

Katarzyna Hareńska, Grażyna Janicka, Dorota Wojciechowska

WRAŻLIWOŚĆ NA PENICYLINĘ SZCZEPÓW
S. PNEUMONIAE, *H. INFLUENZAE*, *M. CATARRHALIS* I *S. AUREUS*
IZOLOWANYCH OD OSÓB
Z ZAKAŻENIEM GÓRNEGO UKŁADU ODDECHOWEGO

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej
Samodzielnego Publicznego Zespołu Opieki Zdrowotnej w Żninie
Kierownik: Dr n. przyr. G. Janicka

Wobec narastającej oporności bakterii na różne antybiotyki określono częstość występowania opornych na penicylinę szczepów wymienionych wyżej bakterii izolowanych z materiałów klinicznych pobranych z dróg oddechowych w latach 1995 i 1996 od pacjentów hospitalizowanych i ambulatoryjnych, leczonych z powodu różnych schorzeń układu oddechowego.

WSTĘP

Bakterie chorobotwórcze, w tym także główne patogeny układu oddechowego: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, a także *S. aureus* wnikające często zakażenia wirusowe, wykazują ciągle narastanie oporności na antybiotyki stosowane w leczeniu wywołanych przez nie zakażeń (4, 6, 9, 18). Jednym z podstawowych mechanizmów oporności na leki beta-laktamowe jest wytwarzanie enzymu betalaktamazy, uszkadzającego pierścień laktamowy w antybiotyku (2, 8, 16). Oporność szczepów enzymatycznie inaktywujących antybiotyków betalaktamowy można usunąć, stosując razem z lekiem betalaktamowym inhibitor beta-laktamazy np. kwas klawulanowy (17). Oporność na penicylinę u *S. pneumoniae* jest związana z pojawieniem się nowego białka wiążącego penicylinę (5). Celem obecnej pracy było określenie częstości występowania oporności na penicylinę u wyżej wymienionych patogenów układu oddechowego. Postanowiono sprawdzić też, czy u badanych szczepów *H. influenzae*, *M. catarrhalis* i *S. aureus*, oporność na penicylinę wywołana jest wytwarzaniem beta-laktamazy.

MATERIAŁ I METODY

Analizą objęto 600 szczepów następujących bakterii: *S. pneumoniae* – 77 szczepów, *H. influenzae* – 162 szczepy, *M. catarrhalis* – 68 szczepów, *S. aureus* – 293 szczepy, izolowanych w latach 1995–1996 z dróg oddechowych pacjentów z różnymi schorzeniami układu oddechowego. Badany materiał-plwocinę pobierano od pacjentów

do jałowych pojemników i posiewano na następujące podłoża bakteriologiczne: Agar czekoladowy, agar krwawy i Chapman Agar. Badane drobnoustroje zidentyfikowano zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami, według zaleceń Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (10). Metycylinowrażliwość szczepów *S. aureus* oznaczano na podłożu Mueller-Hintona stosując krążki nasączone 5 µg metycyliny. Płytki inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 30°C (10). Do dalszego opracowywania wybrano tylko szczepy metycylinowrażliwe. Wrażliwość na penicylinę oznaczano metodą dyfuzyjno-krążkową używając krążków: z 10 µg penicyliny dla oznaczenia wrażliwości na penicylinę u *S. aureus*; z 30 µg ampicyliny dla oznaczania wrażliwości na penicylinę u *H. influenzae* i *M. catarrhalis*. U wyżej wymienionych bakterii oceniano wytwarzanie beta-laktamazy przy użyciu krążka z nitrocefina (Cefinase, BBL Microbiology System). U szczepów wytwarzających beta-laktamazę oznaczano dodatkowo wrażliwość na amoksyliny/kwas klawulanowy (AMC – 30 µg). Natomiast do oznaczenia wrażliwości na penicylinę szczepów *S. pneumoniae* wykorzystano krążki nasączone 1 µg oxacyliny (OX). Antybiogramy wykonywano na podłożu Mueller-Hinton2 (BioMerieux). Strefy zahamowania wzrostu bakterii wokół krążków z antybiotykami interpretowano zgodnie z tabelami NCCLC (12).

WYNIKI BADAŃ

Wyniki badań ilustruje tabela 1.

Tabela 1. Wrażliwość na penicylinę u wybranych patogenów układu oddechowego

Szczepy	Liczba badanych szczepów	Liczba i odsetki szczepów wrażliwych na penicylinę	Liczba i odsetki szczepów opornych na penicylinę	Liczba i odsetki szczepów wytwarzających beta-laktamazę
<i>S. pneumoniae</i>	77	75 97,4%	2 2,6%	–
<i>H. influenzae</i>	162	87 53,7%	75 46,3%	75 46,3%
<i>M. catarrhalis</i>	68	12 17,6%	56 82,4%	56 82,4%
<i>S. aureus</i>	293	35 11,9%	258 88,1%	258 88,1%

Największą liczbę szczepów wrażliwych na penicylinę otrzymano wśród szczepów *S. pneumoniae* (97,4%) i *H. influenzae* (53,7%), najmniejszą – wśród szczepów *S. aureus*, (11,9%) i *M. catarrhalis* (17,6%). Beta-laktamazy wytworzyło 88,1% szczepów *S. aureus* 82,4% szczepów *M. catarrhalis* i 46,3% szczepów *H. influenzae*. Wszystkie szczepy wytwarzając beta-laktamazę wykazywały wrażliwość na amoksyliny (kwas klawulanowy/Augmentin).

DYSKUSJA

Spośród 77 szczepów *S. pneumoniae* tylko 2,6% szczepów wykazywało oporność na penicylinę. Uzyskany odsetek mieści się w przedziale od 0 do 3% szczepów opornych na penicylinę otrzymanych w różnych państwach, także w Polsce, na początku lat dziewięćdziesiątych (7, 15, 19). Należy jednak zaznaczyć, że w niektórych regionach geograficznych odsetek szczepów *S. pneumoniae* opornych na penicylinę jest bardzo wysoki: na Węgrzech już w 1992 r. Marton podaje alarmującą statystykę – ponad 70% szczepów *S. pneumoniae* jest penicylinoopornych (11). Obecnie w Barcelonie wykazano 29% szczepów *S. pneumoniae* opornych na penicylinę (12), a w badaniach prowadzonych w 15 ośrodkach Europy Zachodniej i USA odsetek szczepów opornych na penicylinę wahał się od 6 do 54% w zależności od ośrodka, średnio było 23% szczepów opornych na penicylinę (6). Wykazano wysoki odsetek (46,3%) szczepów *H. influenzae* opornych na ampicylinę, w porównaniu z danymi z początku lat dziewięćdziesiątych dotyczącymi – szczepów polskich *H. influenzae* (ok. 20% szczepów opornych na ampicylinę) (7), a także – szczepów z innych krajów (kilkanaście % szczepów opornych na ampicylinę) (15, 19). Obecnie w kraju wysoki odsetek szczepów *H. influenzae* opornych na ampicylinę (33,3%) zaobserwowali Patrzałek i Natwora-Gołąbek (14). Uzyskany przez nas wysoki odsetek szczepów *H. influenzae* opornych na ampicylinę jest również wyższy, niż odsetek szczepów opornych na penicylinę wykazany obecnie w USA (35,6%) (1). 82,4% szczepów *M. catarrhalis* było opornych na ampicylinę, wynik ten nie odbiega znacznie od danych otrzymanych w innych krajach i w Polsce (3, 7, 8, 19). Należy jednak przypuszczać, że w najbliższym czasie około 100% szczepów *M. catarrhalis* może być opornych na ampicylinę: narastanie oporności wykazano w badaniach prowadzonych w latach 1992 i 1993 w Europie Zachodniej i w USA. Zarówno w Europie Zachodniej jak i w USA odsetki szczepów *M. catarrhalis* opornych na ampicylinę w 1993 r. w porównaniu z 1992 r. wzrosły o ok. 10% (3). Otrzymano 88,1% szczepów *S. aureus* opornych na penicylinę, wynik ten jest wyższy niż w opracowaniu z 1996 r. dotyczącym szczepów *S. aureus* z Europy Zachodniej i USA (18), lecz niższy od odsetka szczepów *S. aureus* opornych na penicylinę uzyskanego w Polsce już na początku lat dziewięćdziesiątych (7). Wszystkie z badanych przez nas opornych na ampicylinę szczepów *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus* produkowały beta-laktamazę i były wrażliwe na Augmentin, co może świadczyć, że jedynym mechanizmem oporności u badanych szczepów było wytwarzanie beta-laktamazy; w innych pracach wykazano, że oporność na penicylinę wcale nie musi być związana tylko z produkcją enzymu uszkadzającego pierścień betalaktamowy ampicyliny (2, 7, 15, 16, 18).

WNIOSKI

1. Prawie połowa (46,3%) izolowanych szczepów *H. influenzae* była oporna na ampicylinę. U pozostałych bakterii stopień oporności na ampicylinę wynosił: 2,6% dla szczepów *S. pneumoniae*, 82,4% dla szczepów *M. catarrhalis* i 88,1% dla szczepów *S. aureus*.
2. Wszystkie szczepy *H. influenzae*, *M. catarrhalis* i *S. aureus*, odporne na penicylinę (ampicylinę), produkowały beta-laktamazę i były wrażliwe na Augmentin.

K. Hareńska, G. Janicka, D. Wojciechowska

THE PENICILLIN SUSCEPTIBILITY
OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*,
MORAXELLA CATARRHALIS AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
ISOLATED FROM PERSONS SUFFERING
FROM UPPER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

SUMMARY

The susceptibility to penicillin was tested in 293 strains of *S. aureus*, 162 strains of *H. influenzae*, 60 strains of *M. catarrhalis* and 77 strains of *S. pneumoniae*, isolated from persons suffering from upper respiratory tract infections. Penicillin susceptibility testing has been performed by the disc diffusion technique. Beta-lactamase production in the penicillin-resistant strains of *H. influenzae*, *M. catarrhalis* and *S. aureus* was detected with nitrocefin impregnated disc. In beta-lactamase positive strains, the susceptibility to amoxicillin/clavulanic acid (AMC) was determined.

Nearly half (46,3%) of *H. influenzae* strains was resistant to ampicillin. In the remaining bacteria, the percentage of resistance was 2,6% for *S. pneumoniae*, 82,4% for *M. catarrhalis* and 88,1% for *S. aureus* strains. All strains resistant to penicillin (ampicillin) produced beta-lactamase and were AMC sensitive.

PIŚMIENNICTWO

1. Barry S, Barry AL, Buton P. Susceptibility surveillance of US respiratory pathogen isolates to newer macrolide and azolide antibiotics. *Int J Antimicrob Agents* 1996, 7: 53-58. - 2. Barry AL, Pfaller MA, Fuchs PC, i in. In vitro activities of 12 orally administered antimicrobial agents against four species of bacterial respiratory pathogens from US medical centers in 1992 and 1993. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, 38: 2419-2425. - 3. Berk SL, Kalfleisch JH. Antibiotic susceptibility patterns of community acquired respiratory isolates of *Moraxella catarrhalis* in Western Europe and in the USA. *Antimicrob Chemother* 1996, 38, Suppl. A: 85-96. - 4. Doem GV. Trends in antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens of the respiratory tract. *Am J Med* 1995, 99, Suppl. 6B: 3-7. - 5. Dowson CG, Coffey TJ, Kell C, i in. Evolution of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae*, the role *Streptococcus mitis* in the formation of a low affinity PBP2 in *S. pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1993, 9, 635-643. - 6. Goldstein FW, Ackar JF. Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae*: Results of a 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study: *J Antimicrob Chemother* 1996, 38, Suppl. A: 71-84. - 7. Hryniewicz W. Bacterial resistance in Eastern Europe-selected problems. *Scand. J Infect Dis* 1994, Suppl. 93: 33-39. - 8. Ejertsen T, Skov R. The beta-lactamases of *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* isolated from Danish Children. *APMIS* 1996, 104: 557-562. - 9. Jenkinson HF. Ins and Outs of antimicrobial resistance: Era of the Drug Pumps. *J Den Res* 1996, 75: 736-742. - 10. Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości: Oznaczanie wrażliwości bakterii na chemioterapeutyki - zasady doboru antybiotyków w rutynowej diagnostyce zakażeń bakteryjnych. *Microb Med* 1997, 2: 26-29.

11. Marton A. Pneumococcal antimicrobial resistance. The problem in Hungary. *Clin Infect Dis* 1992, 15: 106-111. - 12. Minton EJ., Macfarlane JT., Antibiotic resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Thorax* 1996, 51, Suppl. 2: 45-50. - 13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2 - A5: 1993, 13, No 24. - 14. Patrzalek M, Natwora-Gołąk B. Czynniki etiologiczne ropnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u dzieci. Dwadzieścia lat obserwacji własnych. *Przeg Epidemiol* 1997,

- 51:303-307. – 15. Powell M, McVey D, Kassim MH, i in. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* isolated in the UK from sputa. Antimicrob Chemother 1991, 28: 249-250. – 16. Rittenhouse SF, Miller LA, Kaplan RL, i in. A survey of beta-lactamase-producing *Haemophilus influenzae*. An evaluation of 5750 isolates. Diagn. Microbiol Infect Dis 1995, 21: 223-225. 17. – Rotschafer JC, Ostergaard BE. Combination beta-lactam and beta-lactamase-inhibitor products: antimicrobial activity and efficiency of enzyme inhibition Am J Health Syst Pharm 1995, 52, Suppl 2: 15-22. – 18. Schito GC, Debbia EA, Pesce A. Susceptibility of respiratory strains of *Staphylococcus aureus* to fifteen antibiotics: Results of a collaborative surveillance study (1992-1993). J Antimicrob Chemother 1996, 38, Suppl A: 97-106. – 19. Struelens MJ, Nonhoff C, Lontie M, i in. *In vitro* activity of commonly used oral antimicrobial agents community isolates of respiratory pathogens. Acta Clin. Belg 1991, 46: 283-289.

Adres: Samodzielny Publiczny Zespół Opieki Zdrowotnej
ul. Szpitalna 30, 88-400 Żnin