

## *Streptococcus pneumoniae*

### – czynniki zjadliwości, lekooporność i profilaktyka

Agnieszka Gołębowska, Izabela Wróbel-Pawelczyk

Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Narodowy Instytut Leków

*Streptococcus pneumoniae* (dwoinka zapalenia płuc, pneumokok) to Gram-dodatnie ziarenkowce, które są najczęstszą przyczyną pozaszpitalnych, bakteryjnych zakażeń inwazyjnych (ICHp) takich jak: zapalenie płuc z bakteriami, sepsa, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie stawów, opłucnej, jamy otrzewnowej. Pneumokoki mogą wywoływać również szereg zakażeń miejscowych, wśród których wymienić można: ostre zapalenie ucha środkowego (OZUŚ), zapalenie zatok, zapalenie płuc (bez bakteriemii), zaostrzenie przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP) oraz zapalenie spojówek. Drobnoustrój ten został opisany po raz pierwszy w 1881r. jednocześnie przez Sternberga oraz Pasteura. Obecnie zakażenia wywoływane przez *S. pneumoniae* stanowią jeden z głównych problemów zdrowia publicznego na świecie. Szacuje się, że w krajach rozwijających się co roku na chorobę pneumokokową umiera około miliona dzieci (1). Szczególnie narażone są dzieci poniżej dwóch lat, osoby starsze (powyżej 65 lat), oraz osoby z chorobami towarzyszącymi takimi jak: przewlekła choroba płuc, nerek, serca, cukrzyca, choroba nowotworowa, zakażenie wirusem HIV, anemia itp. Dodatkowo, czynnikami zwiększającymi ryzyko zakażenia osób dorosłych są alkoholizm i nikotynizm (2). Ciekawym jest fakt, że niektóre grupy etniczne są szczególnie podatne na zachorowania o etiologii pneumokokowej np.: rdzenni mieszkańcy Alaski i Ameryki Północnej, Afroamerykanie (3).

Głównym rezerwuarem *S. pneumoniae* jest człowiek, u którego może on bezobjawowo kolonizować błony śluzowe górnych dróg oddechowych (4). Rozprzestrzenia się drogą kontaktu bezpośredniego, drogą kropelkową. Nosicielstwo pneumokoków jest powszechne i może dotyczyć 5-90% populacji w zależności od wieku i warunków środowiska (wyższe w żłobkach, przedszkolach, domach opieki itp.). W przypadku dzieci w wieku wczesnoszkolnym odsetek nosicieli zawiera się w przedziale 20-60%, natomiast w przypadku dorosłych 9-25% (3). Choć nosicielstwo nie zawsze prowadzi do rozwoju zakażenia, to może być ono ważnym czynnikiem poprzedzającym chorobę pneumokokową (5).

#### CZYNNIKI ZJADLIWOŚCI *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

*Streptococcus pneumoniae* posiada liczne czynniki zjadliwości, z których najbardziej istotnym jest otoczka polisacharydowa. O jej ważnej roli może świadczyć fakt, że w procesie zakażenia szczepy otoczkowe są wielokrotnie bardziej wirulentne od szczepów bezotoczkowych, które w zakażeniach inwazyjnych są wciąż sporadyczne (6). Przeciwciała przeciwko otoczce mają działanie ochronne, warunkując typowo-swoistą odporność. Różnice w budowie otoczki wielocukrowej są podstawą typowania serologicznego. Obecnie wyodrębniono

ponad 100 serotypów *S. pneumoniae*. Otoczka polisacharydowa wykazuje silne działanie antyfagocytarne. Wiąże się ono z uniemożliwieniem interakcji składnika C3b dopełniacza i przeciwciał na powierzchni komórki bakteryjnej z ich receptorami na powierzchni komórek fagocytarnych, w konsekwencji czego układ immunologiczny nie jest w stanie rozpoznać patogenu (6).

Innym znaczącym czynnikiem zjadliwości jest pneumolizyna (Ply), odgrywająca kluczową rolę we wczesnym etapie patogenezы poprzez hamowanie aktywności rzęsek nabłonka. Jest to toksyna tworząca pory i uszkadzająca tkanki nabłonkowe poprzez swoje właściwości lityczne. Pneumolizyna pośredniczy również w aktywacji układu dopełniacza drogą klasyczną (6). W procesie uwalniania pneumolizyny uczestniczą autolizyny, które biorą udział w rozpadzie komórek bakteryjnych (np. LytA) (7). W procesie zakaźnym ważną rolę odgrywają fimbrie i adhezyny, które umożliwiają przyleganie patogenu do komórek nabłonka. Fimbrie mogą również stymulować produkcję cytokin zapalnych (6). Istotnym czynnikiem zjadliwości *S. pneumoniae* jest wytwarzanie enzymów proteolitycznych takich jak proteaza IgA1, która rozszczepia specyficzne wiązania peptydowe inaktywując immunoglobulinę A1 (IgA1). Komórki pneumokoków wytwarzają również nadtlenek wodoru, który powoduje uszkodzenie komórek gospodarza. Nadtlenek wodoru wykazuje również działanie bakteriobójcze, co może mieć związek z konkurowaniem *S. pneumoniae* z innymi bakteriami (7). Pneumokoki mogą również wytwarzać biofilm, czyli zbiorowiska komórek otoczone pozakomórkową macierzą. Rola biofilmu polega na zmniejszeniu wrażliwości bakterii na leki przeciwdrobnoustrojowe, dodatkowo ochronna macierz umożliwia unikanie systemów obrony immunologicznej gospodarza (6).

## **NAJWAŻNIEJSZE MECHANIZMY OPORNOŚCI *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE***

Leczenie zakażeń wywołanych przez *S. pneumoniae* może być utrudnione z uwagi na wzrastającą oporność tych bakterii na antybiotyki. Przez wiele lat podstawowym antybiotykiem, tzw. lekiem z wyboru, była penicylina. Niestety, narastającą

oporność obserwuje się nie tylko na penicylinę, ale i na inne antybiotyki  $\beta$ -laktamowe. Oporność ta jest wynikiem zmian w białkach PBP (Penicillin Binding Proteins). Białka te biorą udział w ostatnim etapie syntezy peptydoglikanu ściany komórki bakteryjnej. Antybiotyki  $\beta$ -laktamowe trwale wiążą się z białkami PBP, blokując ich aktywność enzymatyczną i uniemożliwiają syntezę ściany komórkowej. Modyfikacja białek PBP zmniejsza powinowactwo do  $\beta$ -laktamów, a do jej powstania dochodzi w drodze nabycia fragmentu DNA lub całego genu *pbp* od innych pneumokoków lub spokrewnionych gatunków (*S. oralis*, *S. mitis*). W ten sposób powstają tzw. geny mozaikowe. Oporność na  $\beta$ -laktamy może być zróżnicowana, w zależności od charakteru zmian np. szczepy odporne na penicylinę przy jednoczesnej wrażliwości na cefalosporyny III generacji (8). Oporność na penicylinę może także wynikać z mutacji w genach kodujących PBP.

Szerokie stosowanie makrolidów przyczyniło się do zwiększenia oporności na ten antybiotyk wśród pneumokoków. Mechanizm działania opiera się na hamowaniu syntezy białek bakteryjnych poprzez wiązanie z dużą podjednostką 50S rRNA (9). Oporność ta może być wynikiem modyfikacji miejsca docelowego lub spowodowana wypompowywaniem antybiotyku z komórek bakteryjnych. Pierwszy z mechanizmów polega na modyfikacji miejsca docelowego leku i jest uwarunkowany genem *erm(B)*. Gen ten koduje metylazy rybosomalne, które powodują metylację adeniny w 23S rRNA, czego wynikiem jest oporność w mechanizmie MLSB (konstrytuwnym - cMLS<sub>B</sub>) lub indukcyjnym (iMLS<sub>B</sub>). Oporność w mechanizmie konstrytuwnym prowadzi do krzyżowej oporności na makrolidy, linkozamidy i streptograminy. Drugi mechanizm, wypompowywanie antybiotyku poprzez pompy błonowe, spowodowany jest obecnością genów klasy *mef* (*mefA*, *mefB*) i wiąże się z opornością na erytromycynę i pozostałe 14- i 15-członowe makrolidy (fenotyp M) (9).

Przeciwbakteryjne działanie fluorochinolonów polega na hamowaniu bakteryjnej gyrazy DNA i topoisomerazy IV. Oporność na fluorochinolony determinowana jest przez mutacje w genach *gyrA* i *gyrB* (odpowiedzialnych za kodowanie dwóch podjednostek gyrazy DNA - GyrA i GyrB) oraz *parC* i *parE* (kodowanie podjednostek topoisomerazy ParC i ParE). Z opornością na fluorochinolony związany jest również mechanizm

wypompowywania antybiotyku przez błony komórkowe (10). Jedynie fluorochinolony III (lewofloksacyna) i IV generacji (moksufloksacyna) wykazują wystarczającą klinicznie aktywność wobec pneumokoków.

Oporność na tetracykliny warunkowana jest nabyciem genów *tet*, przenoszonych przez transpozony, na których mogą być także obecne geny *erm* warunkujące oporność na makrolidy. Białka kodowane przez geny *tet* są zaangażowane w ochronę miejsca łączenia się antybiotyku z podjednostką rybosomu (9).

Mechanizm oporności na chloramfenikol związany jest z nabyciem acetylotransferazy chloramfenikolu (CAT), kodowanej przez przenoszony na transpozonie gen *cat*. CAT powoduje modyfikację enzymatyczną – acetylację chloramfenikolu (9). Z kolei oporność na kotrimoksazol może wynikać z pojedynczej substytucji aminokwasu Ile100Leu w reduktazie dihydrofolianowej (DHFR) oraz z mutacji w obrębie genu kodującego syntetazę dihydropteroidową (DHPS) (9).

## **LEKOWRAŻLIWOŚĆ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* – DANE KOROUN (11, 12)**

Spośród zebranych przez KOROUN w 2021 roku inwazyjnych pneumokoków z oznaczoną lekowrażliwością interpretowaną zgodnie z EUCAST (13) (n=663), prawie co czwarty (24,7%, n=164) charakteryzował się opornością na erytromycynę. W ich obrębie 75,6% (n=124) wykazało konstytutywną oporność na klindamycynę (mechanizm *cMLS<sub>B</sub>*), a jeden izolat (0,6%) indukcyjną oporność (mechanizm *iMLS<sub>B</sub>*). 22% izolatów opornych na erytromycynę było wrażliwych na klindamycynę i wykazywało fenotyp M. Oporność i wrażliwość przy zwiększonej ekspozycji (WZE) na penicylinę zaobserwowano odpowiednio u 1,4% (n=9) i 15,4% (n=102) izolatów. Szczepy te posiadają zmiany w białkach PBP warunkujące podwyższenie wartości MIC penicyliny (powyżej 0,06 mg/L). W 2021 roku MIC cefotaksymu powyżej 0,06 mg/L, charakteryzowało 14,6% izolatów (n=97) wśród których jedynie 40% izolatów (n=39) było WZE lub opornych (MIC cefotaksymu > 0,5 mg/L). Izolaty MDR (wielolekooporne, multi drug resistant), określane na podstawie kryteriów dla izolatów odpowiedzialnych za zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, stanowiły 13,7% wszystkich pneumokoków (n=91).

## **SZCZEPIONKI PRZECIWKO PNEUMOKOKOM I ICH WPŁYW NA LEKOWRAŻLIWOŚĆ**

W szczepionkach przeciwko pneumokokom jako antygeny stosowane są polisacharydy otoczki *S. pneumoniae*, ponieważ wywołują one ochronną odpowiedź immunologiczną u ludzi, a oporność jest serotypowo swoista. Obecnie na rynku dostępne są dwa rodzaje szczepionek: polisacharydowe i skoniugowane. W pierwszych jako antygeny są stosowane wielocukry otoczki pneumokoków, które wywołują odpowiedź immunologiczną zależną od limfocytów B (14, 15). Ten typ odpowiedzi jest niedojrzały u najmłodszych dzieci, dlatego immunizacja szczepionką polisacharydową jest zalecana osobom w wieku powyżej 2 lat, u których istnieje zwiększone ryzyko zachorowalności i śmiertelności z powodu chorób wywoływanych przez *Streptococcus pneumoniae*. Obecnie dostępna jest jedna szczepionka polisacharydowa obejmująca 23 serotypy pneumokoków (PPV23). W tabeli 1 przedstawione są serotypy, których polisacharydy są zawarte w stosowanych szczepionkach.

Drugim typem dostępnych na rynku szczepionek są szczepionki skoniugowane. Zawierają one polisacharyd związany z białkiem nośnikowym, stymulujący silniejszą i trwającą dłużej odpowiedź immunologiczną zależną od limfocytów T (14, 15). Pierwsza skoniugowana szczepionka (PCV7) zawierała polisacharydy siedmiu najczęściej występujących serotypów w zakażeniach pneumokokowych u małych dzieci w USA (16). Szczepionka ta była dopuszczona do obrotu w USA w 2000 roku, a następnie w Unii Europejskiej (UE) w 2001. PCV7 była stosowana w wielu krajach w ramach obowiązkowych szczepień przeciwko pneumokokom. Skutkiem powszechnych szczepień był spadek występowania serotypów objętych szczepionką PCV7 w zakażeniach. Jednak obserwowano zastąpienie zwolnionej niszy szczepami o serotypach spoza PCV7, co skłoniło naukowców do badań nad zwiększeniem walencyjności szczepionek. Postęp prac nad skoniugowanymi szczepionkami zaowocował w latach 2009-2010 rejestracją w USA i UE kolejnych wariantów PCV: 10-walentnej (PCV10) i 13-walentnej (PCV13) dopuszczonych do stosowania u dzieci od 6. tygodnia życia. W Polsce szczepionki PCV10 i PCV13 są dostępne na rynku odpowiednio od 2009 i 2010 roku. Wciąż są prowadzone badania w celu zwiększenia pokrycia szcze-

ponkowego poprzez zwiększenie liczby serotypów, jakie są objęte szczepionkami. W ostatnich dwóch latach (2021-2022) amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA) oraz Europejska Agencja Leków dopuściły do stosowania u osób w wieku 18 lat i starszych szczepionki 15- (PCV15) i 20-walentne (PCV20). FDA dopuściła PCV15 również do stosowania u dzieci w wieku od 6. tygodnia. Jednocześnie trwają badania nad uniwersalnymi, niezależnymi od serotypów, białkowymi bądź peptynowymi szczepionkami przeciwko pneumokokom (17), jednak żadna z nich nie jest zatwierdzona do stosowania u ludzi. Szczepionki uniwersalne rozwiązałyby problem szybkiego pojawiania się nowych serotypów (obecnie jest ich ponad 100) i chroniłyby przed zakażeniami wywoływanymi przez szczepy nieszczepionkowe i bezotoczkowe.

W Polsce szczepienia przeciwko pneumokokom szczepionką PCV zostały wpisane do Programu Szczepień Ochronnych (PSO) jako obowiązkowe dla dzieci urodzonych po 31 grudnia 2016 roku w schemacie 2+1 (dwie dawki w wieku 2 i 4 miesięcy oraz dawka przypominająca w wieku 13-15 miesięcy). Dotychczas, w latach 2017-2021, w wyniku corocznych przetargów, do PSO wybierana była szczepionka 10-walentna.

Wpływ obowiązkowych szczepień przeciwko pneumokokom można zaobserwować m.in. w spadku występowania w IChP izolatów o serotypach szczepionkowych. Najlepiej jest to widoczne wśród dzieci w wieku do 5 lat. Zakażenia wywołane przez izolaty o serotypach, których antygeny są zawarte w dwóch szczepionkach PCV10/13 stanowiły 57,3% wszystkich przypadków IChP przed wprowadzeniem obowiązkowych

szczepień (w latach 2014-2016) i 36,9% po ich wprowadzeniu (lata 2017-2019,  $p < 0,001$ ).

Po wdrożeniu obowiązkowych szczepień obserwuje się także zmianę w lekowrażliwości izolatów wywołujących inwazyjne zakażenia pozaszpitalne. Ogółem, w całej populacji widoczny jest znamieny spadek odsetka izolatów MDR na przestrzeni lat. W okresie 2014-2016, 21,6% szczepów odpowiedzialnych za IChP było wielolekooporne, natomiast w latach 2017-2019 było to 16,7% ( $p < 0,05$ ). Analizując dane z 2021 roku, w zestawieniu z danymi z 2016 roku, obserwuje się istotny spadek izolatów opornych na cefotaksym (2016: 13,9% vs. 2021: 5,9%,  $p < 0,001$ ), klindamycynę (24,5% vs. 18,9%,  $p < 0,05$ ) oraz izolatów MDR (19,7% vs. 13,7%,  $p < 0,05$ ). Widoczna jest również redukcja odsetka izolatów z MIC penicyliny  $\geq 0,06$  mg/L (20,3% vs. 16,6%) i opornych na erytromycynę (27,9% vs. 24,7%), jednak różnice te nie są znamienne ( $p > 0,05$ ).

Zmiany w udziale inwazyjnych izolatów opornych na antybiotyki w Polsce wynikają między innymi z faktu, że wiele izolatów o serotypach szczepionkowych charakteryzuje fenotyp MDR. Wśród pneumokoków szczepionkowych o serotypach 19F, 14, 6B ponad 60% to izolaty MDR. Najwyższa oporność dotyczy izolatów serotypu 19A, wśród których odpowiednio 85% i 64% w roku 2016 i 2021 należało do MDR. Antygeny serotypu 19A są zawarte w szczepionkach 13-, 15-, 20- i 23-walentnej. Powszechne szczepienie dzieci przeciwko pneumokokom skutkuje spadkiem liczby zakażeń inwazyjnych wywoływanych przez izolaty o serotypach szczepionkowych i spadkiem udziału izolatów MDR w zakażeniach.

Tabela 1. Serotypy *S. pneumoniae*, których polisacharydy są zawarte w szczepionkach przeciw pneumokokowym (serotypy szczepionkowe).

PCV7	4	6B	9V	14	18C	19F	23F																	
PCV10	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	5	7F														
PCV13	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	5	7F	3	6A	19A											
PCV15	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	5	7F	3	6A	19A	22F	33F									
PCV20	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	5	7F	3	6A	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B				
PPV23	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	5	7F	3	-	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B	2	9N	17F	20

## PODSUMOWANIE

Zakażenia wywoływane przez *S. pneumoniae* stanowią poważny problem w skali globalnej z uwagi na ich ciężki przebieg, wysoką śmiertelność oraz rozprzestrzenianie się szczepów wielolekoopornych. Zapobieganie zakażeniom pneumokokowym poprzez szczepienia zawsze stanowiło priorytet zdrowia publicznego. Powszechne stosowanie szczepień przeciwko pneumokokom przyczynia się do spadku liczby przypadków IChP. Obserwuje się również spadek zakażeń wywołanych przez izolaty wielolekooporne z uwagi na fakt, że wiele z nich należy do serotypów szczepionkowych. Sytuację epidemiologiczną należy nieustannie monitorować ze względu na zmieniającą się epidemiologię oraz narastającą oporność szczepów pneumokoków celem aktualizowania działań profilaktycznych i standardów antybiotykoterapii empirycznej.

## PIŚMIENNICTWO

- <https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-%20%20specifications/vaccine-standardization/pneumococcal-disease>
- <https://www.cdc.gov/pneumococcal/about/risk-transmission.html>
- <https://www.cdc.gov/pneumococcal/clinicians/streptococcus-pneumoniae.html>
- Weiser J.N., Ferreira D.M., Paton J.C. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion Nat Rev Microbiol. 2018 June; 16(6): 355-367. doi 10.1038/s41579-018-0001-8
- Obaro S., Adegbola R. The pneumococcus: carriage, disease and conjugate vaccines J. Med. Microbiol. Vol. 51 (2002), 98-104
- Mitchell A.M., Mitchell T.J. - *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors and variation, Clin Microbiol Infect 2010; 16: 411-41
- Brooks L.r.K., Mias G.I. *Streptococcus pneumoniae's* Virulence and Host Immunity: Aging, Diagnostics, and Prevention Front. Immunol., 22 June 2018
- Smith A.M., Botha R.F., Koornhof H.J., Koornhof K.P. Emergence of pneumococcal clone with cephalosporin resistance and penicillin Antimicrob Agents Chemother. 2001 Sep; 45(9): 2648-2650
- El Moujaber G., Osman M., Rafei R., Dabboussi F., Hamze M. Molecular mechanisms and epidemiology of resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the Middle East region J Med Microbiol. 2017;66:847-858
- Hsin-Hang Chen, Hsin-ChiehLi, Lin-HuiSu, Cheng-HsunChiu Fluoroquinolone-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates from a medical center in the pneumococcal conjugate vaccine era J Microbiol Immunol Infect. 2017 Dec;50(6):839-845
- Skoczyńska A., Gołębiwska A., Wróbel-Pawelczyk I., Kiedrowska M., Ronkiewicz P., Błaszczak K., Kuch A., Hryniewicz W. Inwazyjna choroba pneumokokowa w Polsce w 2021 roku (dane KOROUN), 2022 <https://koroun.nil.gov.pl/dane-epidemiologiczne/>
- Skoczyńska A., Waśko I., Gołębiwska A., Wróbel-Pawelczyk I., Kiedrowska M., Ronkiewicz P., Kuch A., Hryniewicz W. Inwazyjna choroba pneumokokowa w Polsce w 2016 roku (dane KOROUN), 2017 <https://koroun.nil.gov.pl/dane-epidemiologiczne/>
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022. <http://www.eucast.org>
- Kim G.L., Seon S.H., Rhee D.K. Pneumonia and *Streptococcus pneumoniae* vaccine. Arch Pharm Res. 2017 Aug;40(8):885-893.
- Goldblatt D. Conjugate vaccines. Clin Exp Immunol. 2000 Jan;119(1):1-3.
- Musher D.M., Anderson R., Feldman C. The remarkable history of pneumococcal vaccination: an ongoing challenge. Pneumonia (Nathan). 2022 Sep 25;14(1):5.
- Briles D.E., Paton J.C., Mukerji R., Swiatlo E., Crain M.J. Pneumococcal Vaccines. Microbiol Spectr. 2019 Nov;7(6).