



AKTUALNOŚCI NARODOWEGO PROGRAMU OCHRONY ANTYBIOTYKÓW

Numer 2/2019

Lekooporność *Streptococcus pneumoniae*: częstość występowania, mechanizmy, znaczenie kliniczne

Opracowanie:

Katarzyna Pawlik, Szpital Bielański, Warszawa

Wprowadzenie

Streptococcus pneumoniae (dwoinka zapalenia płuc, pneumokok) Gram-dodatnia dwoinka stanowi etiologię wielu różnorodnych zakażeń, często o ciężkim przebiegu, którym towarzyszy wysoka śmiertelność. Jest wiodącą przyczyną zapalenia ucha środkowego, zapalenia płuc, sepsy i zapalenia opon mózgowych [1, 2].

Według Global Burden of Disease Study w 2016 r. zakażenia dolnych dróg oddechowych były przyczyną ponad dwóch milionów zgonów wśród osób w każdym wieku na całym świecie. Główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności był *Streptococcus pneumoniae*, przyczyniając się do większej liczby zgonów niż wszystkie inne etiologie łącznie (1 189 937 zgonów) [3].

Pneumokoki kolonizują bezobjawowo śluzówki górnych dróg oddechowych, skąd mogą rozprzestrzeniać się i zasiedlać okoliczne tkanki, a poprzez penetrację łożyska krwi powodować różnorodne postaci zakażeń inwazyjnych (bakteriemia, zapalenie płuc, zapalenie stawów, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych). Częstość kolonizacji może się wahać od 3-60% w zależności od wieku populacji (najczęściej młodsze dzieci), regionu geograficznego, podłoża genetycznego i statusu socjoekonomicznego [1].

Zapadalność na inwazyjne zakażenia pneumokokowe w USA wynosi 9,5/100000 osób, a śmiertelność 1,1/100000 ludności. Wśród zakażeń inwazyjnych dominuje zapalenie płuc z bakterią 69,3%, bakteriemia bez ustalonego źródła 16,4% i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych 6,9%. Zakażenia te dotyczą głównie osób w skrajnych grupach wiekowych (<1 i > 50 roku życia) [4].

W 2017 r. WHO wskazała listę drobnoustrojów lekoopornych, a wśród nich *S. pneumoniae*, które wymagają podjęcia priorytetowych działań na rzecz badań i rozwoju nowych antybiotyków [5]. Utrzymująca się wysoka zapadalność na chorobę pneumokokową i narastająca oporność na penicylinę i inne antybiotyki stanowią wyzwanie dla zdrowia publicznego. Powszechne stosowanie skoniugowanych szczepionek przeciwko pneumokokom (PCV) zmniejszyło zapadalność na zakażenia wywołane przez serotypy, których polisacharydy zawarte są w szczepionce. Jednakże dzięki zdolności *S. pneumoniae* do przemodelowania genomu poprzez pobieranie i włączanie egzogennej DNA (naturalna kompetencja) od innych pneumokoków może dochodzić do zmiany otoczki (ang. capsule switch) i tym samym unikania odporności wywołanej przez szczepionkę. W tym samym mechanizmie czyli transformacji genetycznej, pneumokoki mogą nabywać oporność na antybiotyki beta-laktamowe (patrz poniżej).



Pneumokok wyposażony jest w szereg czynników zjadliwości, z których kluczową rolę odgrywa otoczka polisacharydowa, która dzięki właściwościom hydrofilnym, nie jest rozpoznawana przez układ immunologiczny. To właśnie przeciwciała przeciwko otoczce są przeciwciałami ochronnymi i z tego powodu szczepionka zawiera polisacharydy otoczki. Mamy jednak opisanych już 97 serotypów. Z powodów technicznych tak duża liczba polisacharydów nie może znaleźć się w szczepionce i dlatego zawarte są w niej polisacharydy tych serotypów, które najczęściej wywołują zakażenia inwazyjne i są wielooporne.

Obecnie dostępne są na świecie trzy szczepionki, dwie skoniugowane, z których 10-walentna (PCV10) jest zarejestrowana do 5 r. ż., a 13-walentna (PCV13) dla wszystkich grup wiekowych oraz nieskoniugowana 23-walentna szczepionka polisacharydowa zarejestrowana dla osób powyżej 2 r. ż.

Należy pamiętać, że chorobotwórczość *S. pneumoniae* jest wypadkową czynników zjadliwości, powszechnego nosicielstwa, kompetencji genetycznej do nabywania oporności i zmiany serotypu, zdolności pneumokoka do przejścia z interakcji komensalnej do patogennej z gospodarzem oraz statusu immunologicznego pacjenta.

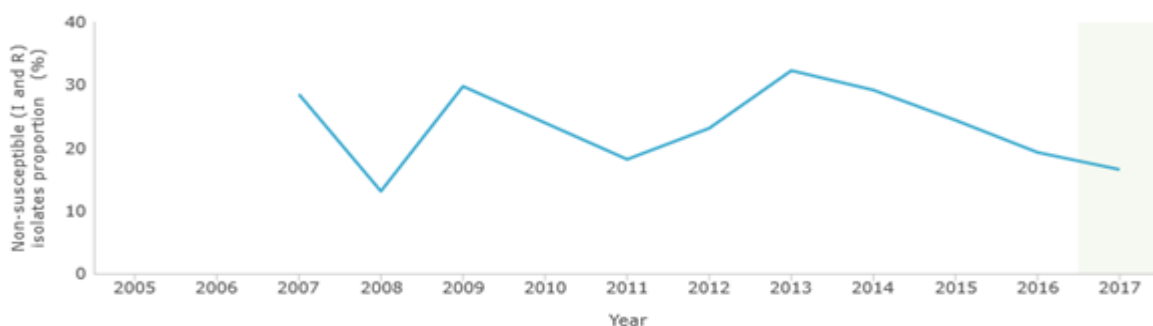
Lekooporność pneumokoków

Od początku wprowadzenia do lecznictwa antybiotyków do połowy lat 70-tych pneumokoki były uważane za drob-

noustroje powszechnie wrażliwe na wszystkie antybiotyki (z wyjątkiem tetracyklin). Dopiero w latach 1977/1978 uznano za poważne zagrożenie zakażenia pneumokokami opornymi na antybiotyki w południowej Afryce, gdzie na dziecięcych oddziałach zakaźnych rutynowo stosowano „leczenie profilaktyczne” antybiotykami dzieci z ciężkimi zakażeniami wirusowymi [6,7].

Od tamtego okresu obserwowana jest oporność na antybiotyki nie tylko beta-laktamowe, ale również na: makrolidy, linkozamidy, tetracykliny, sulfonamidy, fluorochinolony.

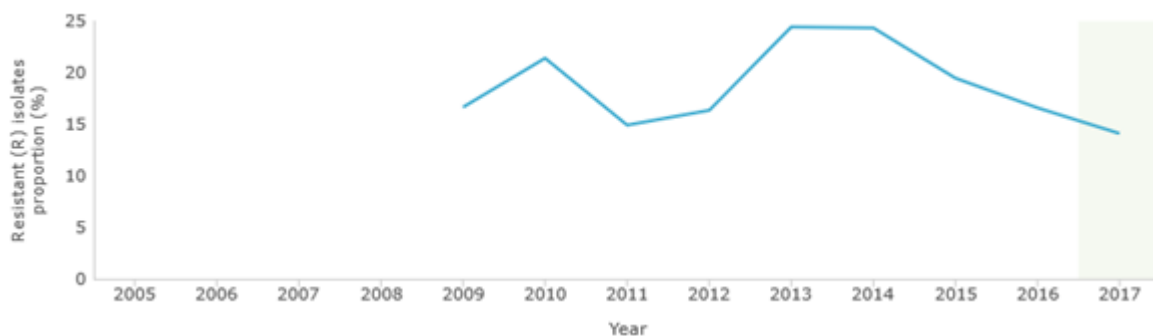
W Polsce lekooporność *Streptococcus pneumoniae* jest monitorowana przez Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (KOROUN) w Narodowym Instytucie Leków (www.koroun.edu.pl). KOROUN prowadzi monitoring lekowrażliwości pneumokoków z zakażeń inwazyjnych (sieć BINet) oraz z pozaszpitalnych zakażeń dolnych dróg oddechowych (dawniej projekt Alexander i aktualnie projekt RESPI-net)[8]. Ponadto, część polskich szpitali przekazuje dane na temat lekowrażliwości pneumokoków odpowiedzialnych za zakażenia inwazyjne w ramach Europejskiej Sieci Monitorowania Lekooporności EARS-Net (ang. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) koordynowanej przez ECDC w Sztokholmie [9], a w Polsce przez Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Oznaczania Lekowrażliwości (KORLD) [10].



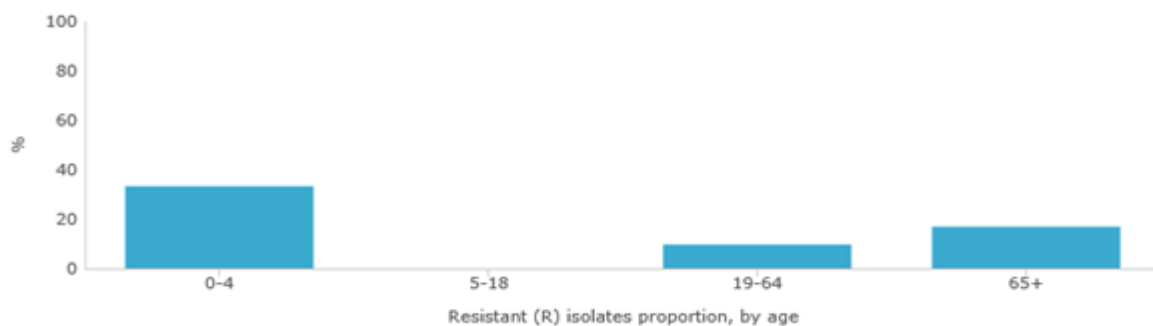
Ryc. 1. Odsetek izolatów *S. pneumoniae* niewrażliwych na penicylinę w Polsce (na podstawie danych EARS-Net <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/>)



Ryc. 2. Odsetek izolatów *S. pneumoniae* niewrażliwych na makrolidy w Polsce (na podstawie danych EARS-Net <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/>)



Ryc. 3. Odsetek izolatów *S. pneumoniae* niewrażliwych na penicylinę i makrolidy w Polsce (na podstawie danych EARS-Net: <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/>)



Ryc. 4. Odsetek izolatów *S. pneumoniae* niewrażliwych na penicylinę i makrolidy w Polsce w poszczególnych grupach wiekowych w 2017 r. (na podstawie danych EARS-net: <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/>)

Tab. 1. Lekooporność *S. pneumoniae* na beta-laktamy i makrolidy w Polsce, Europie i USA w 2017 r.

	PL (EARS-Net) ¹	PL (BINet) ²	EU (EARS-Net) ³	USA ABCs ⁴
Liczba izolatów	374	835	6281	2897
Kryteria oznaczania lekowrażliwości	EUCAST	EUCAST (Pe MIC >0,06mg/L)	EUCAST	CLSI
Odsetek szczepów niewrażliwych (S lub I) na antybiotyki				
Penicylina	16,6%	19,8%	17%	4%
Cefalosporyny III gen.	4,9%	11,4%	6%	2,1%
Makrolidy	24,9%	28,7%	17%	29,3%

¹Żabicka D.: Oporność na antybiotyki w Polsce w 2017 roku – dane sieci EARS-Net. Aktualności Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków 2018: 3; dostępne na stronie www.antybiotyki.edu.pl

²Dane uzyskane dzięki uprzejmości KOROUN (niepublikowane)

³European Centre for Disease Prevention and Control. Invasive pneumococcal disease. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019.

⁴Centers for Disease Control and Prevention. 2017. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Streptococcus pneumoniae, 2017. Available via the internet: <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/spneu17.pdf>

Dane z monitorowania w KOROUN lekooporności *S. pneumoniae* wskazują, że w Polsce obserwowany jest wyższy wskaźnik oporności na penicylinę, cefalosporyny III generacji niż w Europie i Stanach Zjednoczonych. Wrażliwość na beta-laktamy w Polsce jest jeszcze mniejsza w przypadku pneumokoków izolowanych z dróg oddechowych (71,2% szczepów wrażliwych na penicylinę, 80,4% wrażliwych na ceftriaksone) (Tab.1) [8]. Oporność na makrolidy w Polsce również jest znacznie wyższa w drogach oddechowych (33,5%) [8]. Na uwagę zwraca fakt niskiej oporności na penicylinę w USA, co jest związane z wczesnym wprowadzeniem powszechnych szczepień przeciwko pneumokokom (PCV7) w połowie roku 2000, czyli niemalże 20 lat temu. Oporność na antybiotyki obserwowana jest najczęściej w skrajnych grupach wiekowych (Ryc. 4).

Czynniki ryzyka zakażenia *Streptococcus pneumoniae* opornym na antybiotyki

Najważniejszymi czynnikami ryzyka zakażenia szczepem opornym są antybiotykoterapia (zarówno w kontekście ekspozycji indywidualnej na antybiotyk – wcześniejsza antybiotykoterapia, jak i zużycie antybiotyków na poziomie regionu czy kraju) oraz wiek pacjenta – skrajne grupy wiekowe (dzieci i osoby starsze). Ponadto większe ryzyko nabycia szczepu opornego występuje w przypadkach zakażeń szpitalnych o etiologii pneumokokowej, wcześniejszej hospitalizacji bądź przebywaniu w domach opieki. Zakażenie wirusem HIV i gruźlica ze

względu na stosowane leczenie bądź profilaktykę antybiotykową również stanowią czynniki ryzyka [11, 12, 13, 14, 15,16].

Najczęstsze mechanizmy lekooporności u pneumokoków

Oporność na antybiotyki beta-laktamowe

Zaraz po wprowadzeniu do leczenia penicyliny w latach 40-ych ubiegłego wieku uzyskano w warunkach laboratoryjnych szczepy odporne na penicylinę, jednakowoż w materiałach klinicznych dopiero w 1965 r. w Bostonie wykazano oporność u 2 z 200 izolatów [17].

Antybiotyki beta-laktamowe hamują wzrost pneumokoków przez blokowanie białek wiążących penicylinę (PBP), odpowiedzialnych za syntezę ściany komórkowej. Oporność na beta-laktamy u pneumokoków pojawia się dzięki horyzontalnemu nabywaniu zmienionych genów PBP od paciorkowców jamy ustnej (grupa *viridans*; *S. mitis*, *S. oralis*) lub innych pneumokoków i następnie rekombinacji z własnymi genami *pbp*, które ulegają również mutacjom, czego efektem są geny mozaikowe kodujące PBP o obniżonym powinowactwie do antybiotyków. U pneumokoków zidentyfikowano 6 białek PBP: 1a, 1b, 2a, 2b, 2x i 3, z których 2x i 2b mają kluczowe znaczenie dla wzrostu komórki bakteryjnej, a 2x, 2b i 1a odgrywają najważniejszą rolę w rozwoju oporności na beta-laktamy [18].



Profil oporności poszczególnych izolatów wynika z interakcji między różnymi kombinacjami zmienionych PBP, w połączeniu z funkcjonalnym operonem murMN, który koduje enzymy biorące udział w syntezie rozgałęzionych muropeptydów. W zależności od beta-laktamu, różne kombinacje genów *pbp* i mutacji w ich obrębie są zaangażowane w rozwój oporności [19, 20, 21, 22], np.:

- niskiego stopnia na penicylinę: mutacje w *pbp2x* (mogą być wystarczające również dla wystąpienia oporności na doustne cefalosporyny),
- mutacje w *pbp2b* powodują zwiększenie MIC (MIC; najmniejsze stężenia hamujące wzrost) dla penicyliny,
- oporność wysokiego stopnia na penicylinę i oporność na szerokospektralne cefalosporyny: zmiany w *pbp1a*,
- wysoki poziom oporności na penicylinę (MIC ≥ 8 mg/L): zmiany we wszystkich trzech PBP (tzn. 1a, 2b, 2x) i czasem dodatkowo oporność niezwiązana z PBP tj. MurM,
- oporność na amoksycylinę (występuje stosunkowo rzadko): mutacje w *pbp1a*, *pbp2x* i w szczególności PBP2b, który odgrywa istotną rolę w pośredniczeniu w ekspresji tego fenotypu oporności,
- oporność na cefalosporyny: mutacje w *pbp1a* i *pbp2x* (bliskie położenie tych dwóch genów na chromosomie sprzyja przeniesieniu obu genów w jednym etapie transformacji).

Zmienione PBP są kodowane przez geny o mozaikowej strukturze, które podlegają wewnątrz- i zewnątrzgatunkowej rekombinacji, w wyniku której część genów jest zastąpiona allelicznymi wariantami, które mogą się różnić do 20% sekwencji DNA [23].

Oporność na makrolidy

Makrolidy są szeroko stosowane w leczeniu zakażeń dróg oddechowych, czego efektem jest wysoka oporność pneumokoków na tą grupę antybiotyków. Makrolidy są antybiotykami bakteriostatycznymi, które hamują syntezę białek poprzez wiązanie się z podjednostką 23S rybosomalnego RNA (rRNA). Oporność pneumokoków na makrolidy jest warunkowana dwoma mechanizmami: modyfikacja miej-

sca docelowego i wypompowywanie antybiotyku z komórki bakteryjnej (*efflux*).

Zmiana miejsca docelowego. U pneumokoków gen *erm(B)*, kodujący metylazę 23S RNA stanowi główną determinantę oporności, którego ekspresja powoduje dimetylację reszty adeniny w pozycji 2058 23S rRNA, zmniejszając powinowactwo makrolidu do miejsca wiązania 23S. Metylacja nadaje, u większości pneumokoków konstytutywną, wysoką oporność na makrolidy 14-, 15- i 16-członowe, a także oporność na linkozamidy i streptograminy (fenotyp MLSb). Oporność może być konstytutywna (fenotyp cMLSb) lub indukcyjna (fenotyp iMLSb) [24]. Wykazano również, że metylaza kodowana przez gen *erm(A)* podklasę *erm* (TR) nadaje oporność typu MLSb [25]. Gen *erm(B)* jest przenoszony na transpozonie, na którym również występuje gen *tet(M)*, dlatego większość *S. pneumoniae* opornych na makrolidy jest oporna na tetracyklinę [26].

Innymi mniej powszechnymi modyfikacjami miejsca docelowego są mutacje punktowe w domenach II i V 23S rRNA i genach kodujących ryboproteiny L4 i L22, które również nadają oporność na makrolidy pneumokokom [27].

Wypompowywanie antybiotyku z komórki bakteryjnej

(*efflux*). Wpompowywanie antybiotyku poprzez pompy błonowe warunkuje wyłącznie oporność na 14- i 15-członowe makrolidy (fenotyp M). Aktywne wypompowywanie antybiotyku jest warunkowane obecnością genów klasy *mef*, które obejmują kilka wariantów: najczęściej *mef* (A) i *mef* (E) (mają w 90% identyczną sekwencję DNA), oraz rzadki wariant *mef* (I) [28].

Podwójny fenotyp. W ostatnich latach coraz częściej stwierdzana jest równoczesna obecność genu *erm(B)* i *mef* u pneumokoków, zwłaszcza w krajach azjatyckich, ale także w Europie, południowej Afryce i USA. Badanie PROTEKT wykazało, że w latach 2003-2004 12% izolatów opornych na makrolidy na świecie posiada zarówno gen *erm(B)* i *mef(A)* [29].

Oporność na fluorochinolony

Badania wskazują, że w USA co najmniej 1% izolatów jest opornych na lewofloksacynę, moksyflokscynę lub gemifloksacynę [30]. Odsetek opornych izolatów może być znacznie wyższy wśród osób starszych, pacjentów z przewlekłą chorobą płuc i wcześniej leczonych fluorochinolonami [31].

Fluorochinolony po wnikięciu do komórki bakteryjnej wiążą się z II typem topoizomerazy (tj. gyraza DNA i topoizomeraza IV), które regulują skręcanie i wiązanie dwuniciowego DNA. Te dwa enzymy mają krytyczne znaczenie dla replikacji DNA i podziału komórki. Oba enzymy składają się z dwóch różnych podjednostek: podjednostki *gyrA* i *gyrB* gyrazy DNA, które są homologiczne z podjednostkami *parC* i *parE* topoizomerazy typu IV. Regiony determinujące oporność na chinolon (QRDR; ang. quinolone-resistance determining region) są miejscami wiązania chemioterapeutyku z odpowiednimi podjednostkami dwóch enzymów. Po związaniu tych miejsc chinolony blokują aktywność enzymatyczną tak, że zostaje zahamowana replikacja DNA.

Mutacje, które prowadzą do zmian konformacyjnych w enzymach powodują oporność pneumokoków na fluorochinolony. Mutacje te są obserwowane głównie w QRDR dla *gyrA* i *parC*. Pneumokoki z pojedynczą mutacją, tylko w jednym z dwóch enzymów („mutacja pierwszego etapu”), są w większości wrażliwe na fluorochinolony. Szczepy zwykle stają się w pełni odporne na fluorochinolony wraz z nabyciem drugiej mutacji w innym z docelowych genów (*gyrA* i / lub *parC*) [32].

W oporności na fluorochinolony również znaczenie ma wypompowywanie fluorochinolonu, w którym pośredniczy błonowe białko PmrA ABC-transportera. Wykrywanie tej pompy opiera się na cechach fenotypowych, w których dwukrotny wzrost MIC dla ciprofloksacyny w obecności rezerpiny sugeruje obecność pompy. Wydaje się, że fluorochinolony o małej wielkości cząsteczek (np. ciprofloksacyna) są łatwiej wypompowywane niż większe cząsteczki, takie jak moksyflokscyna. Efflux nie może nadawać całkowitej oporności, ale może obniżyć wewnątrzkomórkowe stężenia fluorochinolonów do subinhibicyjnych, sprzyjając występowaniu mutacji w QRDR [33].

Oporność na tetracykliny

Dawniej tetracykliny były często stosowane w praktyce klinicznej i z tego powodu wskaźniki oporności na tetracykliny są najczęściej obserwowanym fenotypem oporności u pneumokoków w wielu krajach [34]. U *S. pneumoniae* oporność na tetracyklinę wynika z ochrony miejsca wiązania antybiotyku do podjednostki rybosomu 30S przez białka TetM lub TetO [35]. Geny *tet* są przenoszone przez transpozony, które

często zawierają inne geny oporności, takie jak *erm* (B) kodujące oporność na makrolidy, linkozamidy i streptograminy typu B, co tłumaczy utrzymywanie się oporności na tetracykliny pomimo zaprzestania ich stosowania (transpozony te podlegają presji selekcyjnej przez makrolidy) [36].

Oporność na ryfampicynę

Stosowanie ryfampicyny w połączeniu z antybiotykami betalaktamowymi lub wankomycyną jest zalecane w leczeniu zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych wywołanego wieloopornymi pneumokokami. Częstość występowania oporności na ryfampicynę wśród izolatów pneumokoków jest obecnie niska, a zgłaszane wskaźniki wahają się między 0,1% a 1,5%. Oporność na ryfampicynę jest spowodowana zmianą podjednostki beta polimerazy RNA, będącej celem antybiotyku. Oporność na ryfampicynę u pneumokoków powiązано z mutacjami w klastrach N, I, II i III genu *rpoB*, który koduje podjednostkę beta [37].

Oporność na chloramfenikol

Oporność na chloramfenikol *S. pneumoniae* jest spowodowana acetylacją antybiotyku przez acetylotransferazę chloramfenikolową (CAT). Gen *cat* w izolatach pneumokokowych zlokalizowany jest na transpozonie [38].

Oporność na trimetoprim/sulfametoksazol

Trimetoprim/sulfametoksazol (kotrimoksazol) był stosowany w leczeniu szeregu chorób o etiologii *S. pneumoniae*, zwłaszcza u dzieci. Oporność na kotrimoksazol dramatycznie wzrosła w wielu regionach świata. Oporność na kotrimoksazol często wiąże się z opornością na inne antybiotyki, zwłaszcza na penicylinę. Wykazano, że oporność na trimetoprim u pneumokoków wynika z pojedynczego podstawienia aminokwasu (Ile-100→Leu) w białku reduktazy dihydrofolianowej (DHFR) [39] i często jest związana z allelami mozaikowymi. Oporność na sulfonamidy wiąże się z mutacjami chromosomalnymi (pojedyncze lub wielokrotne) w obrębie genu kodującego syntetazę dihydropteroidową o zmniejszonym powinowactwie do sulfonamidu (DHPS) [40].

Podsumowanie

Wielolekooporne pneumokoki rozprzestrzeniają się globalnie. Oporność na antybiotyki w populacji pneumokoków utrzymywana jest przez wiele czynników takich jak: anty-



biotyko-terapia, narastanie oporności szczepów nieszczepionkowych i rozprzestrzenianie klonalne. Wprowadzenie szczepień przeciwko pneumokokom zmniejszyło udział wieloopornych serotypów zawartych w szczepionkach, ale ciągła ekspozycja na antybiotyki prowadzi do pojawienia się oporności u serotypów nieszczepionkowych.

Oporność pneumokoków ma ścisłe przełożenie na skuteczność antybiotykoterapii powszechnie występujących zakażeń. Znajomość najmniejszych stężeń hamujących wzrost drobnoustrojów pozwala na zindywidualizowanie dawki terapeutycznej antybiotyków, co ma szczególne znaczenie w leczeniu zapaleń płuc. Oznaczenie MIC pozwala uniknąć niepowodzeń terapeutycznych związanych z nieosiągnięciem stężenia terapeutycznego w miejscu zakażenia. Najlepszym tego przykładem jest nieskuteczne leczenie pneumokokowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych penicyliną przy MIC > 0,06 mg/L, którego to stężenia penicylina nie osiąga w płynie mózgowo-rdzeniowym, natomiast wskaźnik oporności pneumokoków izolowanych z PMR w Polsce wynosi 28%. Monitorowanie lekooporności pozwala na kształtowanie racjonalnej antybiotykoterapii zakażeń pozaszpitalnych i tworzenie rekomendacji w oparciu o aktualne wyniki [41].

Piśmiennictwo

1. Yahiaoui RY, DEN Heijer CDJ, et al.: Prevalence and antibiotic resistance of commensal *Streptococcus pneumoniae* in nine European countries. *Future Microbiol* 2016; 11; 737-744.
2. Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC: *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev* 2018; 16: 355-367.
3. GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators: Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis.* 2018;18:1191-1210.
4. Centers for Disease Control and Prevention. 2017. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, *Streptococcus pneumoniae*, 2017. Available via the internet: <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/spneu17.pdf>
5. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al.: Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2017; 18; 318-327.
6. Appelbaum PC, Bhamjee A, Scragg JN, et al.: *Streptococcus pneumoniae* resistant to penicillin and chloramphenicol. *Lancet* 1977; 2:995.
7. Jacobs MR, Koornhof HJ, Robins-Browne RM, et al. Emergence of multiply resistant pneumococci. *N Engl J Med* 1978; 299:735.
8. Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej Narodowy Instytut Leków: Wieloośrodkowe badanie wrażliwości na leki bakterii wywołujących zakażenia dróg oddechowych w środowisku pozaszpitalnym 2012-2016. Warszawa 18.12.2017.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Invasive pneumococcal disease. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019.
10. Żabicka D.: Oporność na antybiotyki w Polsce w 2017 roku – dane sieci EARS-Net. Aktualności Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków 2018: 3; dostępne na stronie www.antybiotyki.edu.pl
11. Vanderkooi OG, Low DE, Green K, et al. Predicting antimicrobial resistance in invasive pneumococcal infections. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1288.
12. Bronzwaer SL, Cars O, Buchholz U, et al.: A European study on the relationship between antimicrobial use and antimicrobial resistance. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:278-82.
13. Van Eldere J, Mera RM, Miller LA, et al.: Risk factors for development of multiple-class resistance to *Streptococcus pneumoniae* Strains in Belgium over a 10-year period: antimicrobial consumption, population density, and geographic location. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:3491-7.
14. Hicks LA, Chien YW, Taylor TH Jr, et al.: Outpatient antibiotic prescribing and nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1996-2003. *Clin Infect Dis.* 2011;53:631-9.
15. Chen DK, McGeer A, de Azavedo JC, Low DE.: Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones in Canada. *Canadian Bacterial Surveillance Network.* *N Engl J Med.* 1999;341:233-9.



16. Mthwalo M, Wasas A, Huebner R, et al.: Antibiotic resistance of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* from children in Lesotho. Bull World Health Organ. 1998;76:641-50.
17. Kislak JW, Razavi LM, Daly AK, Finland M.: Susceptibility of pneumococci to nine antibiotics. Am J Med Sci. 1965; 250:261-8.
18. Hakenbeck R, Ellerbrok H, Briese T, et al.: Penicillin-binding proteins of penicillin-susceptible and -resistant pneumococci: immunological relatedness of altered proteins and changes in peptides carrying the beta-lactam binding site. Antimicrob Agents Chemother. 1986; 30:553-8.
19. Grebe T, Hakenbeck R.: Penicillin-binding proteins 2b and 2x of *Streptococcus pneumoniae* are primary resistance determinants for different classes of beta-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:829-34.
20. Coffey TJ, Daniels M, McDougal LK, et al.: Genetic analysis of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* with high-level resistance to expanded-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39:1306-13.
21. Smith AM, Klugman KP.: Alterations in MurM, a cell wall muropeptide branching enzyme, increase high-level penicillin and cephalosporin resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45:2393-6.
22. Kosowska K, Jacobs MR, Bajaksouzian S, et al.: Alterations of penicillin-binding proteins 1A, 2X, and 2B in *Streptococcus pneumoniae* isolates for which amoxicillin MICs are higher than penicillin MICs. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:4020-2.
23. Hakenbeck R, Brückner R, Denapaite D, Maurer P.: Molecular mechanisms of β -lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Future Microbiol. 2012;7:395-410.
24. Leclercq R, Courvalin P.: Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:2727-34.
25. Farrell DJ, Morrissey I, Bakker S, Felmingham D.: Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms among *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated from the PROTEKT 1999-2000 study. J Antimicrob Chemother. 2002;50 Suppl S1:39-47.
26. Varaldo PE, Montanari MP, Giovanetti E.: Genetic elements responsible for erythromycin resistance in streptococci. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:343-53.
27. Davies TA, Bush K, Sahm D, Evangelista A.: Predominance of 23S rRNA mutants among non-erm, non-mef macrolide-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected in the United States in 1999-2000. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:3031-3.
28. Cochetti I, Vecchi M, Mingoia M, et al.: Molecular characterization of pneumococci with efflux-mediated erythromycin resistance and identification of a novel *mef* gene subclass, *mef(I)*. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:4999-5006.
29. Felmingham D, Cantón R, Jenkins SG.: Regional trends in beta-lactam, macrolide, fluoroquinolone and telithromycin resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolates 2001-2004. J Infect. 2007;55:111-8.
30. Jones RN, Jacobs MR, Sader HS.: Evolving trends in *Streptococcus pneumoniae* resistance: implications for therapy of community-acquired bacterial pneumonia. Int J Antimicrob Agents. 2010;36:197-204.
31. Ho PL, Yam WC, Cheung TK, et al.: Fluoroquinolone resistance among *Streptococcus pneumoniae* in Hong Kong linked to the Spanish 23F clone. Emerg Infect Dis. 2001;7:906-8.
32. Ostrer L, Khodursky RF, Johnson JR et al.: Analysis of mutational patterns in quinolone resistance-determining regions of GyrA and ParC of clinical isolates. Int J Antimicrob Agents. 2019;53:318-324.
33. Pletz MW, Michaylov N, Schumacher U, et al.: Antihypertensives suppress the emergence of fluoroquinolone-resistant mutants in pneumococci: an in vitro study. Int J Med Microbiol. 2013;303:176-81.
34. Wyres KL, van Tonder A, Lambertsen LM, et al.: Evidence of antimicrobial resistance-conferring genetic elements among pneumococci isolated prior to 1974. BMC Genomics. 2013;14:500.
35. Widdowson CA1, Klugman KP, Hanslo D.: Identification of the tetracycline resistance gene, tet(O), in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:2891-3.
36. Dzierzanowska-Fangrat K, Semczuk K, Górska P, et al.: Evidence for tetracycline resistance determinant tet(M) allele replacement in a *Streptococcus pneumoniae* population of limited geographical origin. Int J Antimicrob Agents. 2006;27:159-64.
37. Ferrándiz MJ, Ardanuy C, Liñares J, et al.: New mutations and horizontal transfer of *rpoB* among rifampin-resistant *Streptococcus pneumoniae* from four Spanish hospitals. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:2237-45.

38. Widdowson CA, Adrian PV, Klugman KP: Acquisition of chloramphenicol resistance by the linearization and integration of the entire staphylococcal plasmid pC194 into the chromosome of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:393-5.
39. Adrian PV, Klugman KP: Mutations in the dihydrofolate reductase gene of trimethoprim-resistant isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:2406-13.
40. Padayachee T, Klugman KP: Novel expansions of the gene encoding dihydropteroate synthase in trimethoprim-sulfamethoxazole-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:2225-30.
41. Skoczynska A., Kuch A., Sadowy E. et al.: Recent trends in epidemiology of invasive pneumococcal disease in Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;344:779-87

Narodowy Program Ochrony Antybiotyków – program polityki zdrowotnej
na lata 2016-2020 finansowany przez ministra zdrowia

