zachorowań towarzyszy również znaczny wzrost zachorowań spowodowanych szczepami prątków gruźlicy opornymi na leki. Jakie są główne przyczyny stale pogarszającej się sytuacji epidemiologicznej gruźlicy w świecie? Do naj

ważniejszych należą: złe programy zwalczania choroby lub ich niedostateczna realizacja, lekceważenie problemu gruźlicy w krajach rozwiniętych, brak środków na leczenie choroby w krajach rozwijających się oraz rozprzestrzenienie się wirusa HIV. Wśród wymienionych czynników zjawisko lekooporności prątków jest uznane przez ekspertów WHO za jedną z ważniejszych przyczyn nasilenia gruźlicy współcześnie w świecie (10).

Oporność *Mycobacterium tuberculosis* na leki przeciwaprątkowe jest sztucznie wytworzoną amplifikacją naturalnie występującego zjawiska obecności komórek opornych w populacji bakteryjnej. Dzikie szczepy prątków gruźlicy, które nigdy nie były poddane ekspozycji na leki są naturalnie wrażliwe na tuberkulostatyki, z jednym wyjątkiem, dobrze udokumentowanej oporności *Mycobacterium bovis* na pyrazinamid (PZA). Niepodobnie do innych bakterii, cecha lekooporności nie jest przenoszona przez plazmidy lub transpozony (4). W czasie rozmnażania się prątków, oporność na leki rozwija się spontanicznie z częstością dobrze znaną dla poszczególnych leków. Mutacje genetyczne prowadzące do oporności na ryfampicynę (RMP) zdarzają się z częstością 10⁻¹⁰ podziałów komórkowych i prowadzą do lekooporności rzędu 1/108 w środowisku wolnym od leku. Dla INH częstość mutacji jest rzędu 10⁻⁷ do 10⁻⁹ podziałów komórkowych i prowadzi do lekooporności rzędu 1/106 komórek. W jamach gruźliczych populacja bakteryjna jest znaczna i zawsze jest większa niż 10⁷ prątków.

Genetyczna lekooporność powstaje spontanicznie w środowisku, w którym nie ma leku i jest tłumiona przez większość wrażliwych na lek komórek. Obecność leku powoduje selekcję komórek opornych, które zaczynają dominować, głównie w zmienionych



Ryc. 1. Liczba badanych chorych wg miejsca zamieszkania
Number of patients who participated in survey by residence

chorobowo tkankach, w których żyją miliony prątków. W populacji takiej, ekspozowanej na działanie tylko jednego leku (powodem mogą być przerwy w przyjmowaniu leków, niewłaściwe ich kojarzenie itp.) następuje zahamowanie rozmnażania się lekowrażliwych prątków, prowadząc do rozmnażania się komórek lekoopornych. To zjawisko nazywane jest **lekoopornością nabytą**. Transmisja prątków z lekoopornością powstała w trakcie leczenia do innych ludzi prowadzi do rozwoju gruźlicy, która jest lekooporna od początku zachorowania, a zjawisko nosi nazwę **lekooporności pierwotnej**.

Informacje o częstości występowania lekoopornej gruźlicy zarówno pierwotnej jak i nabytej w trakcie leczenia stanowią bardzo ważny element narodowych programów zwalczania choroby wskazując na odpowiedni lub niedostateczny nadzór nad nią. Polska przystąpiła do zainicjowanego przez WHO i IUATLD światowego programu badania częstości występowania gruźlicy lekoopornej i przeprowadziła

pierwsze, prospektywne badania lekooporności pierwotnej i nabytej u polskich chorych.

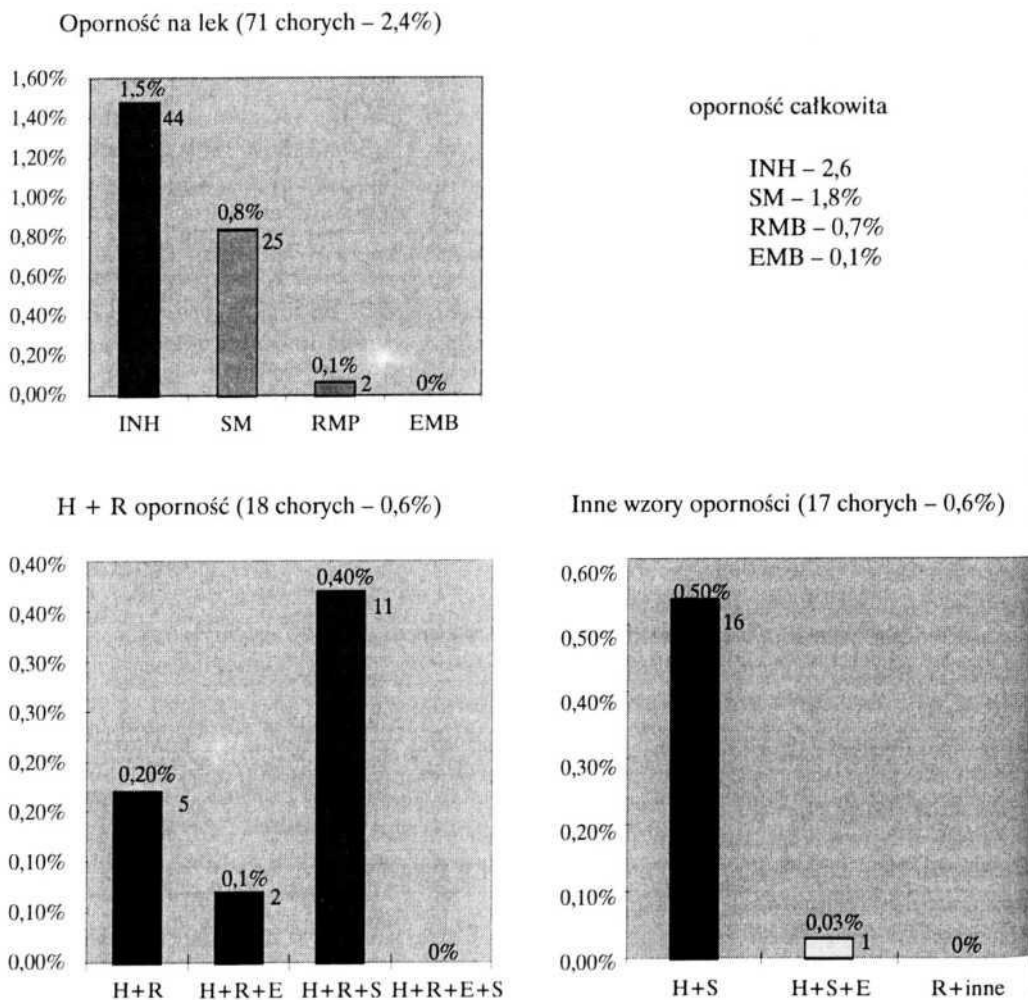
CEL PRACY

Celem pracy było zbadanie częstości występowania lekooporności pierwotnej i nabytej u szczepów *Mycobacterium tuberculosis* izolowanych od chorych kobiet i mężczyzn z różnych regionów Polski na cztery główne leki przeciwprątkowe: izoniazyd (INH), ryfampicynę (RMP), streptomycynę (SM), i etambutol (EMB). Badano wiek i płeć chorych oraz wzorę oporności wydalaných przez nich szczepów.

MATERIAŁY I METODY

1. Zbieranie danych epidemiologicznych

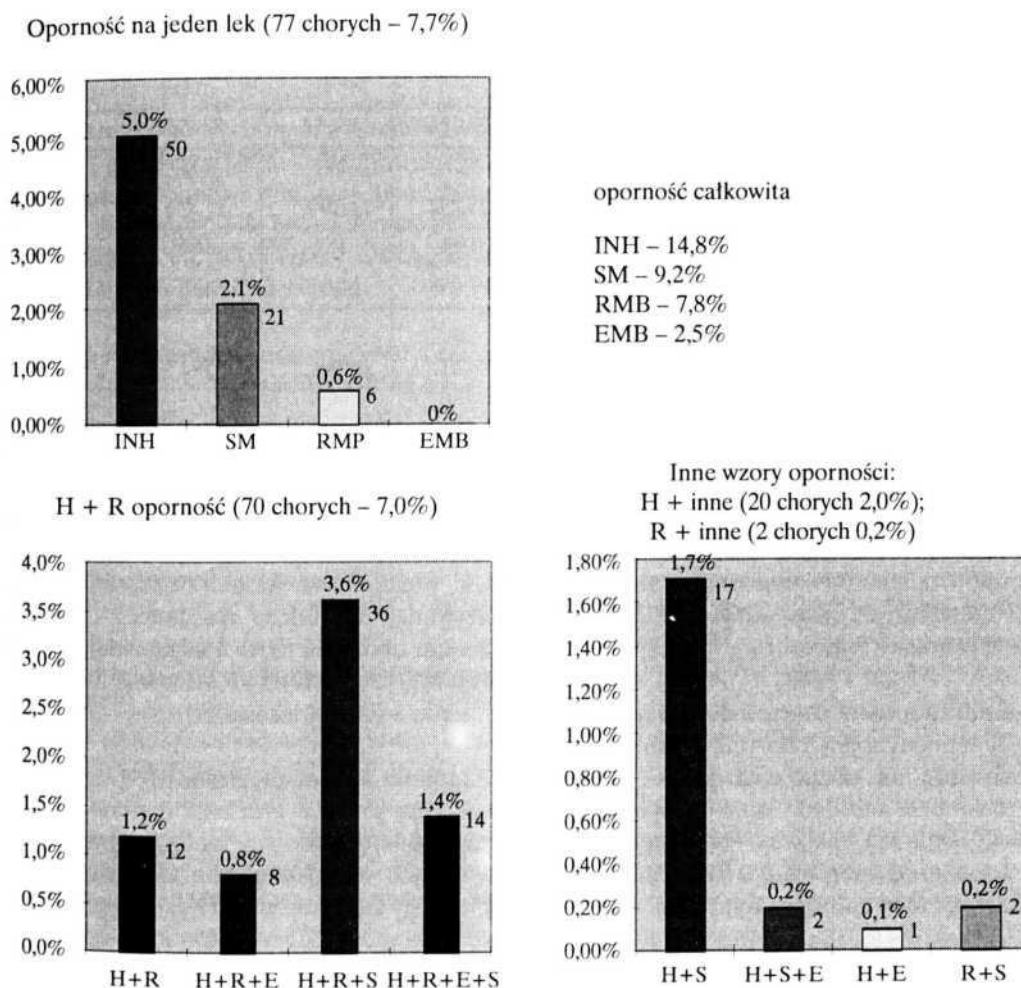
Badanie miało charakter prospektywny i opierało się na wynikach rutynowo prowadzonych badań bakteriologicznych w kraju.



Ryc. 2. Lekooporność pierwotna (3,6%). Wzory oporności
Primary resistance. Pattern of resistance

Badanie zostało przeprowadzone w Krajowym Referencyjnym Laboratorium Prątka - Zakładzie Mikrobiologii IGiChP w Warszawie we współpracy z regionalnymi laboratoriami mykobakteriologicznymi. Na podstawie kwestionariusza rekomendowanego przez WHO (1) przygotowano własny kwestionariusz zbierania danych o chorych. Składał się on z dwóch części - klinicznej, wy-

pełnianej przez lekarza i bakteriologicznej – wypełnianej przez kierownika laboratorium mikrobiologicznego. Zawierał on pytania o datę urodzenia, płeć chorego, narodowość, datę rozpoznania gruźlicy, rodzaj gruźlicy (płucna i pozapłucna), datę rozpoczęcia leczenia, rodzaj zastosowanych leków oraz wyniki badania w kierunku HIV. Część bakteriologiczna zawierała dane o wyhodowanym szczepie *My-*



Ryc. 3. Lekooporność nabyta (17,0%). Wzory oporności
Acquired resistance. Pattern of resistance

Mycobacterium tuberculosis, testach identyfikacyjnych i lekooporności na 4 leki.

Bezpośrednimi partnerami w badaniach byli kierownicy regionalnych laboratoriów mikrobiologicznych prątków, którzy byli odpowiedzialni za prawdziwość danych. Po zakończeniu diagnostyki chorego, wysyłali oni do Laboratorium Referencyjnego kwestionariusz wraz z hodowlami prątków.

2. Nadzór WHO nad badaniami

Badanie było nadzorowane przez WHO, które wyznaczyło zagraniczne laboratorium międzynarodowe (Supranational Laboratory), jako partnera dla Polskiego Laboratorium Referencyjnego. Dr. Bert van Klingeren z Department of Mycobacteria National Institute of Public Health and Environmental Protection w Bilthoven w Holandii był

Tabela I. Wiek i płeć chorych, którzy byli analizowani w badaniach
Age and sex distribution of the patients who participated in survey

Wiek/Płeć	0–14	15–25	25–34	35–44	45–54	55–65	65 +
Mężczyźni	14	80	297	727	794	435	526
2873	0,5%	2,8%	10,4%	25,3%	27,6%	15,1%	18,3%
Kobiety	10	91	151	193	154	106	392
1097	0,9%	8,3%	13,8%	17,6%	14,0%	9,7%	35,7%
RAZEM							
3970	24	171	448	920	948	541	918

bezpośrednio zaangażowany w pomoc przy realizowaniu badań. Do jego obowiązków należało prowadzenie wielokrotnych sprawdzianów poziomu wiarygodności metod mikrobiologicznych stosowanych w laboratoriach prątków w Polsce.

3. Kwalifikowanie chorych do badania

Badaniami objęto chorych, od których wyhodowano na pożywkach prątki gruźlicy w okresie 12 miesięcy, od 1 listopada 1996 do 1 listopada 1997 r. Po wyhodowaniu szczepu prątków gruźlicy, bakteriolog oraz lekarz leczący chorego, wypełniali kwestionariusz, który następnie przesyłano do Zakładu Mikrobiologii do Warszawy. Bakteriologowie byli proszeni o zachowanie wszystkich wyhodowanych szczepów prątków do końca badania oraz odesłanie szczepów lekoopornych i 10% z wyhodowanych szczepów lekoopornych od Laboratorium Referencyjnego w celu ich powtórnej weryfikacji.

4. Kryteria pierwotnej, nabytej i wielolekowej oporności

Za chorych z pierwotną lekoopornością (P.L.) uznano tych, którzy nigdy wcześniej nie byli leczeni lekami przeciwprątkowymi i od których przed rozpoczęciem leczenia wyhodowano prątki gruźlicy odporne na jeden lub więcej leków. Lekooporność nabyta

(N.L.) została zdefiniowana jako oporność prątków na jeden lub więcej leków wyhodowanych od chorych leczonych. Lekooporność wielolekowa (w literaturze światowej nazywanej multi-drug resistance - MDR) oznacza oporność na dwa najważniejsze leki przeciwgruźlicze INH i RMP same lub w połączeniu z innymi lekami (1).

5. Badania mikrobiologiczne

Szczepy prątków gruźlicy z materiałów klinicznych hodowano wg. metod standardowo używanych w polskich laboratoriach prątków (13). Testy lekowrażliwości wykonywano rutynowo dla wszystkich wyizolowanych szczepów metodą konwencjonalną na pożywce L-J stosując metodę proporcji oraz w systemie Bac-tcc zgodnie z zaleceniem producenta (2).

6. Analiza matematyczna i statystyczna

Dla otrzymanych wartości wyliczono wartości średnie, odchylenia standardowe i przedziały ufności. Znamienność różnic oceniano testem Studenta T.

WYNIKI

Z otrzymanych 4100 kwestionariuszy z 41 regionalnych laboratoriów odrzucono 130 (3,2%) chorych głównie z powodu braku

pełnych informacji o czasie rozpoczęcia leczenia przeciwprątkowego lub dostarczenie ankiet po ustalonym terminie. Do badań zakwalifikowano 3970 chorych z terenu całego kraju na gruźlicę układu oddechowego potwierdzoną wyhodowanymi szczepami *M.tuberculosis*. (Ryc. 1). Nie było chorych, którzy deklarowaliby się jako HIV+. W badanej grupie nie było obcokrajowców.

Płeć i wiek wszystkich badanych chorych

Wśród chorych 72,4% stanowili mężczyźni i 27,6% kobiety. Stosunek mężczyzn do kobiet wynosił 2,61:1. Wiek chorych był pomiędzy 6 i 83 lata. Większość chorych (86,5% mężczyzn i 77,0% kobiet) miała więcej niż 35 lat.

Na uwagę zasługuje fakt, że 35,7% kobiet miało więcej niż 65 lat (Tabela I).

Lekooporność pierwotna

Wśród badanych chorych, 2976 stanowiły przypadki nowo wykrytej gruźlicy. Od 106 chorych (3,6%) wyhodowano prątki lekooporne na jeden lub więcej leków. Wzory lekooporności pierwotnej u *M.tuberculosis* przedstawia ryc. 2 (Ryc. 2). Na rycinie 2 i 3 zastosowano następujące skrótowe dla leków przeciwprątkowych: INH-H, RMP-R, SM-S, EMB-E. Większość chorych – 71 (2,4%) zakażona była szczepami opornymi na jeden lek wśród których dominowała lekooporność na INH – 1,5%, a po niej oporność na SM – 0,8%. Dwulekową lekooporność stwierdzono u 21 chorych (0,7%), trójlekową u 14 chorych (0,5%). Ani jeden chory nie był zakażony prątkami pierwotnie opornymi na cztery leki równocześnie. Dwóch chorych było zakażonych prątkami pierwotnie opornymi tylko na RMP (0,1%). Nie było ani jednego przypadku lekooporności pierwotnej na EMB.

Wielolekową oporność tzn. oporność na co najmniej INH+RMP stwierdzono u 18 chorych (0,6%), przy czym najczęściej dotyczyła ona oporności na 3 leki – INH+RMP+SM. Wśród innych wzorów

oporności dominowały szczepy równocześnie oporne na INH + SM (16 chorych – 0,5%), pozostałe stwierdzono w pojedynczych przypadkach.

Lekooporność nabyta

Wśród 994 leczonych chorych 169 (17,0%) wydalają prątki lekooporne na co najmniej jeden lek. Szczegółową analizę wzorów lekooporności nabytej przedstawia Rycina 3 (Rycina 3). 77 chorych (45%) wydalają prątki oporne na pojedynczy lek. Wśród nich dominowała oporność na INH, kolejno na SM. Nie było żadnego chorego wydającego prątki oporne tylko na EMB. U 70 chorych (41%) stwierdzono oporność wielolekową, przy czym dominującym wzorem była (podobnie jak u chorych nowozdiagnozowanych) oporność na INH + RMP+SM. 14 (1,4% ogółu) chorych wydalają prątki oporne na cztery leki równocześnie. W grupie innych wzorów oporności dominowali chorzy wydający szczepy oporne na INH+SM (17 chorych).

Analizując całkowitą oporność na leki (tzn. udział poszczególnych leków we wszystkich wzorach oporności), należy podkreślić, że zarówno u chorych nowowykrytych jak i leczonych dominowała oporność na INH, najrzadziej występowała oporność na EMB.

Wiek i płeć chorych wydających prątki lekooporne

Mężczyźni i kobiety zakażali się szczepami lekoopornymi z jednakową częstością (3,7% i 3,3% odpowiednio). W grupie chorych leczonych, stwierdzono u mężczyzn znamienne statystycznie ($p < 0,01$) częstsze wydalanie prątków lekoopornych niż u kobiet (20,0% versus 9,1%).

Średni wiek mężczyzn i kobiet chorych na gruźlicę z lekoopornością pierwotną był bardzo zbliżony – 47 lat \pm 12,2 i 41 lat \pm 19,4 odpowiednio, podobnie było w grupie chorych z lekoopornością nabytą 50 lat \pm 9,8 i 44 lata \pm 18,8. Wśród badanych chorych

było jedno dziecko - 6-letni chłopiec z lekoopornością pierwotną na INH.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Odsetki występowania i znajomość wzorów oporności prątków gruźlicy ma kluczowe znaczenie w wyborze odpowiedniego leczenia. Nagłe pojawienie się wielolekoopornych szczepów u chorych zakażonych wirusem HIV w Stanach Zjednoczonych i w Europie wywołało szczególnie niepokój i zwrócenie specjalnej uwagi na problem gruźlicy lekoopornej. Największym niebezpieczeństwem w realizacji programów zwalczania gruźlicy jest wielolekowa oporność (MDR-TB). Jej leczenie jest bardzo kosztowne, długie, lekami bardziej toksycznymi niż leczenie klasyczne i jest mniej efektywne (3). Wczesne zdiagnozowanie gruźlicy lekoopornej ma nie tylko istotne znaczenie w zapobieganiu transmisji szczepów lekoopornych w środowisku człowieka ale stanowi poważnym problem ekonomiczny. Wg Prof. Kusia (informacja ustna) w Polsce koszt jednego dnia leczenia gruźlicy lekoopornej wynosi 0,5 USD, podczas gdy, gruźlicy lekoopornej 26,0 USD. 12-miesięczne leczenie chorego z MDR-TB wynosi zatem około 10000 USD. Wg. obliczeń amerykańskich (6), koszt leczenia jednego chorego z gruźlicą lekooporną na wiele leków jest równy kosztom 6-miesięcznej kuracji ok. 700 chorych z prątkami lekoopornymi. Pieniądże jakie są potrzebne na leczenie szeroko rozpowszechnionej gruźlicy lekoopornej wśród więźniów rosyjskich i z poza więzień szacuje się obecnie na 500 milionów dolarów (5). Gdy na początku lat 90-tych koincydencja dwóch chorób - gruźlicy i HIV spowodowała ujawnienie się i zarejestrowanie w Nowym Jorku kilkuset przypadków MDR-TB, władze miasta wydały blisko 1 miliard dolarów na opanowanie sytuacji.

W Polsce, lekooporność pierwotna prątków gruźlicy jest monitorowana stale od kilku dziesięcioleci, a wyhodowane w laboratoriach terenowych szczepy prątków są sprawdzane w Zakładzie Mikrobiologii IGiChP w Warszawie.

Na podstawie wieloletnich obserwacji można stwierdzić, że odsetek zakażeń spowodowanych prątkami pierwotnie opornymi na leki, znacznie zmalał. Do 1962 r. wynosił on 15% (12), do r. 1966 wyrażał się liczbą 8,6% (9), w latach 1974-1977 - 5,3% (8), a w latach 1978-1982 - 3,2% (7). Nasze obecne badania wykazują, że od około 20 lat odsetek zakażeń prątkami pierwotnie opornymi w Polsce utrzymuje się na tym samym poziomie, przy czym oporność na dwa najważniejsze w terapii przeciwgruźliczej leki - INH + RMP wyraża się ułamkiem procenta - 0,6%. Stwierdzenie niedużego, relatywnie do innych krajów odsetka lekooporności nabytej (17% w 1997 r.) i wielolekowej, nabytej 7,0% wskazuje na skuteczność stosowanego w Polsce leczenia gruźlicy. Analiza wyników leczenia chorych na gruźlicę w 1996 r. przeprowadzona przez Szczukę i Masztalercz (11) wykazała, że blisko 80% ogółu leczonych polskich pacjentów otrzymywała w intensywnej fazie leczenia 4 leki przeciwprątkowe.

Na koniec należy podkreślić, że w Polsce, od wielu lat produkowane są wszystkie główne leki przeciwprątkowe (INH, RMP, SM, EMB i PZA), i od bardzo dawna nie odnotowano przerw w ich dystrybucji, a w roku, w którym prowadzono badania tj. 1997 - 76 % chorych przyjmowało tabletkę dwulekową Rifamazid® (prod. TZF Polfa) zawierającą izoniazyd i rifampicynę (14), a w 1998 r. 90% chorych.

WNIOSKI

Wśród 2976 nowo wykrytych chorych na gruźlicę płuc zakażenie prątkami pierwotnie

opornymi stwierdzono u 106 chorych (3,6%). Najwyższy odsetek oporności pierwotnej dotyczy! oporności na 1. lek, co stwierdzono u 71 (2,4 %) chorych. Oporność wielolekowa wystąpiła u 0,6% nowowykrytych chorych.

Wśród 994 chorych, leczonych na gruźlicę lekooporność nabytą stwierdzono u 169 chorych (17,0%) ze zbliżonymi odsetkami oporności na 1. lek (7,7%) i oporności wielolekowej (7,0 %).

W obu grupach chorych, najczęściej występowała oporność na INH u 2,6% i 14,1% odpowiednio. W następnej kolejności występowała oporność na SM u 1,8% i 9,3% chorych.

Zakażenia prątkami pierwotnie opornymi stwierdzano w podobnych odsetkach u mężczyzn i kobiet - 3,7% i 3,3%

Mężczyźni wydalali prątki z nabytą lekoopornością ponad 2 razy częściej (20,0%) niż kobiety (9,1%).

Średni wiek mężczyzn i kobiet zakażonych prątkami z pierwotną lekoopornością wynosił 47 (+/- 12,2) i 50 (+/-9,8) lat i z nabytą lekoopornością 50 (+/-9,8) i 44 (18,8) lat odpowiednio.

PIŚMIENNICTWO

1. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD Global project on Anti-Tuberculosis drug surveillance 1994-1997., WHO, Geneva
2. Augustynowicz-Kopceć E.: Nowoczesne diagnozowanie gruźlicy w systemie izotopowym Bactec 460-Tb. Postępy Pneumonologii i Alergologii 1996, red. Milanowski J., Błędowski J. Lublin 1996, 167-178.
- 3- Cohn D.L., Bustero E, Raviglione M.C.: Drug-resistant in tuberculosis: review of the worldwide situation and surveillance project. Clin.Infect.Dis. 1997; 24 (Suppl. 1): S121-S130.
4. Goldfarb A.: „Gulag” strains pose new epidemic threat. The observer WHO, Geneva, 1999, May 15.
5. Golańska E., Boruń M., Dziadek J.: Molekularne podstawy lekooporności *Mycobacterium*. Post. Mikrobiologii 1995, 37, 1, 143-166.
6. Iseman M.D., Madsen L.A.: Drug-resistant tuberculosis. Clin.Chest Med.1989; 10:341-53
7. Janowiec M., Zwolska-Kwiec Z.: Pierwotna oporność na leki przeciwprątkowe u chorych na gruźlicę płuc w Polsce w latach 1978-1982. Pneum. Pol. 1986, LIV, 4, 140-143.
8. Janowiec M.: Zwolska-Kwiec Z., Bek E.: Drug resistance in newly discovered untreated tuberculosis patients in Poland, 1974-1977. Tubercle, 60. 1979, 233-237.
9. Jaroszewicz W., Buraczewska M., Pichula K., i in.: Pierwotna oporność na podstawowe leki przeciwprątkowe u chorych na gruźlicę płuc w latach 1961-1969. Gruźlica Chor.Płuc 1969, 37, 17-21
10. Raviglione M.C., Snider D.E., Kochi A.: Global epidemiology of tuberculosis. JAMA, WHO Coll.Centr.Tub. 1997,3, 89-90.
11. Szczuka I., Masztalerz J.: Wyniki leczenia chorych na gruźlicę potwierdzoną bakteriologicznie zarejestrowanych w Polsce w 1996 r. Pneumonol.Alergol.Pol. 1999, 67, 7-8, 1-10.
12. Zierski M.: Infection by drug resistant tubercle bacilli in Poland. Tubercle, Lond, 1962,43, 382-385.
13. Zwolska Z.: Identyfikacja głównych patogenów z rodzaju *Mycobacterium*. Postępy Pneumonologii, Materiały Sympozjum, Radom 1995, 25-43.
14. Zwolska Z., Niemirowska-Mikulska H., Augustynowicz-Kopceć E, i in.: Wyniki

LEKOOPORNE ZAKAŻENIA GRZYBICZE

Alicja Budak

Instytut Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Dyrektor Instytutu: prof, dr hab. med. Piotr B. Heczko

Summary The number of the systemic mycoses and the alternative agents available for treatment of these infections have increased in recent years. Deep seated candidoses are the most common infections occurring in various categories of risk group patients. Although C.albicans is the most frequent cause of invasive mycoses, in recent years non-albicans Candida species such as C.tropicalis, C.parapsilosis, C.krusei and C.glabrata have become important causes of fungemia in hospitalized patients. The antifungal agents include: amphotericin B, flucytosine, ketoconazole, fluconazole and itraconazole. The increasing use of these drugs has given rise to development of resistance among Candida species. In AIDS patients treated for oropharyngeal candidoses have been reported the fluconazole resistance.

Występowanie grzybic systemowych oraz stosowanie leków przeciwgrzybiczych wzrosło wybitnie w ostatnich latach. Kandydoza jest najpowszechniejszą infekcją, występującą u chorych w różnych grupach ryzyka. Pomimo, że *C.albicans* najczęściej jest jej przyczyną, w ostatnich latach również inne, nie-*albicans* gatunki *Candida* jak *C.tropicalis*, *C.krusei*, *C.parapsilosis* i *C.glabrata* stały się ważnymi czynnikami zakażeń. Do grupy antymikotyków należą: amfoterycyna B, flucytozyna, ketokonazol, flukonazol oraz itraconazol. Wzrost zużycia wymienionych leków spowodował rozwój oporności wśród szczepów *Candida*. U chorych z AIDS, leczonych z powodu kandydozy jamy ustnej i gardła, opisano oporność na flukonazol.

W ostatnich latach wzrosło znaczenie wielu gatunków grzybów jako czynników etiologicznych zakażeń u ludzi. Wzrost liczby chorych z obniżoną funkcją układu odpornościowego, jak również postęp w medycynie i związany z tym rozwój diagnostyki inwazyjnej oraz metod terapeutycznych, spowodował nie tylko wzrost częstości występowania infekcji grzybiczych, ale także pojawienie się nowych gatunków grzybów patogennych, które dotychczas

uważano za nie chorobotwórcze dla człowieka. Grzybnice inwazyjne wśród chorych z zaburzoną odpornością komórkową, nierzadko są przyczyną śmierci. Ponadto grzyby znalazły się w grupie drobnoustrojów najczęściej odpowiedzialnych za zakażenia szpitalne. Według CDC (Center of Disease Control) z Atlanty, w USA, w okresie 10 lat od 1980 do 90 roku liczba zakażeń grzybiczych wzrosła z 6% do 11%. Gatunek *C.albicans* jest jednym z najczęściej izolowanych u chorych w oddziałach intensywnej terapii. Dane NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) w USA, wykazały 487% wzrost infekcji krwi o etiologii *Candida* w latach od 1980 do 89 roku. Kandydoza jamy ustnej, gardła i przełyku jest najczęstszą infekcją u chorych z AIDS. Także w Niemczech notuje się rocznie około 8 do 10 tysięcy przypadków zgonów z powodu infekcji *Candida* (8, 9).

CZYNNIKI ETIOLOGICZNE ZAKAŻEŃ GRZYBICZYCH

Wśród czynników zakażeń grzybiczych znajdują się grzyby drożdżopodobne rodzaju

Candida. Z ponad 150 rozpoznanych gatunków, tylko nieliczne są chorobotwórcze dla człowieka. Do 1970 roku gatunek *C.albicans* był najczęściej izolowany u chorych i odpowiedzialny za grzybice systemowe. Jego udział w zakażeniach jest w dalszym ciągu znamieny. Z końcem lat osiemdziesiątych, pojawił się gatunek *C.tropicalis*, szczególnie patogenny wśród chorych z białaczką oraz towarzyszącą, wysoką granulocytopenią. W latach ostatnich wzrosła częstość zakażeń wywołanych przez gatunki nie-*albicans* i nie-*tropicalis* jak: *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.krusei* czy *C.lusitaniae* (8).

W patogenezie zakażeń wywołanych przez *C.albicans* oraz *C.tropicalis* istotną rolę odgrywają czynniki wirulencji, do których należą: zdolność adhezji do komórek epitelialnych, endotelialnych gospodarza, dimorfizm, wydzielanie enzymów takich jak proteinaza asparaginowa, fosfolipazy oraz zmienność fenotypowa. Szczególną rolę odgrywa także ściana komórkowa, zbudowana z chityny, glukanu oraz mannanu (8, 9).

Zakażenia grzybicze o etiologii *Candida* rozpoznawane jako kandydozy występują w różnych postaciach klinicznych (4). Kandydoza rozsiana, szerząca się drogą hematogenną, może obejmować poszczególne narządy takie jak: nerki, płuca, bądź całe układy. Rzadszą jest postać chroniczna z ogniskami zapalnymi w wątrobie oraz śledzionie. Następną postacią kliniczną jest kandydoza błon śluzowych oraz skóry. U chorych z AIDS występuje bardzo często jako zakażenie wtórne, zlokalizowane w jamie ustnej, gardle oraz przełyku, powodując bolesne objawy infekcji z wielokrotnymi nawrotami. Kolejną postacią to infekcja dróg moczowych - kandyduria, która u chorych z grupy ryzyka, nierzadko, jest pierwszym objawem grzybicy inwazyjnej

Do czynników oportunistycznych zakażeń grzybiczych należą również grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus spp.* reprezentowane przez gatunki *A.fumigatus*, *A.flavus* oraz *A. niger*. Źródłem zakażenia jest środowisko zewnętrzne. Bytujące w nim zarodniki grzy-

Tabela I. Rozbieżności w leczeniu kandydemii
Divergences in the therapy of candidaemia

Pod znakiem zapytania: (?)
Zastosowanie terapii empirycznej czy oczekiwanie na identyfikację izolatu /1
Wybór leku /2
Określenie wrażliwości szczepu /3
Dawkowanie /4
Czas leczenia /5
Leczenie skojarzone /6
Monitorowanie poziomu leku w surowicy /7
Usunięcie cewnika wewnątrznaczyniowego /8

się w płucach lub zatokach przynosowych, skąd drogą hematogenną zakażają inne narządy. Ciężką postacią kliniczną grzybicy, występującą jako ostra lub chroniczna, u chorych z obniżoną odpornością, z neutropenią, po przeszczepie szpiku kostnego, jest aspergiloza inwazyjna (4). Grzyby *Aspergillus* również mogą rozwijać się w jamach pogrążliczych, rozstrzeniach oskrzeli oraz ropniach płuc, tworząc grzybniak - aspergilozę.

LECZENIE GRZYBIC GŁĘBOKICH

Wzrost występowania zakażeń zwiększył zużycie leków przeciwgrzybiczych (4, 6, 8). Profilaktyka oraz leczenie ciężkich infekcji grzybiczych jest trudne. W wielu przypadkach wywołuje kontrowersje związane z wyborem leku, wrażliwością szczepu, dawkowaniem, czasem leczenia, czy monitorowaniem stężenia w krwi (tabela I). W porównaniu do chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych, liczba

antymikotyków jest nieporównywalnie mniejsza. W terapii grzybic głębokich, znalazły zastosowanie leki należące do: antybiotyków polienowych (amfoterycyna B, nystatyna), azoli (ketokonazol, flukonazol, itraconazol) oraz pochodna fluoropirymidyny - 5-fluorocytozyna (tabela 2). Między sobą różnią się mechanizmem działania oraz spektrum przeciwgrzybiczym. Mechanizm działania większości leków przeciwgrzybiczych polega na zaburzeniu funkcji podstawowego sterolu ściany komórkowej - ergosterolu, powodującym zmiany w przepuszczalności ściany komórkowej.

Amfoterycyna B - antybiotyk otrzymany ze *Streptomyces nodosus*, pomimo szerokiego zakresu przeciwgrzybiczego, charakteryzuje się wysoką toksycznością. Wprowadzono nowe odmiany leku, o niższej toksyczności, zawierające połączenia z lipidami. Do tej grupy należą liposomalna amfoterycyna B (AmBisome), kompleks z fosfolipidami (Abelcet) oraz z siarczanem cholesterolu

Tabela. II. Leki przeciwgrzybicze stosowane w terapii grzybic głębokich
Antifungal agents used in the therapy of deep seated mycoses

Lek	Sposób podania	Mechanizm działania
Antybiotyki polienowe: Nystatyna Amfoterycyna B (połączenia z lipidami: AmBisome, Abelcet, Amphocil)	doustna doustna, parenteralna	zaburzenie syntezy steroli zaburzenie przepuszczalności ściany komórkowej
Azole: Ketokonazol Flukonazol Itraconazol	doustna doustna, parenteralna doustna	zaburzenie syntezy ergosterolu poprzez zahamowanie funkcji 14a-demetylasy
5-flucytozyna	doustna	zahamowanie syntezy kwasów nukleinowych

(Amphocil). Niestety wysokie koszty ograniczają częste stosowanie w leczeniu. Zakres działania amfoterycyny B obejmuje grzyby drożdżopodobne (*Candida*, *Cryptococcus*), pleśniowe (*A.fumigatus*) oraz dimorficzne (*Histoplasma*, *Coccidioides*, *Blastomyces*).

Z pochodnych azolowych: ketokonazol (związek imidazolowy) oraz flukonazol i itraconazol (triazole) są stosowane w leczeniu zakażeń grzybiczych, wywołanych przez grzyby drożdżopodobne jak również dimorficzne. Ponadto ketokonazol oraz itraconazol działają na dermatofity. Gatunek *C.krussei* jest naturalnie odporny na flukonazol, natomiast większość szczepów *C.glabrata* charakteryzuje się niską wrażliwością.

Amfoterycyna B wprowadzona do lecznictwa w 1955 roku, jako jedyny lek była stosowana w terapii grzybic głębokich do czasu pojawienia się w 1967 roku flucytozyny. Pomimo swojej toksyczności, pozostaje jako lek z wyboru w leczeniu niektórych grzybic opornych na nowe, obecnie dostępne antymikotyki. Szerokie wykorzystanie w leczeniu grzybic flucytozyny, stopniowo ograniczyło jej stosowanie, z powodu zjawiska szybkiego narastania oporności wśród szczepów *Candida spp.*, na skutek zachodzących mutacji spontanicznych. Wprowadzenie do lecznictwa pochodnych azolowych o działaniu przeciwgrzybiczym, również skutecznych przy podawaniu doustnym, zmieniło możliwości terapii ciężkich infekcji grzybiczych, wywołanych przez grzyby z rodzaju *Candida*. Ketokonazol (1976), pierwszy dostępny chemioterapeutyk z tej grupy leków, okazał się efektywny w leczeniu chronicznych postaci kandydozy błon śluzowych oraz grzybic powierzchownych. Jednakże, niedługo po jego zastosowaniu, pojawiły się doniesienia o niepowodzeniach klinicznych, w związku ze wzrostem wartości MIC szczepów *Candida spp.*, spowodowanym stosowaniem leku w terapii przedłużonej. W wyniku wprowadzenia w latach osiemdziesiątych triazoli, problem narastania

oporności wśród szczepów na ketokonazol, nie osiągnął istotnego znaczenia. W grupie triazoli, szczególnie flukonazol, zsyntetyzowany w 1982 roku (później od itraconazolu), posiadając niską toksyczność oraz możliwość stosowania w wysokich dawkach, znalazł zastosowanie przede wszystkim, w profilaktyce oraz terapii infekcji *Candida* (9).

PROBLEM OPORNOŚCI U NA LEKI PRZECIWGRZYBICZE

Wzrost zużycia leków przeciwgrzybiczych, zarówno z racji profilaktyki u chorych z grupy ryzyka, jak i leczenia grzybic, często stosowanych przez długi czas oraz w niskich dawkach, doprowadził do rozwoju zjawiska nabytej oporności wśród gatunków lub szczepów wcześniej wrażliwych. Ponadto przyczynił się do wzrostu infekcji wywołanych przez gatunki charakteryzujące się dotychczas niską patogennością, które nabyły oporność na jeden lub więcej dostępnych antymikotyków.

Interpretacja zjawiska oporności u grzybów jest trudna. Według jednych autorów, wiąże się z nieopowodzeniem klinicznym, pomimo, zastosowania celowanej terapii. Inni odnoszą to zjawisko do wzrostu wartości MIC szczepów odpowiedzialnych za zakażenia, które w trakcie leczenia rozwijają oporność (7). Pacjent może nabyć odporny drobnoustrój: albo na drodze kolonizacji lub zakażenia szczepem początkowo wrażliwym, który, najczęściej na drodze mutacji, staje się odporny, lub jest kolonizowany bądź zakażony wieloma szczepami lub gatunkami, z których zostaje wyselekcjonowany szczep naturalnie odporny. Chory może być również kolonizowany lub zakażony naturalnie odpornym szczepem.

W literaturze obserwujemy liczne doniesienia o zjawisku nabywania oporności przez grzyby drożdżopodobne na dostępne antymikotyki (1, 9, 12). Rozważając zjawisko

oporności pojawiającej się w trakcie leczenia, należy uwzględnić interakcje między antymikotykami oraz innymi stosowanymi lekami. Stężenie ketokonazolu oraz itrakonazolu w krwi obniżają leki redukujące wydzielanie kwasu żołądkowego. Rifampicyna redukuje stężenie wymienionych leków oraz flukonazolu, natomiast fenytoina flukonazolu i itrakonazolu (10). W opisanych przypadkach istotne jest monitorowanie stężenia leku przeciwgrzybiczego w krwi podczas leczenia. Obserwując brak efektu klinicznego, pomimo terapii przeciwgrzybiczej należy poddać analizie takie czynniki jak: aktualny stan kliniczny chorego, liczbę neutrofilii, obecność cewnika wewnątrznaczyniowego, stosowane leki immunosupresyjne, wszystkie aktualne i wcześniejsze schematy terapii przeciwgrzybiczej z dawkowaniem, sposobem podania leku oraz porównać MIC szczepów izolowanych w poszczególnych badaniach mikologicznych.

Niepowodzenia w leczeniu, związane z rozwojem oporności na amfoterycynę B są rzadkie. Od 1991 roku wzrosła liczba opornych szczepów: *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.lusitanae*, *T.beigellii*, jak również *C.neoformans* (u chorych z AIDS, z rozwijającą się kryptokokozą) (10). Przyczyną tego zjawiska mogła być prowadzona strategia zapobiegawcza u chorych z białaczką, po przeszczepie szpiku kostnego oraz w oddziałach intensywnej terapii, gdzie stosowano niskie dawki amfoterycyny B od

0,1-0,2 mg/kg/dzień (6). Badania wrażliwości szczepów *in vitro* dostarczyły wielu interesujących wskazówek dla interpretacji klinicznej odpowiedzi. Amfoterycyna B, wywierała działanie hamujące a zarazem bójcze, wobec klinicznych izolatów większości gatunków grzybów drożdżopodobnych w stężeniu

> 1,0 mg /l. Według Pfallera i wsp. (2), wzrost około 94-99 % szczepów był hamowany w opisanych stężeniach. Szczepy o MIC

> 2 mg /l były rzadko izolowane, lecz ich

obecność sugerowała kliniczne niepowodzenia. Zaobserwowano, że chorzy z fungemią wywołaną przez *Candida spp.* o MIC \geq 0,8 mg/l dla amfoterycyny B, częściej umierali z powodu infekcji, aniżeli pacjenci zakażeni szczepami o wartościach MIC \geq 0,8 mg/l.

Wśród 15-30 % szczepów *C.albicans* notuje się oporność na ketokonazol. U chorych na AIDS, leczonych z powodu chronicznej kandydozy błon śluzowych jamy ustnej, gardła oraz przelyku, wykryto szczepy odporne (10). W badaniach prowadzonych w różnych ośrodkach medycznych na terenie Polski, stwierdzono również oporność na ketokonazol w odsetku od 2,4% do 36,2% szczepów (3, 5).

Mała toksyczność i łatwość podawania flukonazolu spowodowały, że jest szeroko stosowany w różnych postaciach klinicznych kandydozy. Hamuje wzrost większości *Candida spp.* w stężeniu \geq 8 mg/l. Gatunek *C.krusei* jest naturalnie oporny, natomiast większość szczepów *C.glabrata* charakteryzuje się niską wrażliwością lub opornością przy wartościach MIC od 8-16 mg/l oraz 32-64 mg/l (2).

Badania prowadzone podczas ostatnich lat udokumentowały kierunek obniżania wrażliwości na flukonazol wśród szczepów *C.albicans* oraz *C.tropicalis* w wyniku długo trwającej terapii, stosowania małych dawek leku, a w związku z tym pojawiania się wielu niepowodzeń klinicznych (2).

Rozpoznano trzy główne mechanizmy rozwoju oporności na flukonazol. Pierwszym jest redukcja nagromadzonego wewnątrz komórki leku, bądź przyspieszone jego wydalanie. Drugi mechanizm oporności, wiąże się ze zmianami strukturalnymi w enzymie 14 α demetylaze, które obniżają wiązanie leku przez komórkę. Kolejnym mechanizmem jest nadprodukcja enzymu w komórce w wyniku amplifikacji genu. Obecność wielu mechanizmów oporności, wyjaśnia istnienie

szczepów *C.albicans* opornych na flukonazol, przy zachowaniu wrażliwości na inne azole (10).

Najwyraźniejsze przykłady oporności na flukonazol stwierdzono u chorych na AIDS leczonych z powodu kandydozy jamy ustnej, gardła oraz przetyku. Niepowodzenia kliniczne były wynikiem nabycia naturalnie opornych szczepów *Candida sp.*, lub nabyciem oporności przez szczepy wcześniej wrażliwe. W większości przypadków obserwowano mutacje wśród szczepów *C.albicans* pierwotnie wrażliwych, które rozwijały oporność na lek w trakcie prowadzonej terapii (9). Wielu chorych z nawracającą grzybicą górnego odcinka dróg oddechowych oraz przewodu pokarmowego było leczonych przez długi okres czasu niskimi dawkami flukonazolu – 100 mg/dzień. W tym czasie MIC szczepów wynosił < 8 mg/l. Nawroty infekcji oraz podawanie leku w dawce 200 mg/dzień, przynosiły: zanik objawów klinicznych oraz wzrost MIC do = 16 mg/l. Kolejne nawroty zakażenia doprowadziły do pojawienia się szczepów opornych (MIC > 64 mg/l). Wśród części chorych, wyniki typowania DNA potwierdziły obecność tych samych szczepów *C.albicans* izolowanych w kolejnych badaniach mikologicznych.

Chorzy z fungemią to kolejna grupa osób, u których stwierdzono niepowodzenia kliniczne podczas terapii z zastosowaniem flukonazolu w dawkach od 50–200 mg/dzień.

Nieliczne doniesienia opisują problem oporności na flukonazol u chorych z nowotworami oraz grzybiczą infekcją jamy ustnej i gardła. Opisano przypadki niepowodzeń spowodowane stosowaniem niskich dawek leku w zakresie 100–200 mg/dzień (9). Innym stanem klinicznym, w którym pacjenci nie odpowiadali na leczenie flukonazolem było zakażenie kości o etiologii *C.albicans*.

Liczne doniesienia potwierdziły fakt, że większość chorych, u których rozwinęła się kliniczna oporność na flukonazol otrzymali

przedłużoną terapię, lub długo trwającą profilaktykę w dawkach < 200 mg/dzień.

Zdaniem wielu autorów, u chorych na AIDS infekcje jamy ustnej i gardła powinny być leczone flukonazolem przez krótki okres czasu. U pacjentów zakażonych szczepami *C.albicans* o niskich wartościach MIC, flukonazol powinien być podawany w dużych dawkach (400-800 mg/dzień, przez krótki okres czasu), co spowoduje szybszą eradykację, zmniejszając ryzyko mutacji, prowadzącej do rozwoju oporności (9). Zdaniem klinicystów flukonazol jest lekiem z wyboru do leczenia zarówno ostrych jak i chronicznych infekcji wywołanych przez wrażliwe szczepy *C.albicans*. Zastosowany nawet w wysokich dawkach jest bezpieczny dla chorego zarówno przy podaniu doustnym jak i dożylnym. Dawka 800 mg/dzień, może być rozważana u chorych z inwazyjną kandydozą (10).

Na podstawie uzyskanych obserwacji stwierdzono ponadto istnienie prawdopodobieństwa, że szerokie stosowanie flukonazolu w profilaktyce, leczeniu empirycznym oraz właściwej terapii, przy nie zachowaniu prawidłowych zasad obejmujących identyfikację szczepu oraz właściwe dawkowanie, może doprowadzić do selekcji i zmiany spektrum patogenów od dominujących wcześniej wrażliwych *C.albicans* do mniej wrażliwych gatunków *n/e-albicans*.

Nieliczne dane z literatury podają przypadki nabycia oporności przez szczepy *Candida spp.* na itrakonazol. Potwierdzono występowanie krzyżowej oporności na itrakonazol u szczepów *C.albicans* izolowanych od chorych z chroniczną kandydozą błon śluzowych, opornych na ketokonazol (10).

Powszechnym problemem jest nabywanie oporności przez szczepy *Candida spp.* na 5-fluorocytozynę. Najczęstszą przyczyną jest utrata enzymu pirofosforylasy urydyno-monofosfatu. Ponadto, potwierdzono badaniami, że około 10% szczepów *C.albicans*, 20% *C.tropicalis* oraz 2% *C.neoformans* jest naturalnie opornych na flucytozynę (10).

Określenie *in vitro* wrażliwości na leki przeciwgrzybicze

Wzrost występowania infekcji grzybiczych, stosowania leków przeciwgrzybiczych oraz pojawienia się oporności wśród grzybów drożdżopodobnych, spowodował rozwój metod oznaczania *in vitro* wrażliwości na antymikotyki. Konieczność zastosowania celowanego leczenia wiąże się z określeniem indywidualnej wrażliwości szczepu wyizolowanego od chorego.

Metody określania *in vitro* wrażliwości na podstawie wartości MIC (Minimal Inhibitory Concentration), stały się przedmiotem wielu badań w ostatnim dziesięcioleciu (1, 2, 11). Aktualnie, laboratoria mikologiczne posługują się różnymi metodami, uzyskując często niejednoznaczne wyniki (10). Różnice wynikają z zastosowania różnych warunków obejmujących: skład podłoża, pH, inokulum, czas oraz temperaturę inkubacji. Ponadto jednym z poważnych problemów, jest trudność w określeniu punktu końcowego - end point dla niektórych leków, zwłaszcza azoli, co wiąże się z ich fungistatycznym działaniem (2). Standardyzacja testów, w celu uzyskania porównywalnych wyników jest ważna. Wymaga współpracy między laboratoriami oraz korelacji danych laboratoryjnych z uzyskanymi efektami klinicznymi.

W USA, podkomitet do spraw wrażliwości przeciwgrzybiczej leków, działający przy NCCLS (The National Committee for Clinical Laboratory Standards), opracował referencyjną metodę makrorozcieńczeniową, oraz mikrorozcieńczeniową w podłożu płynnym, początkowo nazwaną M27-P, a następnie M27-T (1). Z systemów komercyjnych, przeznaczonych do testowania wrażliwości grzybów drożdżopodobnych stosuje się: ATB Fungus (bioMérieux Francja), Fungitest (Sanofi Diagnostics Pasteur, Francja), krążki nasycone lekami przeciwgrzybiczymi do metod dyfuzyjno-krążkowych: NeoSensitabs (Rosco Diagno-

stica, Dania) oraz Mast Diagnostica (Niemcy), a także Etesty (AB Biodisk, Szwecja).

Zdaniem niektórych autorów, wydaje się być ograniczona rola oceny wrażliwości *in vitro* w przypadkach poważnych zakażeń, w tym fungemii (1). Natomiast wykazano korelację pomiędzy określoną *in vitro* wrażliwością szczepów *C.albicans* na flukonazol, a kliniczną odpowiedzią u chorych na AIDS z kandydozą jamy ustnej i gardła. Przeprowadzone obserwacje potwierdziły fakt, że wrażliwość szczepów *C.albicans* na flukonazol odpowiadająca wartości MIC < 8.0 mg/l, prawdopodobnie odpowiada dawkom leku 100-200 mg/dzień. Odpowiedź na terapię wyższymi dawkami, wynoszącymi 400-800 mg/dzień, może być osiągnięta w infekcjach powodowanych przez szczepy z MIC 16-32 mg/dzień (S-DD Susceptible

- Dose Dependent). Natomiast jej brak, występuje u chorych zakażonych szczepem, którego MIC wynosi > 64 mg/l. W takich przypadkach powinien być zastosowany lek alternatywny.

Potwierdzono również korelację pomiędzy odpowiedzią *in vivo*, a wrażliwością *in vitro* szczepów *Candida spp.* na amfoterycynę B. Ustalono związek pomiędzy wysokim MIC szczepów (> 2 mg/l), a klinicznymi niepowodzeniami (2).

Z literatury wynika, że ocena *in vitro* wrażliwości szczepów *Candida spp.* na flukonazol, pozwala na przewidzenie odpowiedzi klinicznej w przypadku infekcji grzybiczych błon śluzowych. Natomiast w ciężkich zakażeniach, także fungemii, związek pomiędzy wartością MIC leku określoną *in vitro*, a skutecznością *in vivo* jest mniej wyraźny (2).

PIŚMIENNICTWO

0. Canton E, Peman J, Carrillo-Munoz A, i in-
Fluconazole susceptibilities of bloodstream
Candida species isolates as determined by Na

- tional Committee for Clinical Laboratory Standards Method M27-A and two other methods. *J Clin Microbiol* 1999, 37 (7): 2197-2200.
1. Cormican MG, and Pfaller MA. Standardization of antifungal susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother* 1996, 38: 561-578.
 2. Dąbkowska M., Garczewska B, Dzierżanowska D. Lekowrażliwość szczepów *Candida* oceniona mikrotestem ATB Fungus firmy bioMerieux. *Mikol Lek* 1998, 5 (1):5—7.
 3. Graybill JR. Future directions of fungal chemotherapy. *Clin Inf Dis* 1992@14 (Suppl. 1): 170-181.
 4. Krajewska-Kulak E, Łukaszuk W, Niczyporuk M, i in. Próba zastosowania Fungitestu w ocenie wrażliwości szczepów grzybów drożdżopodobnych na wybrane chemioterapeutyki przeciwgrzybicze. *Mikol Lek*, 1999, 6 (2) : 93-95.
 7. Morschhauser J, Blum-Oehler G, Hacker J. Virulenz und Resistenz-mechanismen pathogener *Candida-Species*. *Med. Welt* 1997, 48: 352-357.
 8. Rex JH, Rinaldi MG and Pfaller MA. Resistance of *Candida species* to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995, 39 (1): 1—8.
 9. Richardson MD, Warnock DW. Fungal infection: Diagnosis and management. NeXstar Pharmaceuticals, Second edition. 1998.
 10. Swinne D, Raes-Wuytack C, Van Looveren K, i in. Comparative evaluation of Fungitest, Neo-Sensitabs and M27 t - NCCLS broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida species* and *Cryptococcus neoformans*. *Mycoses* 1999, 42: 232-237.
 11. Van't Wout JW. Fluconazole treatment of candidal infections caused by *non-albicans*

LEKOOPORNOŚĆ W ZARAŻENIACH PASOŻYTNICZYCH

Drug - resistance in parasitic infestations

Danuta Prokopowicz, Bożena Panasiuk

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. zw. D. Prokopowicz

Ewa Tynecka

Oddział Obserwacyjno-Zakaźny, Samodzielny Publiczny ZOZ w Suwałkach

Ordynator: dr med. B. Sztelwander

Streszczenie Przedstawiono aktualność parazytoz w Polsce i na świecie. Podano przyczyny ich utrzymywania się. Określono znaczenie lekooporności, czynniki prowokujące występowanie tej cechy oraz wynikające stąd zasady terapeutyczne.

Summary Up-to-date findings concerning parasitoses in Poland and in the world have been presented. The course and mainting of parasitoses has been discussed. Drug resistance provoking factors responsible for this attribute and resulting consequences for treatment are briefly described.

Parazytologia kliniczna jest gałęzią medycyny niedocenianą co być może wynika z przekonania że inwazje pasożytnicze są zagrożeniami występującymi wyjątkowo. Tymczasem polskie służby sanitarno-epidemiologiczne* notują następujące zachorowania na parazytozy w kraju w 1998 roku:

- świerzb 18163 chorych (wskaźnik zapadalności 46,97)
- tasiemczyca (tasiemiec nieuzbrojony) 517
- toksoplazmoza 293
- włośnica 33
- zimnica 32
- bąblowica 27
- wągrzyca 3
- czerwotka pełzakowa 4

Nie rejestruje się innych parazytoz np. giardiozy, glistnicy, owsicy, włośnogłowicy, rzęsiestkowicy, węgorowatości itp. Sięgając do źródeł terenowych można przytoczyć ob-

serwacje Grzybek i wsp. (6) z Zabrze że wśród 13815 chorych o profilu internistycznym w ostatnim 30-leciu parazytozy stanowiły 9,2%. Trzy najczęstsze na tym terenie to: giardioza, włośnogłowica, glistnica. Własne obserwacje wykazują że wśród chorych obserwacyjno-zakaźnych z Suwałk w ostatnim dziesięcioleciu dominowały glistnica, tasiemczyca, giardioza. Dane te dowodzą że parazytozy są chorobami aktualnymi w Polsce. Gwałtowny rozwój turystyki sprawia że parazytozy importowane powinny być nieobce lekarzom praktykom.

Parazytozą dominującą w skali ogólnoswiatowej jest zimnica. Powodem niepowodzeń w likwidacji tej parazytozy jest lekooporność zarodźców zimnicy, określana w skali trójstopniowej, tj.:

Γ - to sytuacja w której leczenie eliminuje trofozoity i schizonty pa-

sożyta z krwi, lecz po odstawieniu leku parazytemia powraca

II° – leczenie jedynie zmniejsza parazytemię

III° – brak reakcji na lek (7).

Lekoopomość pasożytów cechują złożone mechanizmy powstawania i wieloopomość na różne leki jednocześnie (1, 10). To niekorzystne zjawisko w ostatnich latach szerzy się w tempie coraz to bardziej przyspieszonym. Wg Shaha i wsp. (13) *Plasmodium (P.) falciparum* wśród uchodźców z Pakistanu i Afganistanu wykazuje rokrocznie przyrost lekoopomości na chlorochinę o 15%. Zdaniem Crofta (3) mefloquinoopomość tych szczepów na dawkę 15 mg/kg m.c. wzrosła z 2% w 1980 r. do 60% w 1995 r. Leczenie zarażeń *P. falciparum* staje się coraz większym problemem. Powodów należy poszukiwać tak od strony pasożyta jak i gospodarza.

Żywiciel broni się coraz to gorzej gdyż dramatycznie rośnie populacja osobników niepełnosprawnych immunologicznie. Nie wynika to wyłącznie z terapii immunosupresyjnej czy procesów chorobowych rujnących odporność chorych jak nowotwory czy AIDS. Na inne powody człowiek pracuje sam życiem wbrew prawom natury. Stwarza sztuczne środowiska w których żyje. Przykładem są metropolie skupiające masy ludzi, działające stresorodnie, obciążające psychikę, co obniża odporność. Także dostępność inwazyjnych patogenów staje się niewyobrażalna. Do tego dochodzą toksyczne wpływy przemysłowe i odpadów które niesposób zneutralizować.

Ponadto człowiek współczesny zbyt pochopnie sięga po leki, niekiedy bez uzasadnienia. Powszechne są urojenia o cudownej mocy coraz to nowych generacji chemioterapeutyków. Nie uwzględnia się następstw np. immunosupresyjnego wpływu wielu antybiotyków.

A pasożyty? Te radzą sobie zadziwiająco dobrze. Po przedostaniu się do organizmu

żywiciela dostosowują swoją rozrodczość do możliwości przeżycia potomstwa na zasiedlonym terenie. Ponadto swoista strategia pasożytów polega na:

1. Maskowaniu antygenowym tj. opłaszczeniu swojej powierzchni przez antygeny własne tak aby uniemożliwić żywicielowi wykrycie
2. Zmienności antygenowej wraz z wiekiem pasożyta który starzejąc się upodabnia do składu antygenów gospodarza.
3. Blokowaniu czynników zawartych w surowicy np. przeciwciał antytoksycznych
4. Wytwarzaniu supresorów tłumiących odczynowość immunologiczną gospodarza
5. Penetracji wewnątrzkomórkowej aby uniemożliwić wykrycie swojego najazdu
6. Wytwarzaniu cyst.

A człowiek żyje dość beztrosko, pełen optymizmu wynikającego z wiary w postęp zabezpieczający kreowanie coraz to nowych leków. Tymczasem jest to złuda.

Obok znanych parazytoz, dzięki postępowi parazytologii klinicznej i doświadczalnej wykrywamy parazytozy niedostrzegane uprzednio. Przykładem jest rozpoznanie roli patogennej pasożytów:

- *Cyclospora cayentartensis*
- *Enterocytozoon bienewsi*
- *Encephalitozoon intestinalis, cuniculi, hellem*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Taenia multiceps, serialis*
- *Dipylidium caninum*
- *Capillaria philippinensis*
- *Trichostrongylus colubriformis* i in.

Zachodzi pytanie dlaczego dotąd parazytozy są aktualne, niektóre zaś przeżywają swój śmiertelny renesans, np. nawrót malarii złośliwej in. tropikalnej której mózgowie postaci często powodują zgony. Powodem jest lekoopomość *P. falciparum* (2). Dlatego współcześnie nie powinno się stosować niezmiennych standardów w profilaktyce i leczeniu malarii. Konieczne jest odwoły

wanie się do aktualnej wiedzy dotyczącej wrażliwości zarodźców zimnicy na dostępne leki na danym terenie. Szansę uzyskania tych informacji stwarza Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdyni (15), (tel. 058 622-30-11, fax. 058 622-33-54). W leczeniu zimnicy ideałem byłaby dostępność określania oporności i wrażliwości na lek patogenów wywołujących tą chorobę.

Celowe jest też sięganie po leki nowej generacji. Przykładem jest artemizyna i jej pochodne otrzymywane z odmiany piołunu, wprowadzone do leczenia malarii przed pięcioma laty (3, 9,11). Leki z tej grupy to arte- nam (-artemether) i artesunate. Duża skuteczność cechuje te leki w leczeniu malarii dawkami: 300 mg początkowo przez jeden dzień i **100 mg/dobę** przez cztery następne dni, podawane per os lub drogą pozajelitową. U progu zastosowań klinicznych znajduje się co-artemether złożony z artemetheru i lumefantyny (4). Inne propozycje to artemether z mefloquiną, piry-methaminą, do-ksycykliną lub azitromycyną a także atovagu-one z proquanilem (7). Drogą godną polecenia jest leczenie skojarzone w uzasadnionej nadziei że kilka związków przeciw pasożytni- czych zadziała synergistycznie. W zastosowaniu znalazły już swoje miejsce mefloquina z proquanilem jako paludrina, podobnie pi-rymetamina z sulfadoksyną jako fansidar.

Narastają obecnie problemy nieskuteczności leczenia pasożytoz u chorych na AIDS np. cryptosporidiozy czy węgorowatości które w tych stanach przybierają postacię szczególnie źle rokujące, uogólnione. Wg Soroczana (14) węgorowatość w AIDS choć zdarza się rzadko to z reguły kończy się śmiertelnie. W tych stanach budzą nadzieje próby kojarzenia antybiotyków makrolidowych np. spi- ra-erytro-oleando-azithro-claritho-mycyn z piry-metaminą, dapsone, atovaquone, arte- mizyną lub minocykliną. Podobnie dobra opinia dotyczy stosowania paramomycyny z clo- faziminą w AIDS wraz z giardiazą lub pelza-

kowicą (5). Wg Dziubka (4) niekorzystne współistnienie pasożytozy z AIDS wymaga przedłużania czasu trwania kuracji przeciw-pasożytniczych. Pogląd ten potwierdza także doświadczenie własne oraz dane z innych ośrodków.

Istnieją dowody na istnienie czynników prowokujących wystąpienie lekooporności pasożytów. Są to:

- zaniżanie dawek leków
 - monoterapia
 - długotrwałe stosowanie tych samych leków w danym środowisku
 - nierozważne powtarzanie kuracji tym samym lekiem lub wydłużanie czasu jej trwania, zaś ten sposób często dotyczy stosowania metronidazolu u chorych z giardiazą
 - stosowanie chemioprophylaktyki przeciwpa- sożytniczej podczas hodowli zwierząt (11). Z tych danych wynikają zalecenia postępowania które może przyczynić się do poprawy wyników terapii pasożytoz u ludzi. Są to:
1. Racjonalizm w podejmowaniu leczenia tj. nieleczenie stanów bezobjawowej inwazji (nosicielstwo) lub postaci banalnych, ską- poobjawowych które powinny ulec samoli- kwidacji. I tak np. wg. Crofta (3) inwazja *Cryptosporidium* u osoby pełnosprawnej immunologicznie powinna ustąpić samo- czynn timer w czasie czterech tygodni. Dotyczy to także zespołów popasożytniczych które nie powinny skłaniać do leczenia przyczynowego, a jedynie objawowego.
 2. Uzasadniony wybór rodzaju terapii, leczenie skojarzone, właściwe dawki i czas trwania kuracji.
 3. Dążenie do likwidacji chorób przewlekłych towarzyszących pasożytozom np. cukrzyca, niewydolności krążenia, mukowi- scydozy itp. (15), także niedożywienia.
 4. Poprawienie kondycji zdrowotnej poprzez kinezyterapię (ruch na świeżym powietrzu), dietę bogatowitaminową, prozdrowotny styl życia. Szczególnie to ostatnie jest już kanonem postępowania czę

stym w społeczeństwach o wysokim stopniu rozwoju, świadomości i edukacji prozdrowotnej.

5. Stosowanie immunostymulantów pochodzenia naturalnego, np. preparatów z jeżówki (*Echinasal, Echinapur, Immunol, Echinacea - ratiopharm, Esberitox, Doli-coccii*) lub wiesiołka (Oeparol) itp. Dotyczy to także immunomodulującego wpływu preparatu Padma złożonego z ziół tybetańskich. Na rozpowszechnienie zasługuje także pogląd o korzystnym wpływie Levamisolu (prep. *Decaris*), który poprzez immunomodulację poprawia stan chorych z włośnicą (8).

Można żywić nadzieję że inżynieria genetyczna stworzy szansę perfekcyjnego rozpoznania budowy antygenowej pasożytów i wprowadzenia takich cech które będą korzystne dla żywiciela, niwelując skutki nabywania lekooporności.

PIŚMIENNICTWO

1. Borst P, Ouellette M.: *Annu. Rev. Microbiol.*, 1995, 49: 427.
2. Coombs G.H., Croft S. L.: *Parasitology*, 1997, 114: suppl. S1-S2.
3. Croft S.L.: *Parasitology*, 1997, 114 : suppl. S3- S15.
4. Dziubek Z., Żamowska-Prymek H.: PZWL, Warszawa, 1999.
5. Georgiey V.St: CRC Press, Boca Raton, Boston, London, New York, Washington, D.C, 1988;
6. Grzybek A. i wsp.: *Wiad. Parazytol.*, 1998, 44: 705.
7. Kajfasz P., Dziubek Z.: *Biul. Met.-Org. Inst. Med. Morsk. Trop.*, 1998, 31: 59.
8. Kuroczycka-Saniutycz I.: *Efekty terapeutyczne i zachowanie się analizowanych wskaźników immunologicznych u chorych z chorobą włośnicową leczonych levamisolem. Białystok, 1987. Praca doktorska.*
9. Looareesuwan S. i wsp.: *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1996, 90: 21.
10. Mackinnon M.J., Hastings I.M.: *Trans/Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1998, 92: 188.
11. Meshnick S.R.: *Med. Tropicale*, 1998, 58: 13.
12. Sangster N.: *Parasitology*, 1996, 113:suppl. S201-S216.
13. Shah I. i wsp.: *An. Trop. Med. Parasitol.*, 1997,91:591.
14. Soroczyn W.: *Wiad. Parazytol.*, 1998,44: 13.
15. Stratton Ch. W.: *Postgraduate Med*

* wg meldunków PZH, Warszawa

HAART Z WYKORZYSTANIEM DIDANOZYNY (ddl. VIDEX) I HYDROKSYMOCZNIKA W ŚWIETLE DOTYCHCZASOWYCH BADAŃ

Małgorzata Pawłowska, Waldemar Halota

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

W 1995 roku wprowadzono do leczenia zakażeń HIV wielolekową wysoce aktywną terapię antyretrowirusową (HAART - *high active antiretroviral therapy*). Celem HAART jest obniżenie stężenia wirerii HIV (HIV-RNA) we krwi obwodowej i tkance limfatycznej poniżej progu wykrywalności oraz utrzymanie tego efektu przez jak najdłuższy okres. Leczenie to obniżyło śmiertelność wśród zakażonych HIV o 23% w roku 1996, a w następnym o 44%. Według danych amerykańskich liczba hospitalizowanych z tego powodu zmniejszyła się w tym czasie o połowę. Wykładnikiem efektywności leczenia jest obniżenie się wirerii Hf V w ciągu pierwszych kilkunastu tygodni terapii.

Obecnie zaleca się wprowadzenie tego leczenia jak najwcześniej, obligatoryjnie u pacjentów z wysokim poziomem wirerii (powyżej 5 tys. kopii/ml), zwłaszcza z liczbą CD4 poniżej 500 (12).

Terapia obejmuje zastosowanie nie mniej niż 3 leków o różnym mechanizmie działania w różnorodnych schematach terapeutycznych. W praktyce klinicznej stosuje się leki należące do 3 grup:

I - nukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy (*Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors* - NRTI)

II- nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy (*Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors* - NNRTI)

III - inhibitory proteazy (*Protease Inhibitors* - PI).

Przeszkodą w uzyskaniu sukcesu terapeutycznego jest rezerwuar latentnie zakażonych limfocytów T CD4 o długim okresie przeżycia.

Uzyskanie efektu leczniczego jest ograniczone występowaniem oporności zarówno wirusowej jak i „komórkowej”. Oporność wirusowa obejmuje oporność genotypową i fenotypową związane z pojawieniem się określonych mutacji HIV. Pojęciem oporności „komórkowej” określa się obniżenie wrażliwości wirusa na leki antyretrowirusowe po wykluczeniu oporności genotypowej czy fenotypowej.

Oporność „komórkowa” w zakażeniu HIV może być spowodowana poprzez spadek aktywności leków lub zmniejszenie ich penetracji do określonych tkanek (centralnego układu nerwowego jąder, łożyska, limfocytów CD4 oraz węzłów chłonnych) (2). Jak wiadomo nukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy są aktywne w postaci pochodnych trójfosforowych będących analogami endogennych nukleozydów.

Ze względu na proces fosforylacji wyróżnia się dwie główne grupy leków:

- 1) leki fosforylowane w komórkach aktywnych (stawudyna, zydowudyna);
- 2) leki fosforylowane niezależnie od cyklu komórkowego, także w komórkach w fazie spoczynkowej (lamiwudyna, diadnozy- na, zalcytabina).

Penetracja leków antyretrowirusowych do określonych tkanek i narządów jest zróżnicowana. W tym kontekście wskazuje się rolę

Tabela I. Leki antyretrowirusowe

NRTI	NNRTI	PI
Didanozyna (ddI)	Delawirydyna	Indinawir
Lamiwudyna (3 TC)	Efawirez *	Nelfinawir
Stawudyna (d4 T)	Newirapina	Ritonawir
Zalcytabina (ddC)		Sakwinawir
Azydetymidyna (AZT, ZVD)		Ampenawir *
Abakawir (ABC)*		

(*) - w ostatniej fazie badań klinicznych

glikoproteiny P (Pgp) - transportera wielu leków antyretrowirusowych. Wykazano jej obecność w przewodzie pokarmowym, nerkach, wątrobie, barierze krew-mózg, łożysku, jądrach oraz około 5% limfocytów CD4. Związanie leku z Pgp powoduje zmniejszenie jego przyswojenia po podaniu doustnym, zwiększoną eliminację i w efekcie zmniejszoną penetrację do centralnego układu nerwowego, jąder i łożyska. Okazuje się, że substratami dla Pgp mogą być inhibitory proteazy.

W badaniach doświadczalnych penetracja inhibitorów proteazy do tkanki mózgowej myszy gwałtownie wzrastała w nieobecności Pgp.

Dodanie potencjalnych inhibitorów Pgp (np. cyklosporyny A) wydaje się zwiększać stężenie leków antyretrowirusowych w centralnym układzie nerwowym, jądrach, łożysku oraz limfocytach CD4. Dotychczas jednak istota penetracji leków do wymienionych kompartmentów jest mało poznana, wymaga dalszych badań (2).

HIV do ukończenia cyklu życiowego wewnątrz zainfekowanej komórki wymaga 90% aktywności własnych enzymów także działania enzymów komórki gospodarza. Specyficzne białka wirusowe - odwrotna transkryptaza i proteaza są punktami uchwytu wszystkich aktualnie dostępnych leków antyretrowirusowych. Alternatywnym działaniem

mającym na celu zahamowanie replikacji HIV wirusa jest próba oddziaływania na zaangażowane w replikacji enzymy gospodarza. Pomimo potencjalnie wyższego ryzyka toksyczności w kontekście niespecyficznego hamowania syntezy białek komórkowych gospodarza, jego enzymy są w mniejszym stopniu niż enzymy wirusa skłonne do rozwoju mutacji. Wyrazem tej koncepcji są próby zastosowania hydroksymocznika w połączeniu z innymi lekami antyretrowirusowymi w HAART.

Ostatnie doniesienia wskazują, że hydroksymocznik jako inhibitor reduktazy rybonukleotydów działający na enzymy komórki gospodarza, poprzez zahamowanie syntezy endogennych trójfosforanów dezoksynukleotydów relatywnie zwiększa aktywność nukleozydowych inhibitorów odwrotnej transkryptazy (15).

Pierwszej syntezy hydroksymocznika (HU) dokonano w 1869 roku, w 1920 wykazano jego efekt mielosupresyjny. Od 1960 roku rozpoczęto stosowanie tego leku w terapii nowotworów.

W USA preparat ten jest powszechnie stosowany w leczeniu czerniaka, przewlekłej białaczki szpikowej, a też raka jajnika. Rozszerza się jego zastosowanie kliniczne na anemię sierpowatokrwinkową oraz zakażenia HIV

i AIDS. Pierwszy raport o możliwości stosowania hydroksymocznika u zakażonych HIV pojawił się w 1987, a w 1993 opisano terapię skojarzoną HU + ddI + indinawir (15).

Wykazano, że dostępność biologiczna HU po podaniu doustnym wynosi **100%**, a jego okres półtrwania 1,5-2,5h. Najwyższe stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym HU osiąga 3 godz. po podaniu doustnym. Jest degradowany w wątrobie, eliminowany w postaci: mocznika, CO₂, jak też niezmienionej w moczu. Próby jego zastosowania w leczeniu zakażeń HIV są konsekwencją działania przeciwwirusowego oraz immuno- modulatoryjnego.

Działanie przeciwwirusowe przejawia się poprzez:

- wzmoczenie aktywności NRTIs;
- kompensację oporności na analogi adenozyne (głównie ddI);
- wzmoczenie fosforylacji analogów tymidyny i cytydyny.

Działanie immunomodulatoryjne polega na:

- podwyższeniu liczby dziewiczych limfocytów CD4 i CD8;
- obniżeniu poziomu aktywnych CD8 i w konsekwencji „normalizacji” odpowiedzi immunologicznej na antygeny;
- „odtworzeniu” odpowiedzi HIV specyficznych limfocytów Th ;
- zmniejszeniu „wzmoczonej” aktywności limfocytów CD8 i zapobieganiu „wyczerpaniu” ich puli.

HU hamuje reduktazę rybonukleotydów, enzym komórkowy odpowiedzialny za syntezę endogennych dezoksyrybonukleotydów, jest katalizatorem ograniczającym szybkość replikacji DNA. Blokowanie reduktazy zmniejsza pulę wewnątrzkomórkowych dNTPs możliwych do wbudowania w wydłużający się łańcuch DNA. Utrata wewnątrzkomórkowej puli dNTP pod wpływem HU może ułatwiać wbudowywanie analogów nukleotydów do powstającego wirusowego DNA przez wzrost relatywnego ich stężenia

nad endogennymi dNTP. Może to wzmacniać aktywność leków przeciwwirusowych bez większego hamowania funkcji polimerazy DNA gospodarza. Nie bez znaczenia jest wpływ hydroksymocznika na obniżenie poziomu wolnych rodników tlenowych oraz zmniejszenie szybkości transkrypcji HIV- RNA w HIV-DNA. HIV-RNA jest w porównaniu do HIV-DNA mniej stabilny i szybciej degradowany (7,8).

W badaniach *in vitro* wykazano, że szczególnie wrażliwe na działanie HU w kontekście blokowania reduktazy rybonukleotydów są pochodne puryny. Podanie *in vitro* HU i ddI (prekursora puryny) powodowało hamowanie aktywności odwrotnej transkryptazy w kulturach komórkowych oraz limfocytach krwi obwodowej pobranych od zakażonych HIV (1,8).

Ta kombinacja wydłuża trwałą supresję replikacji HIV-1 powyżej 1 roku, nawet w przypadkach mutantów opornych na inhibitory odwrotnej transkryptazy (9,10).

Oporne na didanozynę mutanty HIV-1 w obecności hydroksymocznika mogą stać się ponownie wrażliwe. Inkorporacja trójfosforanu didanozyny przez odwrotną transkryptazę może być bowiem zwiększona w kontekście obniżonej przez działanie hydroksymocznika produkcji endogennych trójfosforanów nukleotydów. HU wywiera również wpływ na kinazy odpowiedzialne za fosforylację leków antyretrowirusowych. Zatrzymuje on cykl komórkowy w fazie G1, w której kinazy nukleotydów są wysoce aktywne, zwiększając w ten sposób pulę aktywnych NRTIs (analogów nukleotydów) możliwych do wbudowania w łańcuch DNA wirusa.

Hydroksymocznik wywiera efekt modulatoryjny, który może pomóc w kontroli wirusii HIV. Główną komórkową konsekwencją hamowania reduktazy rybonukleotydów jest efekt cytotoksyczny, natomiast wpływ działania cytotoksycznego na układ immunologiczny jest nadal nieznan. Hydroksymocz-

nik redukuje replikację HIV także na drodze obniżenia proliferacji komórek CD4.

Indukowany lekiem spadek liczby aktywnych limfocytów T (komórek „zabezpieczających” pełen cykl rozwojowy cząstek wirusa HIV) może obniżyć ekspresję wirusa.

HU podnosi poziom dziewiczych limfocytów T CD4 i CD8, obniża poziom aktywnych CD8 normalizując odpowiedź immunologiczną na antygeny (7,8,13).

Wg Galpina dziewicze komórki pamięci są rozważane jako zmniejszające lub nawet powodujące zanik progresji zakażenia HIV w AIDS. Jego ostatnie badania sugerują, że zastosowanie kombinacji HU d4T i ddl u zakażonych HIV we wczesnym okresie zakażenia prowadzi po 2-3 miesiącach do wzrostu liczby dziewiczych limfocytów T powyżej 30%, a komórek pamięci CD4 pow. 140%.

Terapia powoduje stłumienie replikacji HIV w komórkach spoczynkowych i ich zwiększoną apoptozę. Tym samym dochodzi do niszczenia rezerwuaru latentnie zakażonych komórek (7).

Wydaje się, że leczenie HAART z zastosowaniem HU rekonstruuje zaburzoną odpowiedź HIV specyficznych limfocytów T cytotoksycznych (8).

Przywrócenie prawidłowych funkcji układu immunologicznego poprzez użycie cytotatyków i leków potencjalnie immunosupresyjnych reprezentuje interesujący paradoks. Wyjaśnieniem jego wydaje się być fakt korzystnego działania HU w zmniejszaniu aktywowania układu immunologicznego przez zakażenie HIV. Aktywacja układu immunologicznego obejmuje między innymi limfocyty CD8 o czym świadczy wzrost ich liczby, jak też skrócenie telomerów. Wzmocniona aktywacja może prowadzić do „wyczerpania” tego klonu komórek i pozbawienia układu immunologicznego jego „gałęzi komórkowej”. Z drugiej strony wzmocniona aktywność limfocytów CD8 odpowiada za immunopatologię zakażenia HIV w kontekście niszczenia lim

focytów CD4. Leki cytostatyczne jak HU mogą zapobiegać „wyczerpaniu” CD8 i ograniczać efekty patogenne tych komórek. Niezależnie od mechanizmów niszczenia CD4 jednoczesne działanie HU na CD4 i CD8 może ułatwiać kontrolę zakażenia HIV, a też zapobiegać uszkodzeniu układu immunologicznego lub rekonstruować uprzednio upośledzone jego funkcje. Przyszłe badania pomogą określić potencjalny zakres działania HU wspomagającego leczenie antyretrowirusowe i sugerowanego odbudowywania funkcji układu immunologicznego.

Pilotowe badania nad zastosowaniem HU i ddl rozpoczęto w XII 1994 roku. Aktualnie prowadzone są liczne badania kliniczne z zastosowaniem hydroksymocznika mające na celu ugruntowanie jego roli w leczeniu HIV. Obejmują one kombinacje hydroksymocznik/ddl w połączeniu z d4T, innymi analogami nukleozydowymi, nienukleozydowymi i inhibitorami proteazy. Dodanie d4T do kombinacji hydroksymocznik/ddl umożliwia objęcie leczeniem zarówno komórek dzielących się, jak i pozostających w fazie spoczynku. Dowiedziono także, że stawudyna indukuje wybiórczą apoptozę komórek pozostających w fazie spoczynku.

Na podstawie wielośrodkowych, kontrolowanych placebo badań 183 pacjentów zakażonych HIV, ze średnią liczbą CD4 350/ml oraz HIV-RNA 4,51og, porównujących 4 schematy leczenia (ddl + AZT, ddl + d4T, HU + ddl, HU + ddl + d4T) wykazano, że poza spodziewaną synergią HU + ddl (sugerowaną na podstawie badań in vitro) dodanie innego nukleozydu (d4T) wzmacnia efekt przeciwwirusowy. Może on być wynikiem mediowanej przez HU utraty endogennych dezoksyrybonukleotydów oraz dalszego dodatkowego sprzężenia zwrotnego i w efekcie wzrostu aktywności kinazy tymidyny odpowiedzialnej za fosforylację stawudyny.

W przeprowadzonych 4 randomizowanych, w tym 3 kontrolowanych placebo wie-

lośrodkowych badaniach 500 pacjentów oceniano kombinacje ddl oraz ddl + d4T z lub bez hydroksymocznika. Badania dotyczyły pacjentów bezobjawowych, w większości wcześniej nie leczonych, z liczbą limfocytów CD4 350-370/ml i poziomem wirerii 4,4-4,61og. Dodanie HU powodowało obniżenie wirerii o 0,4-0,61og. oraz niewielki lub brak wzrostu liczby limfocytów CD4, często już po 12 tygodniach tej terapii.. Terapia była dobrze tolerowana. Wykazano, że HU kompensuje oporność na didanozynę (badanie RIGHT 411).

W kontekście obniżenia wirerii HIV, podobny efekt uzyskano po dodaniu HU zarówno na początku jak i w 12 tygodniu leczenia (SWISS HIV cohort study). Efekt kombinacji HU -t-ddl jest zbliżony do kombinacji ddl + d4T lub AZT (BMS 055). Wzrost dawki HU z 1000 do 1500 mg dziennie powoduje znaczny wzrost toksyczności (14).

Montaner u 26 pacjentów zakażonych HIV z liczbą CD4 100-350 obserwował po dodaniu HU do ddl spadek wirerii po 4 tygodniach terapii o 0,2 log przy dawce skojarzonej 500 mg HU dziennie oraz o 0,63 log przy dawce 1000 mg dziennie. Po odstawieniu HU następował nawrót wirerii. Nie obserwowano równoległego do spadku wirerii wzrostu liczby limfocytów CD4 (3).

Biron stosując powyższą kombinację w dawce 2x 500 mg HU u 12 pacjentów z liczbą CD4 200-600, uzyskał po 3 miesiącach spadek wirerii o 1,7 log w stosunku do poziomu wyjściowego (4).

Villa podając 25 pacjentom zakażonym HIV ze średnią liczbą CD4 525/ml i poziomem wirerii około 30000 kopii/ml HU (2 x 500 mg) + ddl przez okres 1 roku uzyskał po 6 miesiącach u 13/24, a po roku u 10/20 poziom wirerii poniżej 200 kopii/ml (5).

Rutschmann obserwował 144 pacjentów z liczbą CD4 w przybliżeniu 370, u których stosowano ddl + d4T z lub bez HU w dawce

2x 500 mg. U 54% leczonych ddl + d4T + HU uzyskano po 12 tygodniach spadek wirerii HIV poniżej 200 kopii w ml, w grupie bez HU - u 28% pacjentów (6).

We wszystkich cytowanych badaniach terapia była dobrze tolerowana. Wyniki przedstawionych badań są dość obiecujące. Dotyczą one zakażonych HIV we wczesnym okresie zakażenia ze „stosunkowo” wysoką liczbą limfocytów CD4.

Miles stosując skojarzone leczenie HU + d4T+3 TC przez 8 tygodni u chorych z liczbą CD4 63/ml, wcześniej otrzymujących lamiwudynę i stawudynę, obserwował obniżenie wirerii o 1,76 log ze stwierdzonymi mutacjami na obydwu leki. Terapia nie mogła być jednak kontynuowana ze względu na złą tolerancję (11).

Wśród opisywanych działań ubocznych hydroksymocznika wymienia się: neutropenię, trombocytopenię, niedokrwistość, nudności, wymioty, biegunki, anoreksję, wysypki skórne, świąd, hyperpigmentację i łuszczenie skóry oraz wypadanie włosów. Ze względu na możliwość działania teratogennego i embriotoksycznego nie powinno się wdrażać go we wczesnym okresie ciąży. Wydaje się, że późniejsze stadium zakażenia usposabia do ujawnienia toksyczności HIV.

Za zastosowaniem HU u zakażonych HIV przemawiają:

- niska cena, a zatem możliwość szerokiego stosowania w krajach rozwijających się o wysokim stopniu szerzenia się zakażenia HIV;
- używanie przez ponad 30 lat w terapii niektórych chorób rozrostowych;
- dobrze poznane działania uboczne;
- brak krzyżowej oporności z lekami antyretrowirusowymi.

Terapia skojarzona z zastosowaniem HU + ddl + np. PI, lub HU + ddl + d4T +... stwarza nadzieje na wydłużenie życia i poprawę jego jakości u zakażonych HIV we wczesnych fazach zakażenia.

PISMIENICTWO

1. Sommadossi J.P.: Cellular nucleoside pharmacokinetics and pharmacology: a potentially important determinant of antiretroviral efficacy. *AIDS* 1998, 12(suppl.3):1-8.
2. Hoetelmans R.M.W: Drug activation and compartmentalization. The Third European Stavudine Symposium 1999, Cannes.
3. Montaner J.S., Zala C., Conway B. et al.: A pilot study of hydroxyurea among patients with advanced human immunodeficiency virus disease receiving chronic didanosine therapy. *Canadian HIV Trial Network prot.080 J.Infect.Dis.* 1997;175:801-806.
4. Biron F, Lucht F., Peyramond D et al.: Pilot clinical trial of combination of hydroxyurea and didanosine in HIV-1 infected individuals. *Antiviral Res.* 1996, 29: 111-113.
5. Vila J., Biron F., Nugier F et al.: 1 Year follow-up of the use of hydroxycarbamide and didanosine in HIV infection. *Lancet* 1996; 348: 203-204.
5. Rutschmann O.T., Opravil M., Iten A et al. A placebo controlled trial of didanosine plus stavudine with and without hydroxyurea for HIV infection. *AIDS* 1998, 12: 71-77.
6. Galpin J. Hydroxyurea-Based Triple Combinations show promise in treating
7. Lori F., Lisiewicz J. Hydroxyurea: mechanisms of HIV-1 inhibition *Antiviral Therapy* 1998,3(Suppl.4) 25-33.
8. Lori F., Malykh A.G., Foli A. et al. Combination of a drug targeting the cell with a drug targeting the virus controls HIV type 1 resistance. *AIDS Res.Hum. Retrov.* 1997,16 (13): 1403—1410
9. Foli.A., Lori F., Maserati R. et al. *Antiviral Ther.* 1997, 2(1): 31-38.
10. Miles S., Winters R., Ruane P. Salvage of multi-drug resistant HIV infection with d4 t/3 tC/hydroxyurea. 12 th World AIDS Conference Geneva.
11. Halota W i wsp. Zakażenia HIV i AIDS w praktyce lekarskiej. Szczecin 1998
12. Federici M., Lupo S., Cahn P et al. Hydroxyurea in combination regimens for the treatment of antiretroviral naive HIV infected adults. 12 th World AIDS Conference Geneva
13. Lori F. Hydroxyurea: beyond the clinical anecdote. The Third European Stavudine Symposium 1999, Cannes.
14. Gao W.Y., Cara A., Gallo R et al. Low levels of deoxynucleotides in peripheral blood lymphocytes: a strategy to inhibit human immunodeficiency virus type 1 replication. *Proc.Natl.Acad. Sci.*

HCV - WSPÓŁCZESNE ZAGROŻENIE

Waldemar Halota

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych
Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

O tym, iż zakażenia HAV i HBV (i HDV) nie są jedynymi wirusami hepatotropowymi człowieka wiemy od dawna. Wskazywały na to jednoznacznie przypadki potransfuzyjnych zapaleń wątroby, których etiologia była nie znana.

W konsekwencji pojawiła się grupa wirusowych zapaleń wątroby określana terminem non A, non B hepatitis. Problem był na tyle poważny, że transfuzjolodzy dla zmniejszenia ryzyka krwiobiorców wprowadzili do rutynowego badania dawców krwi tzw. testy surogatowe - eliminowano krew dawców, u których występowały biochemiczne wykładniki uszkodzenia wątroby. O tym, że przyczyną tych, wówczas niediagnostycznych etiologicznie zapaleń wątroby są czynniki zakaźne wskazywały prace Bradleya (1). Udało mu się przenieść czynnik zakaźny z człowieka na małpy, a następnie dokonać transmisji zakażenia między zwierzętami. Nawiasem mówiąc, z tych prowadzonych w połowie lat 80-tych doświadczeń wynikało, iż istnieją co najmniej 2 wirusy odpowiedzialne za uszkodzenie wątroby - inne czynniki wywoływały uszkodzenie wątroby u tamarynów, inne u szympanów.

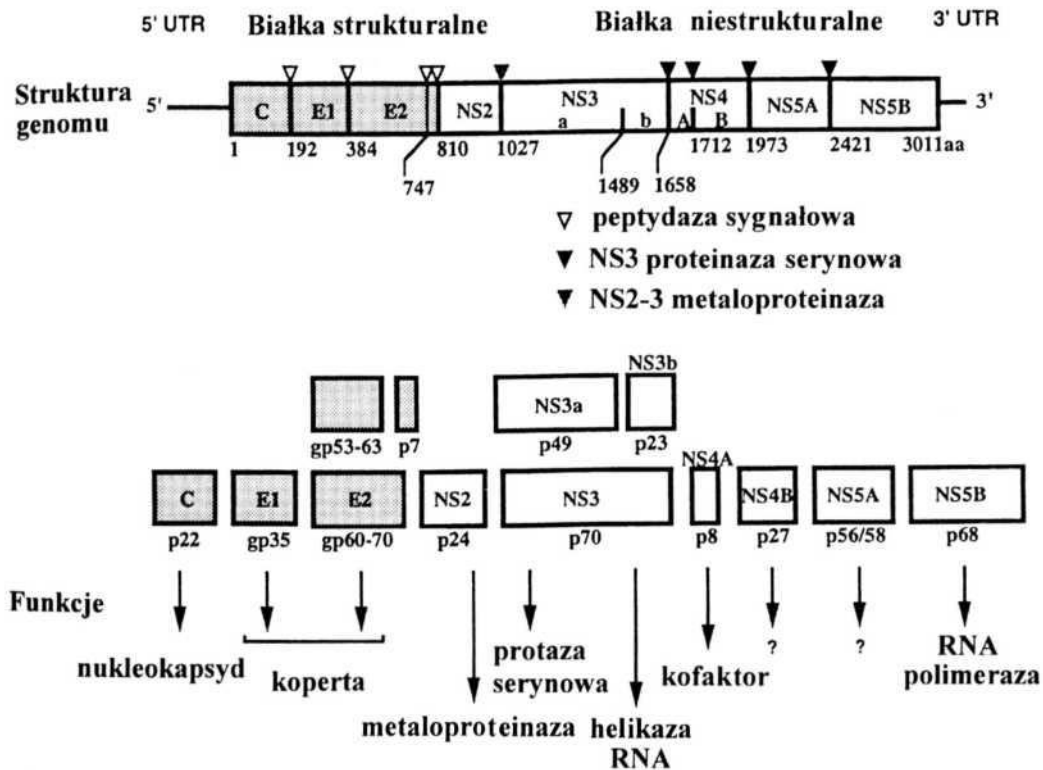
Momentem przełomowym było odkrycie wirusa HCV oraz wprowadzenie wkrótce potem testów diagnostycznych do praktyki klinicznej. Dopiero w konsekwencji swoistych badań diagnostycznych okazało się, że większość zakażeń HCV jest przez wiele lat bezobjawowa. Uświadomiono wówczas sobie, iż wirus, któremu przypisywano wywoływanie potransfuzyjnych zapaleń wątroby

często ulega transmisji bez związku z krwiolęcznictwem. Ponadto stało się oczywiste, że objawowe postaci tych zakażeń to wierzchołek góry lodowej, większość z nich bowiem ujawnia się dopiero po wielu latach bezobjawowego przebiegu.

HCV odkryty w 1989 roku, zaliczany jest do rodziny Flaviviridae, rodzaju Hepacivirus. Wirus ma budowę sferyczną, średnicę cząstki około 50nm, posiada otoczkę. Materiał genetyczny tworzy jednoniciowy RNA. Genom posiada dużą ramkę odczytu (ORF), która koduje prekursorową poliproteinę zbudowaną z 3008 - 3037 aminokwasów. Białka strukturalne C, E1 i E2 zlokalizowane są w N końcowej części poliproteiny, natomiast białka niestrukturalne występują w C końcowej części. Struktura genomu HCV przypomina genomy pestiwirusów i flawiwirusów. Jak wynika z ryciny 1 białko prekursorowe jest dzielone przez sygnalizację komórki zakażonej i wirusowe proteazy (ryc. 1).

Niekodujący region 5'UTR jest niezmienny niezależnie od typu HCV. W jego obrębie znajduje się sekwencja kodująca miejsce zapoczątkowujące niezależną od czapeczki (cap) translację na rybosomach (IRES internal ribosome entry site).

Wiele białek komórkowych takich jak PTB (poly pyrimidine tract binding protein), antygen La, białko o masie 25kD czy hnRNP L (heterogenna jądrowa rybonukleoproteina) wywołują IRES - zależną translację. W regionie 3' UTR występują krótka homopolimeryczna poli (U) lub poli (A) zmienna w zależności od genotypu oraz wysoce konserwatyw-



Rycina 1. Organizacja genomu HCV i kodowane białka

na 98-nukleotydoma sekwencja oznaczona jako 3' X. Wykazano łączenie się PTB z sekwencją 3' X, co wzmacnia translację IRES wskazując na jej udział w replikacji wirusów.

Białko rdzenia tworzy nukleokapsyd. Jest to sekwencja aminokwasów identyczna niezależnie od szczepu HCV, o wielkości 16–23kD. C końcowy region białka C jest hydrofobowy, uważany za przezbłonową domenę utrzymującą białko w retikulum endoplazmatycznym (ER). Białko rdzenia ma zdolność wiązania białek komórkowych i wirusowych, tworząc homodimery i multidimery, a z białkiem E1 także kompleksy heterodimeryczne. W zakażonej komórce łączy się z apolipoproteiną AII, receptorem limfotoksyny beta (LTb-R) i receptorem dla czynnika martwicy nowotworów (TFNR).

Białko rdzeniowe oznaczone literą C (core) zostaje odcięte z pierwotnej polipeptydy przez sygnałazę komórki zakażonej. Uważa się, że są to białka nukleokapsydu, którego sekwencja jest wysoce konserwatywna, aczkolwiek wielkość jego jest zmienna 23-16kD. Białko to wykrywa się głównie w cytoplazmie, rzadziej w jądrze. Białka rdzenia łączą się z białkami wirusowymi i komórkowymi tworząc różnorodne kompleksy. Wskazuje się, iż białko to może zaburzać komórkowy metabolizm lipidów i modulować odpowiedź immunologiczną na zakażenie, a też apoptozę. W doświadczeniach na myszach transgenicznym wykazano, iż białko rdzeniowe poza stłuszczeniem hepatocytu może stymulować hepatokarcynogenezę.

Konserwatywne białko rdzeniowe ma silne właściwości immunogenne oraz karcynogenne. Inną cechą związaną z właściwościami białka rdzeniowego jest jego zdolność do supresji replikacji HBV. Interferencję HBV i HCV potwierdzono na modelach doświadczalnych jak i w spostrzeżeniach klinicznych (14,15). HCV oprócz tropizmu do hepatocytów wykazuje powinowactwo do komórek jednojądrowych krwi obwodowej.

Białka koperty E1 i E2 są prawdopodobnie odpowiedzialne za procesy adhezji i wnikięcia wirusa do komórki. Wskazuje się, że zmiany w budowie koperty mogą być przyczyną nieskuteczności mechanizmów immunologicznych. W białku E2 występują 2 regiony hyperzmiennie (HVR-1 i HVR-2) (12,17). Przeciwciała przeciwko HVR-1 utrudniają wiązanie wirusa z komórkami hodowli tkankowych, przez co mogą zapobiegać zakażeniu. W doświadczeniach na zwierzętach wykazano, że ten region posiada epitopy odpowiedzialne za neutralizację tych przeciwciał, co w konsekwencji poddaje w wątpliwość ich znaczenie kliniczne.

Z drugiej strony istnieją doniesienia o występowaniu korelacji między przedłużonym wysokim poziomem przeciwciał neutralizujących a ustępowaniem wykładników przewlekłego zapalenia wątroby. Być może więc jest to słuszny kierunek poszukiwań terapeutycznych. Ostatnio wskazuje się, iż działanie przeciwciał neutralizujących blokuje łączenie się białka E2 z receptorem CD 81, do którego przyłączane są również pełne cząstki wirusa. Białka E1 i E2 podejrzewane są także o udział w patogenezie zespołu Sjögrena u zakażonych HCV.

Białka NS2-NS5b są domniemanymi niestrukturalnymi białkami odpowiedzialnymi za powstawanie białek wirusowych i replikację.

Białko NS2 o masie 23kD jest białkiem transbłonowym, zbudowanym z 810-1026 aminokwasów. Białko NS3 o masie 70kD

zawiera sekwencję motywów proteazy serynowej, nukleozydowej trójfosfatazy (NTPaza) i RNA helikazy. Białko NS4A jest kofaktorem dla proteazy serynowej NS3. NS4A ma związek z hyperfosforylacją NS5A. Funkcja hydrofobowego białka NS4B jest nieznana.

W obrębie C terminalnej połowy NS5A znajduje się region wrażliwy na interferon ISDR (IFN sensitivity determining region). Wykazano, że NS5A współdziała z mediatorami komórkowej oporności na interferon, co może wskazywać na jego rolę upośledzającą odpowiedź na działanie interferonu.

Sekwencja NS5B jest wysoce zakonserwowana. Jest to fosfoproteina zawierająca motyw RNA zależnej RNA polimerazy, co przesądza o jej udziale w replikacji HCV.

Genom wirusa złożony z około 9500 nukleotydów składa się w ponad 60% z sekwencji konserwatywnych oraz w około 30% z sekwencji wysoce zmiennych. Ta zmienność, dotycząca szczególnie regionów HVR-1 i HVR-2 determinuje występowanie genotypów i podtypów czy quasispecies. Duża różnorodność genetyczna HCV, a też wysoka zdolność mutacji oceniana dla całego genomu na $1,44 \times 10^{-3}$ /locus/rok, a dla regionów HVR na 10-krotnie wyższą stanowią główne utrudnienie w przygotowaniu szczepionki p/wzw C (12,17).

W związku z występowaniem wielu odmian genotypowych wirusa HCV istnieje pojęcie molekularnej epidemiologii tych zakażeń (5). W USA i Europie Zachodniej występują głównie genotypy 1a, 1b, 2a i 3a; w Europie Wschodniej dominuje 1b, w Japonii, Chinach i na Tajwanie genotyp 2, Hongkongu i Makao 6, a w Afryce Północnej 4.

Zakażenia HCV są znacznie ważniejszym od HBV współczesnym, realnym zagrożeniem ludzkości. Trudności w opracowaniu szczepionki sprawiają, iż trudno będzie w najbliższych latach zmniejszyć dynamikę nowych zakażeń. Światowa Organizacja

Zdrowia szacuje, iż około 3% populacji świata jest zakażonych HCV. Ze względu na bezobjawowe przebiegi (u około 90%) i nieprecyzyjną rejestrację dane te mogą okazać się zaniżone. Niektórzy szacują liczbę zakażonych HCV na świecie na około 300 mln. Najwyższe odsetki zakażeń notuje się w krajach Afryki (5–10%), Ameryki Południowej, Środkowego Wschodu oraz Europy Wschodniej (około 2%). Nierzadko, zakażenie HCV współistnieje z zakażeniem HBV (14,15).

Światowa Organizacja Zdrowia szacuje, iż w Polsce zakażonych jest około 1,5% populacji. Brakuje szerokich, dobrze udokumentowanych badań.

Badania przeprowadzone w 1999 roku w kilku polskich miastach wykazały zakażenia HCV u około 4% spośród 14.435 osób badanych (w przedziale od około 1 do 6,5% w poszczególnych ośrodkach). Były to badania „na życzenie”, stąd nie są miarodajne dla przeciętnej populacji. Podobny odsetek zakażonych HCV wykryto u 1.000 kolejno przyjmowanych do leczenia dzieci w jednej w bydgoskich klinik, a też badanych przez nas ponad 300 chorych na cukrzycę (13,18). Z faktu, że zakażenia wykryto częściej u dzieci małych oraz że 4% zakażeń HCV u cukrzyków stoi w wyraźnej dysproporcji z odsetkiem wykrytych u nich zakażeń HBV można sformułować pogląd, iż obecnie znajdujemy się w okresie szczególnie szybkiej transmisji zakażeń HCV (6). Gdyby założenie to było słuszne, to Polska byłaby opóźniona do innych krajów. W Japonii i Włoszech zakażenia HCV rozpowszechniły się w latach czterdziestych, natomiast w Stanach Zjednoczonych w latach sześćdziesiątych. Sądzi się, iż przyczyniły się do tego masowe szczepienia ochronne. W ciągu ostatnich 20 lat współczynnik śmiertelności w przebiegu pierwotnego raka wątroby etiologii HCV w Japonii wzrósł 3,5-krotnie (10).

Z badań własnych wynika, iż zakażenia te szczególnie często występują u osób przy-

mujących środki odurzające drogą dożylną (70%), zwłaszcza zakażonych HIV (90%). Ryzyko transmisji HCV z matki na dziecko, które przeciętnie jest niewielkie, wzrasta w przypadku współistniejącego zakażenia HIV do około 50-60%. Ciekawe jest spostrzeżenie dotyczące selekcji genotypowej HCV podczas zakażenia wertykalnego. Pomimo współistniejącego zakażenia matki różnymi genotypami HCV, do krwi noworodka przedostaje się tylko jeden z nich.

Główną drogą zakażenia wirusami hepatotropowymi przenoszonymi drogą parenteralną są nadal w Polsce zakażenia szpitalne (6,11) (tab. I).

Jak wynika z wyżej przedstawionej tabeli wśród zakażonych HCV stosunkowo nieliczną grupę stanowili pacjenci, którym wcześniej przetaczano krew lub preparaty krwiopochodne. W Bydgoszczy w ostatnich latach zakażenia HCV wykrywa się u około 0,5% kandydatów na krwiodawców oraz 0,2% donacji. Wśród potencjalnych dróg zakażenia przeważali chorzy (243/467) poddawani zabiegom chirurgicznym lub innym prostym procedurom z przerwaniem ciągłości tkanek. Nieskuteczne metody sterylizacji narzędzi są przyczyną szerzenia się zakażeń HCV drogą zabiegów chirurgicznych i prostych procedur medycznych (drobne zabiegi, iniekcje, pobranie krwi) lub niemedyce (przekłuwanie uszu, tatuaż, manicure).

Niewykluczone, iż wśród 40% tzw. zakażeń sporadycznych wskazywanych na Zachodzie znajdują się również przypadki takich zakażeń. Z drugiej strony poglądy o roli zakażeń szpitalnych w transmisji HCV mogą być obarczone błędem „nadrozpoznowalności”, gdyż nie ma człowieka, który nic byłby poddany zabiegom medycznym. Dotyczy to również 50 pacjentów z przedstawionej tabeli, którzy negowali kontakty z jednostkami służby zdrowia.

Uwzględniając fakt marginesowej roli zakażeń HCV drogą wertykalną, a też niewiel

Tabela I. Domniemane drogi zakażeń HCV.

	Lata				Razem:
	91-92	93-95	96-97	98-99	
Iniekcje i inne proste procedury medyczne	29	63	64	54	210
Zabiegi chirurgiczne z przetoczeniem krwi lub preparatów krwiopochodnych	22	8	17	20	67
Zabiegi chirurgiczne bez przetoczeń	15	22	25	61	123
Przetoczenia krwi i produktów krwiopochodnych	4	3	5	5	17
Bez kontaktów z jednostkami służby zdrowia	3	19	22	6	50
Razem:	73	115	133	146	467

* na podstawie badań prowadzonych wśród pacjentów z rozpoznaniem zakażenia HCV hospitalizowanych w Klinice Chorób Zakaźnych AM w Bydgoszczy

kiego odsetka zakażeń wykrywanych w otoczeniu osób zakażonych nie ma wątpliwości, iż droga jatrogena dominuje w ich transmisji. Przesądza o tym również fakt, że droga seksualna szerzenia się tych zakażeń ma prawdopodobnie niewielkie znaczenie. Ciekawe są obserwacje niemieckie dotyczące małżonków kobiet zakażonych HCV wskutek podania im zakażonej immunoglobuliny anty D. U żadnego z badanych mężczyzn nie wykazano zakażenia HCV w ciągu 15 lat ekspozycji. Podobnie nie wykazano transmisji zakażenia HCV tą drogą na żony zakażonych HCV hemofilików. Badacze azjatyccy wskazują jednak, że drogi tej nie należy bagatelizować, podejrzewali ją u 20% współmałżonków.

W Polsce poza narkomanami do grupy szczególnego ryzyka zakażeń HCV należą hemodializowani, u których wykładniki zakażenia stwierdza się z częstością 30 - 60%.

Badania przesiewowe w kierunku zakażenia HCV wykonuje się przy pomocy testów immunoenzymatycznych. Wykrycie przeciwciał anty HCV nie przesądza o zakażeniu ani chorobie. Często dla potwierdzenia obecności

ści anty HCV stosuje się testy uzupełniające na przykład LiaTek (Organon Technika). W istocie charakter wykrywanych przeciwciał nie jest jasny, niezależnie od rodzaju stosowanego testu. W konsekwencji do rutynowej diagnostyki tych zakażeń weszły techniki oznaczania wirerii HCV. Naturalnym uzupełnieniem tych badań jest ocena morfologiczna wątroby. Zrozumiałe, iż u podłoża badań w kierunku zakażenia HCV leżą patologiczne wyniki badań biochemicznych wątroby. Ważne aby pamiętać, że niekiedy anty-HCV pojawiają się później niż objawy kliniczne tego zakażenia. Nie można ponadto zapominać, iż HCV może nakładać się na inną patologię wątroby, współistnieć na przykład z zakażeniem HBV. Opisywano fałszywie dodatnie wyniki oznaczeń HCV w przypadkach hipergammaglobulinemii różnej etiologii. U około 7% badanych nie wykrywa się przeciwciał anty HCV mimo obecności zakażenia.

W Polsce dominują zakażenia genotypem 1b HCV, podobnie jak w innych krajach europejskich. Z badań własnych wynika, iż niejednokrotnie u jednej osoby występują zaka-

żenią kilkoma serotypami HCV. Przypadki takie wykrywa się najczęściej wśród narkomanów (25%), nie są one rzadkie w grupach dorosłych i dzieci, zwłaszcza wielokrotnie hospitalizowanych (5).

HCV jest wirusem pierwotnie hepatotropowym, często występującym w mononuklearach krwi obwodowej (do 4/5 badanych przypadków). Wskazuje się, iż u podłoża skąpoobjawowej manifestacji zakażeń leży niewielka ekspresja białek wirusa w komórkach zakażonych, a też wysoka jego mutagenność. W efekcie naturalne mechanizmy obrony gospodarza mają ograniczoną skuteczność. Dominującą rolę odgrywa odporność komórkowa, odpowiedzialna za wywoływanie odczynów zapalnych i martwiczych. Od aktywności limfocytów cytotoksycznych zależy prawdopodobnie możliwość eliminacji zakażenia. Jej warunkiem jest liza zakażonych komórek w mechanizmie apoptozy me-

diowanej przez aktywację układu Fas - Fas ligand i/lub perforyn i granzymów. Z faktu, iż cytokiny wytwarzane przez subpopulację Th1 CD4 odgrywać mają nadrzędną rolę w zwalczaniu zakażenia HCV wypływają implikacje terapeutyczne (16).

Powszechnie bezobjawowy przez wiele lat przebieg zakażenia nie upoważnia do wnioskowania o braku patologii wątroby w tych przypadkach.

Jak wynika z badań własnych przedstawionych w poniższej tabeli bardzo rzadko nie wykrywa się zmian morfologicznych w wątrobie w przebiegu zakażenia HCV. Tylko 12 spośród 270 badanych pacjentów nie miało wykładników choroby w obrazie histologicznym wątroby. Przeważały jednak niewielkie zmiany morfologiczne, co wynika prawdopodobnie z krótkiego okresu zakażenia wśród badanych pacjentów (tab. II).

*Tabela II. Wyniki badań morfologicznych wątroby u zakażonych HCV**

Wyniki badania	Dzieci	Dorośli	Razem
Norma		4	2 6
St. post hepatitisem	-	6	6
Hepatitis viralis acuta	-	1	1
Hepatitis acuta protracta	13	23	36
Hepatitis minimalis	69	40	109
Hepatitis chronica persistens	21	54	75
Hepatitis chronica activa	-	8	8
Fibrosis periportalis hepatis	2	6	8
Fibrosis portalis	-	5	5
Cirrhosis hepatis	-	5	5
Hepatitis toxica	-	4	4
Steatosis diffusa	-	5	5
Hepatitis reactiva	-	2	2
Razem:	109	161	270

* tradycyjna klasyfikacja rozpoznań morfologicznych.

Wyniki tych badań potwierdzają pogląd, iż klasyczne nosicielstwo HCV jest rzadkie. Grob i Pontisso wskazują, iż takie przypadki mogą mieć miejsce tylko u poniżej 10% badanych. Według tych badaczy spontaniczne ustąpienie zakażenia występuje nie częściej niż u 2% spośród nich (rocznie). Przewlekłe zakażenie HCV jest najczęstszą przyczyną hepatokarcynogenezy. Po kilkunastu latach od zakażenia u 10 - 20% chorych dochodzi do rozwoju zmian marskich w wątrobie (7).

Bogata jest pozawątrobową manifestacja tych zakażeń. Najczęściej obserwuje się krioglobulinemię, choroby tarczycy, zaburzenia czynności gruczołów wydzielania zewnętrznego przypominające zespół Sjogrena, porfirię, liszaj płaski, zapalenia nerek. Nie w każdym z tych przypadków etiologia HCV została udowodniona. Należy do nich również wiązanie HCV z chłoniakiem nie-ziarnicznym.

W ostatnim czasie zmienia się ranga interferonu w leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby typu C. Powszechnie wskazywano na jego ograniczoną skuteczność, niezależnie od wielu czynników mogących mieć wpływ na jego efektywność. Do najważniejszych należały dawka i okres leczenia, czas trwania zakażenia, wiek pacjenta, aktywność biochemiczna i morfologiczna choroby, genotyp zakażający oraz szczególnie często obserwowana zdolność mutacji HCV. W konsekwencji efektywność terapii wahała się od 10 do 20% leczonych.

Od dwóch lat podstawowym standardem leczenia tych chorób jest łączenie interferonu alfa-2 z rybawiryną, pochodną nukleozydów. Wskazuje się, iż podnosi to skuteczność terapii do niespełna 50%. Być może będzie ona jeszcze wyższa przy zastosowaniu do tego skojarzonego leczenia postaci interferonu o przedłużonym działaniu (np. PEG Intron) (2,3,4,8,9).

PISMIENICTWO:

1. Bradley D.W., Maynard J.E., Popper H.: Post-transfusion non A, non B hepatitis. Physicochemical properties of two distinct agents. *J.Infect.Dis.* 1983, 148: 254-265.
2. Brillanti S., Garson J., Foli M. i wsp.: A pilot study of combination therapy with ribavirin plus interferon alfa for interferon alfa resistant chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1994; 107: 812-817.
3. Degos F., Daurat V., Chevret S. i wsp.: Reinforced regimen of interferon alfa-2a reduces the incidence of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C: A multicentre randomised trial. *J.Hepatol.* 1998; 29: 224-232.
4. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Paris 1999. *J.Hepatol.* 1999; 30: 956-961.
5. Halota W., Pawłowska M., Bulik F. i wsp.: Serotypy HCV w populacji polskiej. *Hepatologia Polska* 1998; 5(1):3-7.
6. Halota W., Pawłowska M., Korybalski Ł. i wsp.: Characteristics of HCV epidemic in Poland. *J.Gastroenterol. Hepatol* 1998; 13(suppl.): A22.
7. Hayashi J., Aoki H., Arakawa Y., Hino O.: Hepatitis C Virus and Hepatocarcinogenesis. *Intervirolology*, 1999; 42,2-3: 205-210.
8. Hino K., Okuda M., Konishi T. i wsp.: Serial assay of hepatitis C virus RNA in serum for prediction response to interferon alfa therapy. *Dig.Dis.Sci.* 1995; 40: 14-20.
9. Iino S.: Problems in the Treatment of Hepatitis C with Interferon. *Intervirolology* 1999; 42: 166-172.
10. Iino S.: Relationship between infection with hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma in Japan. *Antiviral.Ther.* 1998; 3(suppl.3): 143-146.
11. Juszczyk J.: Wirusowe zapalenia wątroby. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 1999.
12. Kato N., Ootsuyama Y., Sekiya H. i wsp.: Genetic drift in hypervariable region 1 of the viral genome in persistent hepatitis C virus infection. *J. Virol* 1994; 68: 4776-4784.

14. Pawłowska M., Halota W., Smukalska E. i wsp.: Does HCV superinfection change natural history of chronic B hepatitis in children? *Acta Gastro Enterologica Belgica* 1998; 2(61): 251.
15. Pawłowska M., Smukalska E., Halota W. i wsp.: Analysis of HBV and HCV coinfections among children. *J.Gastroenterol.Hepatol.* 1998; 13(supp!.): A56.
16. Pawłowska M.: Wybrane aspekty na przewlekle zapalenie wątroby typu C leczonych interferonem lub interferonem i rybawiryną. Rozprawa habilitacyjna, w druku.
17. Suzuki R., Suzuki T., Ishii K., Matsuura Y. i wsp.: Processing and Functions of Hepatitis C Virus Proteins. *Intervirology* 1999; 42: 145-152.
18. Tyczyńska Hoffmann B.: Zakażenia HCV u dzieci i ich następstwa kliniczne. Praca

NEGATYWNE CZYNNIKI ODPOWIEDZI NA LECZENIE INTERFERONEM-A PRZEWLEKLIWYCH ZAKAŻEŃ WIRUSEM C ZAPALENIA WĄTROBY

Jacek Juszczak

Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych Akademii
Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu Kierownik Kliniki i Dyrektor
Instytutu: prof. dr hab. J. Juszczak

Streszczenie. Przedstawiono podstawowe dane z piśmiennictwa, które mogą mieć wpływ na brak odpowiedzi na leczenie przeciwwirusowe u zakażonych wirusem C zapalenia wątroby. Znane do tej pory fakty nie są jednak wystarczające do wyjaśnienia patogenetycznych warunków zakażenia tym wirusem.

Summary. The basic literature data connected with lack of response to antiviral treatment of persons infected with hepatitis C virus is presented. Despite the known facts in this field, the pathogenesis of this infection is still not fully understood.

Patogeneza wirusowego zapalenia wątroby (wzw.) wywołanego przez wirusa C zapalenia wątroby (HCV) nie jest w pełni wyjaśniona. Również wyniki leczenia przewlekłych zapaleń wątroby (pzw.) wywołanych przez zakażenie HCV nie są zadawalające. Dotyczy to zarówno leczenia interferonem-a (IFN), jak i skojarzonego, przy jednoczesnym zastosowaniu IFN i ribawiryny. Leczenie skojarzone (materiał europejski): IFN-a w dawce 3 mln j. 3 razy w tygodniu i ribawiryną w dawce 1000-1200 mg przez 48 tygodni, dało zanik HCV RNA po upływie pół roku od zakończenia terapii w 43% przypadków w porównaniu z 19% chorych, którym podawano tylko IFN-a (5). W badaniach amerykańskich uzyskano podobne wyniki, odpowiednio: 38% i 13% (9). W naszym materiale odsetek pomyślnych wyników terapii przy zastosowaniu samego IFN-a wynosił tylko 7,7% (3). Z punktu widzenia poznawczego podstawowe znaczenie ma wyjaśnienie zarówno podłoża odpowiedzi na terapię, jak

i braku tego efektu. Autor szczególną uwagę chce skupić na tym drugim wątku, zgodnie z treścią referatu wygłoszonego na sympozjum poświęconym problemowi lekooporności drobnoustrojów. Kluczem do podjęcia tematu jest bardzo złożony problem patogenetyki zakażenia HCV.

W największym skrócie pzw. typu C można ująć jako stan replikacji wirusa o dużej mutagenności w warunkach zbyt słabej odpowiedzi immunologicznej. Charakterystyczną cechą HCV, podobnie jak i innych wirusów, w tym HIV, jest właściwość tworzenia bardzo licznych mutantów powstających pod wpływem presji immunologicznej gospodarza. Region o największej zmienności jest zlokalizowany we fragmencie genomu HCV kodującego białko otoczkowe o symbolu E2, określane jako region nadzmienny o symbolu HVR-1 (17). Występowanie mutantów, będących pseudotypami (quasispecies) jest traktowane jako przyczyna niemożności wykształcenia odpowiednio swoistej

odpowiedzi typu humoralnego i komórkowego na epitopy wirusa. Jest też podnoszone jako przyczyna niepowodzenia leczenia przeciwwirusowego IFN-a (13). Ostatnio pogląd ten jest podważany, przynajmniej w kontekście z dotychczasowym ujęciem ilościowym. Przy zastosowaniu nowszych metod różnicowania pseudotypów powstających w związku z mutacjami w regionie HVR-1 wykazano, że nie ma różnic w ich liczbie zarówno u chorych ze słabo wyrażonymi cechami zapalenia i martwicy hepatocytów, jak i w marskości wątroby. Jak również - u odpowiadających i nie odpowiadających na leczenie IFN-a (8). Cytowani tu autorzy podkreślają, iż prawdopodobnie większe znaczenie ma jakościowe zróżnicowanie mutantów, a także lokalizacja cechy zmienności w innym miejscu, aniżeli region HVR-

1. Genetyczna kompleksowość cząstek HCV przejawia się także ich odmiennością w zależności od pochodzenia, tj. z wątroby, surowicy i mononuklearów krwi obwodowej (12). Problem ten wymaga dalszych badań, lecz dotychczas uzyskane wyniki wskazują na to, iż obecność mutantów, niezależnie od szczegółowej wiedzy z tego zakresu, jest typowa dla pzw. wywołanego zakażeniem HCV oraz jest najprawdopodobniej czynnikiem podtrzymującym przewlekłość infekcji.

Białka kodowane przez genom HCV mają także własności negatywnego wpływu na przeciwwirusowe oddziaływanie IFN-a. IFN-a ma własności indukowania transkrypcji wielu genów przeciwwirusowych, w tym aktywowaną przez RNA kinazę białkową (PKR), przez co zwiększa się wewnątrzkomórkowa synteza tego enzymu hamującego wytwarzanie białek wirusowych. Białko otoczkowe E2 ma sekwencje identyczne z kinazą białkową (PKR), przez co hamuje aktywność tego enzymu (15). Sekwencje PKR wykazują większe podobieństwo do białka w zakażeniach szczególnie opornych na leczenie IFN-a, tj. 1a i 1b, aniżeli w genoty-

pach o większej wrażliwości, tj. 2a, 2b i 3a (15). Podobne działanie ma mały, zmienny region umiejscowiony w białku niestrukturalnym NS5A genomu HCV, co po wstępnych doniesieniach ostatnio potwierdzono

(14). HCV prawdopodobnie posiada własności interferencji z IFN-a poprzez oddziaływanie na dwóch poziomach: via NS5A i E2. Interakcja NS5A PKR może być czynnikiem powstawania oporności na IFN-a, natomiast E2-PKR może odpowiadać za zróżnicowanie oporności pomiędzy poszczególnymi genotypami (15).

Białko rdzeniowe HCV posiada także własności interakcji z czynnikami komórkowymi, takimi jak receptor czynnika martwicy nowotworu, TNF (19). Znaczenie tej cytokiny w zakażeniu HCV, jako ważnego mediatora zapalenia oraz odpowiedzi komórkowej, wytwarzanego przez aktywowane monocyty i komórki Browicza Kupffera była i jest przedmiotem badań kilku zespołów. TNF-a ma mieć własności wywoływania apoptozy

(19). Wykazano zwiększoną ekspresję mRNA TNF-a w mononuklearach krwi obwodowej i w komórkach wątrobowych u nieodpowiadających na leczenie IFN-a (7). Uważa się (20), że największe znaczenie ma w tych procesach poziom ekspresji genu tego czynnika, a nie jego stężenie w krwi obwodowej. Leczenie IFN-a nie wpływa także na poziom rozpuszczalnych form TNF-a (STNF-a) dających się wykryć w surowicy

(20). Białko rdzeniowe HCV ma także własności modulacyjne na czynnik jądrowy κ B, co wykazano tylko w warunkach *in vitro* z użyciem transfekowanych linii komórkowych (18). Chociaż szczegóły tego zjawiska nie są dokładnie poznane, dysregulacja jego funkcji może mieć potencjalny wpływ na przetrwanie HCV w hepatocytach.

Wiele uwagi poświęca się reaktywności komórek CD4 w zakażeniu HCV, ze względu na ich kluczową rolę w sterowaniu zarówno odpowiedzią humoralną, jak i komórkową.

Na podstawie wielu doniesień można stwierdzić, iż silna początkowa odpowiedź ze strony limfocytów o tym fenotypie jest związana z samoistnym wyleczeniem i eradykacją wirusa (6 i in.). Klirens wirusa jest związany z cytokinami charakterystycznymi dla dominacji odpowiedzi typu Th1, a więc głównie interleukiny-2 i interferonu-g, w odróżnieniu od syntezy interleukin typu Th2, tj. przede wszystkim IL-4 i IL-10 (16). Cytokiny prozapalne są produktem limfocytów CD4+ izolowanych z wątrób osób zakażonych HCV, a więc mogą one wywierać aktywacyjny wpływ na znajdujące się w nacieku zapalnym limfocyty CD8+ (2). Funkcja limfocytów CD4+ jest warunkowana właściwościami polimorficznego układu zgodności tkankowej II klasy (HLA). W piśmiennictwie przedstawiono dość liczne wyniki badań wskazujące na zróżnicowaną reaktywność na zakażenie HCV w zależności od rodzaju alleli tego układu, w tym ich związku z efektami leczenia przeciwwirusowego. Jednakże ostatnio przeprowadzona szczegółowa analiza tych zależności wykazuje (1), że odpowiedź na zakażenie HCV jest modulowana przez kompleksowe oddziaływanie genów, a nie przez pojedyncze allele.

W przewlekłym zakażeniu HCV pomimo poliklonalnej i wykazującej szerokie spektrum rozpoznawanych epitopów wirusa C - odpowiedzi ze strony limfocytów cytotoksycznych, jest ona niewystarczająca do uzyskania klirensu HCV i to pomimo dużej wewnętrzwątrobowej ekspresji HLA I, cząstek adhezyjnych i antygenu Fas (11). Nieznane są przyczyny oporności HCV na cytokiny będące produktami pobudzonych limfocytów cytotoksycznych u większości osób przewlekłe zakażonych tym wirusem, w tym także leczonych IFN-a. Być może HCV posiada właściwości neutralizacji cytokin, podobnie jak inne wirusy. Ten czynnik, jak i duże obciążenie wirusem, ponieważ HCV charakteryzuje wysoka produktywność zakażenia,

może być podstawą wykształcania się różnego stopnia tolerancji immunologicznej i oporności na leczenie przeciwwirusowe

(9). Podanie odpowiednich dawek IFN-a powoduje stosunkowo szybkie zmniejszenie obciążenia wirusem, lecz nie jest to jednoznaczne w każdym przypadku z jego eradykacją (10).

Ostatnio pojawił się nowy wątek w rozważaniu uwarunkowań patogenetycznych zakażenia HCV, istotny także w kontekście oporności na leczenie IFN-a. U przeszło 30% osób przewlekłe zakażonych HCV, HBsAg ujemnych, wykryto metodą PCR sekwencje wirusa B zapalenia wątroby, przy czym marskość wątroby była u nich dwukrotnie częstsza aniżeli u HBV DNA ujemnych (4). Odpowiedź na leczenie IFN-a była znamienne statystycznie gorsza u chorych z wykrywalnymi sekwencjami kwasu nukleinowego HBV. Nie można wykluczyć, że również nadkażenia innymi wirusami mogą mieć wpływ na opisywane zjawiska.

Obecnie rozważa się możliwości terapeutyczne związane z hamowaniem aktywności takich białek HCV o własnościach enzymów, jak helikaza, polimeraza, replikaza i proteaza „serynowa”. Jest to kierunek identyczny ze współczesną wielolekową terapią zakażeń HIV i AIDS. Współczesna nauka o zakażeniach wirusami, które można umownie określić jako przenoszonymi przez krew, odkrywa liczne analogie pomiędzy nimi, niezależnie od patogenyzy szczegółowej. Wynika to z bardzo podobnych relacji pomiędzy mikro- i makroorganizmem. Wężłowe znaczenie ma tutaj szybka, swoista i w pełni sprawna odpowiedź komórek immunokompetentnych rozwijająca się już w ostrym okresie zakażenia, a u niektórych ludzi doprowadzająca wręcz do niedopuszczenia do replikacji wirusa.

Zakażenie przewlekłe z samej swej istoty jest dowodem na niewydolność mechanizmów odpornościowych, pomimo ich stałej,

lecz nieefektywnej aktywności. Leczenie przeciwwirusowe, o ile jest skuteczne, prawdopodobnie wspomaga mniej aktywne elementy odpowiedzi immunologicznej, przywracając całemu układowi pożądaną sprawność. Osoby źle odpowiadające na leczenie zapewne charakteryzują się zmianami o głębszym charakterze. Być może „polipramazja”, a więc zastosowanie kilku leków jednocześnie, względnie terapia typu sekwencyjnego, z wykorzystaniem preparatów o działaniu immunomodulacyjnym pozwoli na „przeskoczenie” niedoboru odpornościowego, biorąc na cel czynnościowe struktury wirusowe.

PIŚMIENNICTWO:

1. Asti M, Martinetti M, Zavaglia C i in. Human leucocyte antigen class II and III alleles and severity of hepatitis C virus related chronic liver disease. *Hepatology* 1999, 29:1272–1279.
2. Bertolotti A, D'Elisio MM, Boni C i in. Different cytokine profiles of intrahepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Gastroenterology* 1997, 112:193–199.
3. Bolewska B. Ocena odległych wyników leczenia interferonem alfa chorych na przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C. Akademia Medyczna w Poznaniu, praca doktorska.
4. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G i in. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999, 341: 22–26.
5. Davis GL, Esteban Mur R, Rustgi i in. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998, 339:1493–1499.
6. Diepolder HM, Zachoval R, Hoffmann RM i in. The role of hepatitis C virus specific CD4+ T lymphocytes in acute and chronic hepatitis C. *J Mol Med* 1996, 74:583–588.
7. Larrea E, Garcia N, Qian C i in. Tumor necrosis factor alpha expression and the response to interferon in chronic hepatitis. *Hepatology* 1996, 23:210–217.
8. López Labrador F X, Ampurdanés S, Giménez Barcons M i in. Relationship of the genomic complexity of hepatitis C with liver disease severity and response to interferon in patients with chronic hepatitis HCV genotype 1b interferon. *Hepatology* 1999, 29:897–903.
9. McHutchinson JG, Gordon SC, Schiff ER i in. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998, 339:1485–1492.
10. Neumann AU, Lam NP, Dahari H i in. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon alpha therapy. *Science* 1998, 282:103–107.
11. Okazaki M, Hino K, Fuji K i in. Hepatic Fas antigen expression before and after interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1996, 41:2453–2458.
12. Okuda M, Hino K, Korenaga M i in. Differences in hypervariable region 1 quasispecies of hepatitis C virus in human serum, peripheral blood mononuclear cells, and liver. *Hepatology* 1999, 29:217–222.
13. Polyak SJ, Faulkner G, Carithers RL i in. Assessment of hepatitis C virus quasispecies heterogeneity by gel shift analysis: correlation with response to interferon therapy. *J Infect Dis* 1997, 175: 1101–1107.
14. Polyak SJ, Paschal DM, McArdle S i in. Characterization of the effects of hepatitis C virus nonstructural 5A protein expression in human cell lines and on interferon sensitive virus replication. *Hepatology* 1999, 29:1262–1271.
15. Taylor D, Shi S.T, Romano PR i in. Inhibition of the interferon – inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein. *Science* 1999, 285:107–109.
15. Tsai S L, Liaw Y F, Chen M H i in. Detection of type 2-like T helper cells in hepatitis C virus infection: implication for hepatitis C chronicity. *Hepatology* 1997, 25:449–458.
16. Weiner AJ, Geysen HM, Christopherson C i in. Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: potential role in chronic HCV infections. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89:3468–3472.

140

15. You L R, Chen C M, Lee Y H W. Hepatitis C virus core protein enhances NF- κ B signal pathway triggering by lymphotoxin-b receptor ligand and tumor necrosis factor alpha. *J Virol* 1999, 73:1672-1681.
16. Zhu N, Khoshnan A., Schneider R i in. Hepatitis C virus core protein binds to the cytoplasmic domain of tumor necrosis (TNF) receptor 1 and enhances TNF induced apoptosis. *J Virol* 1998, 72:3691-3697.
17. Zylberberg H, Rimaniol A C, Pol S. i in. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity. *J hepatol*

WYBRANE WYKŁADNIKI IMMUNOLOGICZNE ZDROWIENIA CHORYCH Z PRZEWLEKŁYM ZAPALENIEM WĄTROBY TYPU C LECZONYCH INTERFERONEM I RYBAWIRYNĄ

Some immunological markers of recovery in patients with chronic hepatitis C treated with interferon alpha and ribavirin

Małgorzata Pawłowska

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Bydgoszczy Kierownik: Prof.dr
hab.med. W. Halota

Streszczenie. Historię naturalną zakażeń HCV kształtują interakcje pomiędzy wirusem HCV a układem immunologicznym gospodarza. Przebieg zakażenia zależy od sprawności mechanizmów odpornościowych. Zaburzenia ich działania uniemożliwiają eliminację wirusa prowadząc do przewlekłych następstw chorobowych. Przedstawiono obecny stan wiedzy na temat patogenezы przewlekłych zapaleń wątroby typu C w kontekście mechanizmów immunologicznych warunkujących określone następstwa kliniczne tego zakażenia, a też udziału wielu mediatorów w tym cytokin. Badaniami klinicznymi objęto 60 chorych na przewlekłą hepatitis C – 30 leczonych interferonem alfa-2b i rybawiryną; 30 wyłącznie interferonem. Obserwacje prowadzono 12 miesięcy. Przed rozpoczęciem badań w 2, 6 i 12 miesiącu oznaczono stężenia IL-6, IL-12, ICAM-1 i beta-2-mikroglobuliny. Wyniki odnoszono do aktywności ALAT oraz obecności HCV RNA w surowicy. Za kryterium wyzdrowienia uznawano normalizację aktywności ALAT oraz brak HCV RNA pod koniec obserwacji. W 2-gim miesiącu leczenia w obu grupach wystąpił statystycznie znamienny wzrost stężeń beta-2-mikroglobuliny oraz IL-6, w grupie leczonych IFN+R również IL-12. Zmianom towarzyszył zanik wirēmii HCV oraz obniżenie aktywności ALAT. Po zakończeniu leczenia obserwowano obniżenie wartości beta-2-mikroglobuliny oraz wzrost stężenia IL-6. Dotyczyło to chorych uznanych za wyleczonych. Obserwowanym zmianom towarzyszyła regresja zmian morfologicznych w wątrobie. Analizując zachowanie badanych parametrów immunologicznych w zależności od schematu terapii należy sądzić, iż dodanie rybawiryny potęguje odczyn zapalny indukowany przez interferon, prawdopodobnie podnosząc efektywność terapii skojarzonej.

Summary. Natural history of HCV infections is forming by interactions between HCV and host immune system. The course of infection depends of efficiency of immune mechanisms. Their disturbances make impossible elimination of virus and cause persistent clinical consequences of infection. Author presents contemporary opinions for immune patomechanism of HCV infection. To the clinical study 60 naive patients with chronic persistent C hepatitis, divided into two groups: I - 30 persons treated with interferon alpha-2b and ribavirine; II - 30 persons treated with interferon alpha-2b alone were included. Before the beginning of investigations and in months 2, 6 and 12 the immunological examinations (IL-6, IL-12, ICAM-1 and beta-2 m) were performed. In the second month of treatment in the responders from both groups appeared statistically significant increase of beta-2-microglobulin and IL-6 concentration, and furthermore in the group with combined therapy IL-12 concentration too. HCV viremia disappeared and ALAT activity decreased. After the end of treatment decrease of beta-2-microglobulin and increase of IL-6 concentration were observed in patients regarded as good responders. Ribavirine probably increases inflammatory reaction being observed in the process of the therapy with interferon and efficiency of combined therapy.

Rola procesów immunologicznych w patogenezie zapaleń wątroby etiologii wirusowej nie ulega obecnie wątpliwości. W przewlekłym zapaleniu wątroby procesy replikacji wirusa, odpowiedź gospodarza, jak też destrukcja hepatocytów regulowane są działaniem licznych, opisanych w ostatnich latach mediatorów zjawisk immunologicznych (m.in. cytokin, ich receptorów, enzymów wewnątrzkomórkowych, rozpuszczalnych składowych receptorów limfocytów T) (1,8). Determinują one funkcję układu immunologicznego, wywołują lokalną odpowiedź we-wnątrzwątrobową, prowadząc w konsekwencji do zmian patologicznych hepatocytów. Wiele z nich posiada formy rozpuszczalne, możliwe do oznaczenia w surowicy, odzwierciedlające pośrednio aktywność wybranych procesów immunologicznych.

Wśród rozpuszczalnych mediatorów wymienia się:

- interleukinę 113 (IL-113),
- czynnik wzrostu granulocytów i makrofagów (GM-CSF), syntetyzowany w odpowiedzi na sygnały specyficznej aktywacji, stymulujący wzrost i różnicowanie granulocytów i monocytów, a w efekcie produkcję cytokin (np. czynnika martwicy nowotworów TNF- α);
- neopterynę (prekursor biopertyny, wydzielanej przez makrofagi działające wspomagająco na proliferację i aktywację limfocytów T);
- interleukinę 6 (IL-6) prozapalną cytokinę będącą wskaźnikiem aktywacji monocytów/makrofagów i odpowiedzi zapalnej;
- interferon gamma (IFN- γ) - marker specyficznej odpowiedzi immunologicznej;
- interleukinę 12 (IL-12);
- 132-mikroglobulinę (B₂m), wskaźnik ekspresji kompleksu antygenów zgodności tkankowej klasy I (MHC klasy I);
- interleukinę 2 (IL-2) i jej receptor sIL-2R - wskaźniki aktywności limfocytów T;
- rozpuszczalne formy receptorów limfocytów T CD4 (sCD4) i CD8 (sCD8) możliwe

do oznaczenia po aktywacji odpowiednich podklas limfocytów;

- rozpuszczalny receptor dla cząsteczek adhezji międzykomórkowej (sICAM-1);
- 2', 5' - syntetazę oligoadenylową (2', 5' OAS) - enzym wewnątrzkomórkowy aktywowany przez interferon, którego aktywność odzwierciedla stan „gotowości przeciwwirusowej” komórki.

Efektywna odpowiedź immunologiczna wymaga integracji mechanizmów odporności nieswoistej i swoistej, humoralnej i komórkowej, zapoczątkowanej aktywacją makrofagów, monocytów i limfocytów T. Cytoliza zakażonych komórek oraz ich eliminacja jest według wielu autorów mediowana głównie przez HCV - specyficzne limfocyty T cytotoksyczne, jak też cytokiny uwalniane przez limfocyty T CD4 subpopulacji Th1 (5, 19). Specyficzna odpowiedź humoralna (wytworzenie przeciwciał przeciw epitopom określonych antygenów HCV) czy komórkowa (powstanie HCV - specyficznych klonów limfocytów T cytotoksycznych) wymaga w pierwszym etapie rozpoznania immunogennych obszarów genomu HCV przez układ immunologiczny gospodarza. Organizm nie rozpoznaje natywnych cząstek wirusa. Antygeny wirusowe po przetworzeniu są ekspozowane na powierzchni komórki prezentującej antygen (APC) w obecności antygenów zgodności tkankowej klasy II. Prezentacja ta aktywuje limfocyty pomocnicze T CD4, które wydzielając odpowiednie cytokiny aktywują zarówno limfocyty T jak i limfocyty B (3).

Wraz ze wzrostem replikacji wirusa makrofagi (spełniające rolę APC) produkują interleukinę - 1 (IL-1) oraz czynnik martwicy nowotworów - alfa (TNF- α). Powyższe cytokiny są kostymulatorami reakcji makrofagów (APC) z pomocniczymi limfocytami T (T CD4). Zaktywowane limfocyty T pomocnicze (CD4) określonego subtypu (Th1, Th2) produkują i uwalniają do środowiska

odpowiednie cytokiny: Th1 – IL-2 i IFN- γ ; Th2 – IL-4). IL-2 i IFN- γ są głównymi cytokinami aktywującymi limfocyty T cytotoksyczne CD8. Przetrawanie replikacji wirusa w pzw może być spowodowane wieloma mechanizmami:

- upośledzeniem produkcji lub obniżeniem aktywności IFN- α wobec zakażonych hepatocytów;
- maskowaniem antygeny rdzeniowego wirusa na powierzchni hepatocytów przez swoiste przeciwciała i zahamowaniem reakcji cytotoksycznej;
- obniżoną ekspresją cząsteczek HLA na hepatocytach;
- mutacjami;
- dysregulacją sieci cytokin (zmianą profilu ich aktywności w kierunku przewagi cytokin uwalnianych przez limfocyty Th2).

Istotny jest także mechanizm ograniczenia HLA klasy I. Prawidłowa odpowiedź limfocytów T cytotoksycznych wymaga ekspresji tych cząsteczek na powierzchni komórek prezentujących antygen. TCD8 atakują hepatocyty po rozpoznaniu antygenów wirusowych w połączeniu z HLA klasy I, których komponentę (łańcuch lekki) stanowi β 2-mikroglobulina (β 2 m). Hepatocyty ludzi zdrowych mają niską do nieoznaczalnej liczbę HLA klasy I i II. Ich ekspresja wzrasta w zakażeniu HCV, a pośrednim tego markerem może być poziom β 2-m w surowicy (12).

Badając metodą RT PCR ekspresję mRNA dla cytokin wytwarzanych przez określone subpopulacje limfocytów CD4 (Th1 i Th2) wykazano, że produkcja defektywnej interleukiny 10 (IL-10) z promowaniem prozapalnej odpowiedzi mediowanej przez cytokiny uwalniane przez Th1 (IL-2, IFN- γ) może być odpowiedzialna za progresję choroby (13).

Zwiększona ekspresja mRNA dla uwalnianych przez limfocyty Th1 cytokin może odpowiadać za progresję zmian zapalnych w wątrobie. Przemawia to za rolą procesów

immunologicznych w determinowaniu określonych następstw klinicznych zakażenia HCV. Wysoki poziom wirerii HCV indukuje żywą odpowiedź komórkową. W zależności od przewagi klonów określonych subpopulacji limfocytów CD4 wywołuje ona w efekcie ostrego, samoograniczającego się procesu (Th1) lub przewlekłego zapalenia wątroby (Th2) (1).

W interakcjach komórek w ognisku zapalnym w wątrobie kluczową rolę odgrywają cytokiny poprzez indukcję ekspresji molekuł adhezyjnych na powierzchni hepatocytów i śródbłonna naczyniowego. Potwierdzają to badania na zwierzętach doświadczalnych. Wykazano, że TNF- α , IFN- γ i IL-1 zwiększają ekspresję ICAM-1 na stymulowanych hepatocytach mysich, poprzez aktywację syntezy cząsteczek adhezyjnych (2, 10).

U chorych z pzw C na powierzchni hepatocytów w regionach martwicy kęsowej obserwowano obecność ICAM-1, HLA DR, LFA-3, a także podwyższoną aktywność β 2-mikroglobuliny. Odzwierciedla ona wzrost ekspresji cząsteczek HLA klasy I na błonie hepatocytów w konsekwencji uszkodzenia wątroby, a też działania różnych cytokin. Wzrost poziomu β 2 m w osoczu i ekspresji HLA klasy I na hepatocytach korelował ze stopniem zaawansowania zmian histopatologicznych, zarówno zapalnych jak i włóknienia.

Patomechanizm przewlekłych zapaleń wątroby typu C jest przedmiotem intensywnych badań od czasu wyodrębnienia tego typu zapaleń wątroby. Efektem kilku ostatnich lat jest powszechne przekonanie, iż u podłoża procesów przewlekania się zakażenia HCV dominują niesprawne mechanizmy immunologiczne gospodarza. Zdania na temat patogenności HCV są rozbieżne. Prawdopodobnie jest ona nieduża, jednakże liczne mutacje mogą pośrednio wywierać wpływ na historię naturalną chorób tej etiologii. W konsekwencji należy sądzić, iż podstawowym elementem ich patogenezy są zaburzenia

czynności układu immunologicznego. Ich wykładnikiem ma być między innymi zaburzona równowaga subpopulacji Th1 i Th2 limfocytów CD4.

Nie ulega wątpliwości, iż od poznania mechanizmów obrony przed skutkami zakażenia HCV z jednej strony i właściwości wirusa z drugiej zależy możliwość skutecznego leczenia tych stanów chorobowych.

W chwili obecnej wydaje się, że nie ma innej metody leczenia niż immunostymulacja i immunomodulacja, czyli wykorzystanie naturalnych mechanizmów obrony immunologicznej osoby zakażonej. Stąd nie kwestionowane miejsce interferonu w leczeniu chorób etiologii HCV oraz próby podnoszenia jego skuteczności terapeutycznej poprzez kojarzenie z rybawiryną.

W leczeniu pzw C nowym standardem zaczyna być terapia kombinowana interferonem i rybawiryną. Jest ona bardziej efektywna w indukowaniu trwałej odpowiedzi niż monoterapia IFN zarówno w odniesieniu do leczenia pacjentów wcześniej nie leczonych jak i reterapii (6, 14, 15).

W obliczu wysokich kosztów diagnostyki i leczenia IFN chorych z pzw C oraz działań niepożądanych leku istotnym wydaje się jak najwcześniejsze wyselekcjonowanie osób odpowiadających na to leczenie. Stąd poszukuje się tzw. markerów korzystnej odpowiedzi na leczenie i podejmuje próby zidentyfikowania grupy chorych z najlepszą odpowiedzią na leczenie IFN, również kojarzone z rybawiryną.

Istotne znaczenie ma modulacja przez IFN odpowiedzi ze strony subpopulacji Th1 i Th2 limfocytów CD4. Uważa się, że odpowiedź immunologiczna ze strony Th1 wiąże się z ustępowaniem zakażenia wirusowego, a przewaga odpowiedzi mediowanej przez Th2 zwiększa podatność na te zakażenia (11, 18, 20).

Istnieją sugestie, że w pzw C odpowiedź ze strony Th1 jest słaba lub niepełna, co

sprzyja bezobjawowym przebiegom większości zakażeń HCV. W przypadkach hamowania replikacji HCV wykrywano więcej IL-2 i INF-y (cytokin uwalnianych przez Th1), a mniej IL-10, która może hamować ekspresję IL-12 i w konsekwencji INF-y (4, 7).

Wykazano wcześniej, że rybawiryna hamuje produkcję IL-4 przez limfocyty Th2, przy czym produkcja cytokin przez Th1 nie zmniejsza się (20). Moduluje ona odpowiedź immunologiczną „przesuwając” ją w pzw C z mediowanej przez Th2 w stronę Th1.

W klinice przeprowadzono badania oceniające zachowanie się wybranych wykładników immunologicznych u chorych na pzw C leczonych IFN + R lub IFN. Zakwalifikowano do nich 60 chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C, zakażonych serotypem 1 HCV, wcześniej nie leczonych. Domniemany czas zakażenia wahał się od 1 do 4 lat.

Rozpoznanie choroby stawiano na podstawie wywiadu, obrazu klinicznego, aktywności biochemicznej choroby (AIAT), obecności w surowicy kwasów nukleinowych wirusa (HCV RNA) oraz przeciwciał anty HCV. Warunkiem włączenia do badań było rozpoznanie w obrazie morfologicznym wątroby zmian typowych dla hepatitis chronica persistens według tradycyjnej klasyfikacji. W stosowanej obecnie punktowej ocenie zmian, zgodnie ze zmodyfikowaną skalą Scheuera, odpowiadało to 2-3 punktom HAI (wskaźnik aktywności histopatologicznej) (9, 16). U wszystkich chorych wykluczono współistnienie zakażeń innymi wirusami hepatotropowymi, autoimmunologiczne zapalenie wątroby, choroby metaboliczne i nadużywanie alkoholu.

Chorych randomizowano do dwóch 30-osobowych grup: terapii skojarzonej interferonem alfa i rybawiryną oraz monoterapii interferonem alfa. Grupy były jednorodnie pod względem płci, wieku oraz aktywności AIAT w okresie 6 miesięcy poprzedzających włączenie do badań. Jako odpowiadających

na leczenie określono chorych, u których pod wpływem leczenia wystąpił zanik wirusii HCV RNA i utrzymywał się 6 miesięcy po jego ukończeniu. Oznaczenia wirusii HCV, aktywności biochemicznej choroby (A1AT) oraz wykładników immunologicznych wykonywano na początku obserwacji; w 2-gim miesiącu leczenia; w 6 oraz 12 miesiącu obserwacji.

U wszystkich badanych w okresie leczenia systematycznie oznaczano parametry hematologiczne i hepatologiczne (nie rzadziej niż co 4 tygodnie) oraz notowano niepożądane działania stosowanych leków.

W 12-tym miesiącu badania u wszystkich badanych wykonano kontrolną biopsję wątroby, porównując obraz morfologiczny uzyskanych biopciatów z obrazem wyjściowym.

Wyniki aktywności A1AT oraz stężenia IL-6, IL-12, ICAM-1 i 132-m analizowano w podgrupach chorych, którzy wyeliminowali HCV RNA i nadal replikujących.

Obecność przeciwciał anty HCV wykrywano testem HCV UBI oraz testem uzupełniającym LiaTek HCV III. Aktywność biochemiczną choroby oceniano na podstawie aktywności ALAT metodą kinetyczną. Obecność HCV RNA w surowicy oznaczano testem AMPLICOR HCV firmy Roche. Przeskórny biopsję wątroby wykonywano metodą Menghiniego przy użyciu zestawów jednorazowego użytku HEPAFIX 1,4 firmy Braun. W ocenie morfologicznej stosowano zmodyfikowaną skalę Scheucra.

Stężenia IL-6, IL-12, ICAM-1 oraz B2-mikroglobuliny w surowicy badanych osób oznaczano przy użyciu testów immunoenzymatycznych ELISA firm: Endogen, T Celi Diagnostics oraz Immundiagnostik GmbH.

Odczytu absorbancji próbek 11-6, 11-12, ICAM-1 i 132-m dokonywano na czytniku ty-Pu PR 2100 w odniesieniu do krzywych standardowych.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

W przebiegu obu stosowanych schematów terapeutycznych dochodziło do zmian w zakresie analizowanych wykładników odpowiedzi immunologicznej. W 2-gim miesiącu leczenia w obu grupach leczonych wystąpił statystycznie znamieny wzrost stężeń beta-2-mikroglobuliny oraz IL-6, ponadto w grupie leczonych terapią skojarzoną również IL-12. Obserwowanym zmianom zachowań badanych parametrów immunologicznych towarzyszył zanik wirusii HCV oraz obniżenie się aktywności A1AT do wartości, uznawanych za prawidłowe. U chorych nadal replikujących nie było żadnych statystycznie znamienych różnic w zakresie badanych parametrów immunologicznych. Po zakończeniu leczenia obserwowano obniżenie się wartości beta-2-mikroglobuliny oraz wzrost stężenia IL-6. Dotyczyło to wyłącznie chorych uznanych w tym badaniu za wyleczonych. Obserwowanym zmianom stężeń wykładników immunologicznych, normalizacji aktywności A1AT oraz zanikowi HCV wirusii towarzyszyła regresja zmian morfologicznych w wątrobie. U chorych replikujących HCV występowało obniżenie się stężenia IL-6.

Analizując odrębności zachowań badanych parametrów immunologicznych w zależności od schematu terapii należy sądzić, iż dodanie rybawiryny potęguje odczyn zapalny obserwowany w przebiegu terapii interferonem. To prawdopodobnie podnosi efektywność terapii skojarzonej.

W przedstawionych badaniach ilość skutecznych wyleczeń wynosiła dla terapii skojarzonej i monoterapii interferonem odpowiednio 22 i 12.

U chorych, u których obserwowano wzrost stężenia IL-12 w 2-gim miesiącu leczenia IFN + R, obserwowano równolegle wzrost stężenia b2 mikroglobuliny oraz obniżenie stężenia ICAM-1 w surowicy. Może to potwierdzać zwiększenie dynamiki procesu zapalnego. Wzrost poziomu IL-12 w surowi-

cy odpowiadających na leczenie chorych z pzw C leczonych IFN + R wydaje się odzwierciedlać jej działanie prozapalne, prawdopodobnie związane ze stymulacją IFN- γ . Wydaje się, że wzrost stężenia IL-12 odzwierciedla wzmożoną jej syntezę stymulującą dojrzewanie subpopulacji Th1 limfocytów CD4. W konsekwencji powoduje to wzrost uwalniania IL-2 i IFN- γ , które są głównymi cytokinami aktywującymi limfocyty T cyto- toksyczne, w tym przypadku HCV specyficzne limfocyty CD8.

Przewaga odpowiedzi immunologicznej mediowanej przez limfocyty Th1 może doprowadzić do samoograniczenia procesu chorobowego i eliminacji HCV, co zapewne jest warunkiem zdrowienia.

Analiza statystyczna przy pomocy testu specyficzności dla testów diagnostycznych wykazała jednoznacznie przydatność oznaczania stężenia IL-12 w surowicy w drugim miesiącu leczenia IFN + R do prognozowania jego skuteczności.

W badaniach własnych u chorych odpowiadających na leczenie kombinowane IFN + R czy monoterapię IFN w 2-gim miesiącu leczenia obserwowano wzrost stężenia B2-m w surowicy, a następnie jego obniżenie w kierunku wartości wyjściowych. Dynamika ta może odzwierciedlać stopień „złuszczenia” kompleksów antygenów zgodności tkankowej klasy I w wyniku lizy hepatocytów pod wpływem działania HCV specyficznych limfocytów CD8. Chorzy, którzy nie odpowiedzieli na leczenie wykazywali w 12-tym miesiącu obserwacji stężenia B2-m podobne do wyjściowych.

IL-6 jest kluczową cytokiną dla procesów regeneracji wątroby. Wydaje się możliwe, że w okresie zaostrzenia procesu zapalnego regeneracja wątroby występuje wtórnie i z opóźnieniem w stosunku do zaostrzenia procesu.

Potwierdza to także analiza dynamiki stężeń IL-6 w grupach odpowiadających na le-

czenie. W grupie chorych odpowiadających na leczenie IFN stężenia IL-6 w 2-gim miesiącu leczenia narastały szybciej niż u leczonych IFN+R. Może to wskazywać na „przesunięcie” w czasie procesów regeneracji w wątrobie w konsekwencji większego zaostrzenia i rozległości procesu zapalnego wywołanego działaniem IFN + R w grupie I w porównaniu do grupy II, leczonych mono- terapią IFN.

Jednym z działań interferonu i rybawiryny jest modulacja dynamicznej równowagi subpopulacji Th1 i Th2 limfocytów pomocniczych CD4. Stymulatorem zarówno dojrzewania i aktywności Th1, jak i bezpośrednio IFN- γ jest IL-12. IL-12 i IFN-g stwarzają warunki do preferencyjnej stymulacji limfocytów Th1 w stosunku do Th2 w trakcie antygenowo swoistej odpowiedzi. Powoduje to zwiększenie dynamiki procesu zapalnego, liżę zakażonych hepatocytów i eliminację HCV.

Ocena dynamiki stężeń wybranych cytokin na poziomie białka wykazała przydatność oznaczania parametrów IL-12 i IL-6 przed i podczas leczenia dla jego monitorowania. Wykazano zasadnicze różnice w zachowaniu się stężeń IL-12 i IL-6 w poszczególnych grupach w zależności od uzyskania lub nie trwałej odpowiedzi na leczenie.

Chorzy na pzw C odpowiadający na leczenie IFN + R wykazywali wyraźny wzrost poziomu IL-12 w 2-gim miesiącu leczenia. Towarzyszyły jemu normalizacja aktywności A1AT oraz zanik wiremii HCV utrzymujące się 6 miesięcy od ukończenia leczenia. U chorych tych stopniowo wzrastał poziom IL-6, a stężenie 62-m po początkowym podwyższeniu w 2-gim miesiącu leczenia, obniżało się, zbliżając do wartości prawidłowych. W mniejszym stopniu lecz także systematycznie obniżał się w okresie leczenia u tych chorych poziom ICAM-1, podwyższając się 6 miesięcy po odstawieniu leczenia. W momencie ukończenia obserwacji wykazano u nich prawidłową aktywność A1AT i brak

HCV RNA w surowicy. Korzystnej odpowiedzi biochemicznej i wirusologicznej towarzyszyła regresja zmian w obrazie morfologicznym wątroby.

Podobne zmiany stężeń parametrów immunologicznych (IL-6, IL-12 i ICAM-1, β 2-m), a też biochemicznych i wirusologicznych obserwowano u osób, które odpowiedziały na leczenie IFN. Efekt immunologiczny obu schematów leczenia (monoterapii IFN i terapii skojarzonej IFN+R) wydaje się być zbliżony, różnią się one jednak zasadniczo w kontekście skuteczności. Terapia kombinowana była w badaniach własnych niemal dwukrotnie bardziej skuteczna niż monoterapia IFN. Istotnym czynnikiem korzystnej odpowiedzi na leczenie kombinowane wydaje się być niska wyjściowa aktywność ALAT. Zmienia to w dość zasadniczy sposób kryteria kwalifikacji do leczenia osób chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C, dając przesłanki do stosowania terapii skojarzonej u zakażonych bezobjawowo z prawidłową aktywnością ALAT. Sugestie te korespondują z obserwacjami Botarelli'ego dotyczącymi silniejszej odpowiedzi na białka rdzenia HCV ze strony limfocytów CD4 u bezobjawowo zakażonych (4).

Reasumując, przeprowadzone badania jednoznacznie potwierdziły udział procesów immunologicznych w historii naturalnej zakażeń HCV. Wykazały przydatność analizy parametrów immunologicznych dla kwalifikacji i prognozowania leczenia chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C. Wydaje się, że niska aktywność ALAT wraz z niskim stężeniem IL-6 mogą stanowić jedno z nowych kryteriów kwalifikujących do leczenia. Oznaczenie stężenia IL-6, IL-12 i β 2-m w 2-gim miesiącu leczenia IFN+R może różnicować chorych w kontekście odpowiedzi na leczenie. Pomimo stosunkowo podobnych efektów immunologicznych obserwowanych w grupach IA i IIA w 12-tym miesiącu obserwacji nie znaleziono dla monoterapii IFN tak charakterystycznego wykładnika

korzystnej prognozy, jakim dla leczenia IFN + R wydaje się być wzrost stężenia IL-12 w drugim miesiącu leczenia, za co odpowiedzialna wydaje się być rybawiryna.

PISMIENNICTWO:

1. Abrignani S.: Immune responses throughout hepatitis C virus (HCV) infection: HCV from the immune system point of view. Springer Sem. Immunopathol. 1997, 19(1):47—55.
2. Ayres R.C.S., Neuberger J.M., Shaw J., Joplin R., Adams D.H.: Intracellular adhesion molecule-1 and MHC antigens on human intrahepatic bile duct cells effect on proinflammatory cytokines. Gut 1993, 34:1245-9.
3. Botarelli P., Brunetto M.R., Minutello M.A., Calvo R, Unutmaz D., Weiner A.J., Choo Q.L., Shuster J.R., Kuo G., Bonino F., Houghton M., Abrignani S.: T Lymphocyte response to hepatitis C virus in different clinical courses of infection. Gastroenterology 1993, 104: 580-587.
4. Banner B.F, Allan C., Savas L., Baker S., Barnard G., Bonkovsky H.L.: Inflammatory markers in chronic hepatitis C. Virchows Arch. 1997, 431: 181-187.
5. Gane E.J., Lo S.K., Riordan S.M., Portmann B. C., Lau J.Y.N., Naoumov N.V., Williams R.: A randomized study comparing ribavirin and interferon alfa monotherapy for hepatitis C recurrence after liver transplantation. Hepatology 1998, 27(5): 1403-1407.
6. Ferrari C., Chisari F.V.: Immune mechanisms of cellular injury in viral hepatitis. The Liver Biology and Pathobiology. Raven Press, New York 1994.
7. Iwata K., Wakita T. Okumura A. et al.: Interferon gamma production by peripheral blood lymphocytes to hepatitis C virus core protein in chronic hepatitis C infection. Hepatology 1995,22: 1057-64.
8. Knodell R.G., Ishak K.G., Black W.C. et

