

Danuta Dzierżanowska

Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Mechanizmy lekooporności na fluorochinolony wśród bakterii odpowiedzialnych za zakażenia u pacjentów leczonych ambulatoryjnie

Mechanisms of quinolone resistance in pathogens responsible for infections in the outpatient clinic

Streszczenie

Fluorochinolony są grupą leków syntetycznych szeroko stosowanych w terapii zakażeń szpitalnych i pozaszpitalnych. Niektóre z fluorochinolonów, tj. lewofloksacyna i moksyflokscacyna, nazywane są fluorochinolonami oddechowymi z uwagi na znakomitą aktywność wobec *Streptococcus pneumoniae*, głównego patogenu zakażeń dróg oddechowych.

W artykule omówione zostały główne mechanizmy lekooporności na fluorochinolony najważniejszych patogenów w środowisku pozaszpitalnym, tj. *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli*.

Lekooporność na fluorochinolony oddechowe wśród szczepów *Streptococcus pneumoniae* jest ciągle niska. Monitorowanie lekooporności na fluorochinolony i właściwe ich stosowanie w leczeniu zakażeń jest warunkiem zachowania przydatności tej grupy leków w terapii zakażeń w przyszłości.

Słowa kluczowe

fluorochinolony oddechowe, epidemiologia lekooporności, mutacje, bariery przepuszczalności, białka pompy effluksowej, oporność plazmidowa, strategia terapii

Wstęp

Od kilkadziesiąt lat fluorochinolony są bardzo często stosowane w leczeniu zakażeń, zarówno w warunkach ambulatoryjnych, jak i szpitalnych [1].

Abstract

Fluoroquinolones are a group of synthetic antibiotics frequently used in therapy of various infections in hospitals as well as in outpatients. Some of them, e.g. levofloxacin and moxifloxacin, the so-called “respiratory fluoroquinolones”, display improved activity against gram-positive pathogens, especially *Streptococcus pneumoniae*, the main pathogen of respiratory infections.

The author describes the mechanisms of resistance to fluoroquinolones among the main outpatient pathogens, such as *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*.

It is emphasised that the percentage of resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated from outpatients is still very low. Monitoring resistance to quinolones and careful usage of these drugs in therapy is essential for the maintenance this group of drugs, and will be useful in the therapy of infectious diseases in the future.

Key words

respiratory fluoroquinolones, epidemiology of drug resistance, mutation, permeability barrier, proteins efflux pumps, plasmid mediated resistance, strategy of therapy

Globalnym problemem terapii przeciwbakteryjnej jest narastająca lekooporność bakterii odpowiedzialnych za różne postacie zakażeń. Problem lekooporności jest zdecydowanie poważniejszy w przy-

padku izolatów bakterii szpitalnych w porównaniu z lekoopornością stwierdzaną w warunkach pozaszpitalnych. Wynika to przede wszystkim z węższego zakresu zakażeń leczonych ambulatoryjnie i znacznego rozproszenia chorych w środowisku w porównaniu z warunkami szpitalnymi, gdzie dużą liczbę zakażeń leczy się w zamkniętej przestrzeni. Kumulacja osób zakażonych sprzyja horyzontalnemu szerzeniu się lekoopornych szczepów szpitalnych, które mogą kolonizować pacjenta lub wywoływać poważne zakażenia.

W warunkach ambulatoryjnych do najczęściej leczonych zakażeń należą: angina paciorkowcowa, zapalenie ucha środkowego, zapalenie zatok przyśrodkowych, zaostrzenie bakteryjne przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP), łagodne postaci zapalenia płuc, zakażenia skóry i tkanki podskórnej oraz zakażenia układu moczowego. Te ostatnie często występują u dzieci, zwłaszcza u dziewczynek w każdym wieku, a później u kobiet w wieku prokreacyjnym aż do późnej starości. W wieku podeszłym liczba zakażeń u kobiet i mężczyzn jest podobna z uwagi na problem przerostu gruczołu krokowego. Spektrum drobnoustrojów odpowiedzialnych za zakażenia leczone ambulatoryjnie jest znacznie węższe w porównaniu z drobnoustrojami powodującymi zakażenia szpitalne. W środowisku pozaszpitalnym istotne znaczenie ma lekooporność takich drobnoustrojów, jak *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, a z bakterii Gram-ujemnych – *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i rzadziej *Pseudomonas aeruginosa* (POChP, *cystic fibrosis*). Dużym postępem w terapii zakażeń bakteryjnych u dorosłych było wprowadzenie nowych pochodnych fluorochinolonów, takich jak lewofloksacyna i moksyflokscacyna [2, 3]. W porównaniu z preparatami starej generacji charakteryzują się one szerszym spektrum działania, obejmującym bakterie Gram-dodatnie, oraz większą skutecznością w leczeniu zakażeń dróg oddechowych. Ze względu na wysoką aktywność wobec *Streptococcus pneumoniae* leki te nazywane są też fluorochinolonami oddechowymi [4].

Szerokie stosowanie fluorochinolonów „oddechowych” w warunkach ambulatoryjnych wynika nie tylko z aktywności przeciwbakteryjnej, lecz także ze znacznie lepszych właściwości farmakokinetycznych i farmakodynamicznych, szerokiego spektrum działania przeciwbakteryjnego, obejmującego także ziarenkowce Gram-dodatnie, doskonałej dostępności biologicznej przy podawaniu doustnym i długiego okresu biologicznego półtrwania, co umożliwia podawanie 2 razy lub raz na dobę,

względnie dobrej tolerancji i bardzo niewielkiego odsetka szczepów lekoopornych wśród *Streptococcus pneumoniae* (ok. 2%). Z badań przeprowadzonych w ciągu 15 lat w Belgii wynika, że pomimo szerokiego stosowania w tym czasie fluorochinolonów „oddechowych” w leczeniu zakażeń dróg oddechowych nie odnotowano drastycznego wzrostu lekooporności dwoinek zapalenia płuc. Wynosiła ona 3,1% dla lewofloksacyny i < 1% dla moksyflokscacyny [4]. Globalnie oporność *Streptococcus pneumoniae* na nowe fluorochinolony ocenia się w granicach 2%. W warunkach szpitalnych lekooporność rozwija się bardzo szybko, jest zazwyczaj sprzężona z opornością na wiele różnych grup antybiotyków, których informacja genetyczna znajduje się na tych samych nośnikach genowych, tj. integronach, transpozonach lub plazmidach. Częściej obserwuje się też powikłania po terapii w postaci biegunki poantybiotykowej o etiologii *Clostridium difficile*, kolonizację pacjenta szczepami gronkowca złościstego opornego na metycylinę (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – MRSA) oraz selekcję szczepów opornych na karbapenemy.

Wielolekooporne (*multi drug resistant* – MDR) szczepy szpitalne są zazwyczaj odporne na prawie wszystkie dostępne w terapii antybiotyki. Racjonalizacja antybiotykoterapii i higiena szpitalna są podstawowymi czynnikami, które znacząco ograniczają szerzenie się szczepów lekoopornych [5].

Celem zaprezentowanego artykułu jest przybliżenie lekarzowi POZ wszystkich mechanizmów, jakimi dysponują bakterie w obronie przed działaniem leków, przede wszystkim fluorochinolonów. Warto pamiętać, że na niektóre preparaty fluorochinolonów u określonych gatunków bakterii oporność może rozwijać się wolniej, a u innych szybciej, co w pewnym sensie może sugerować strategię terapii. Wiele gatunków bakterii ma tzw. oporność wrodzoną na pewne leki, np. enterokoki na antybiotyki z grupy cefalosporyn, a pałeczki Gram-ujemne na glikopeptydy. Ta naturalna oporność ma odzwierciedlenie w spektrum przeciwbakteryjnym danego antybiotyku lub chemioterapeutyku.

Mechanizmy oporności na fluorochinolony

Oporność bakterii na fluorochinolony i inne leki rozwija się w wyniku takich procesów, jak:

- mutacje chromosomalne w genach determinujących syntezę elementów strukturalnych komórki, które są miejscem docelowego działania leku,

np. w przypadku fluorochinolonów będą to enzymy biorące udział w podziale bakteryjnego DNA. Mutacje są najważniejszym mechanizmem obronnym bakterii pozwalającym na przystosowanie się do zmieniających się, niekorzystnych warunków środowiska zewnętrznego, np. obecności antybiotyku lub chemioterapeutyku [1, 3–5];

- nabycie genów lekooporności w wyniku ich importu z zewnątrz. Ten typ oporności nosi nazwę plazmidowej [6–8]. Plazmidy są niezależnymi od chromosomalnego DNA, autonomicznymi strukturami zawierającymi różne geny, np. wirulencji bakterii i/lub oporności na antybiotyki. Ich autonomia sprawia, że mogą być przenoszone na inne komórki bakteryjne bez udziału chromosomu. Jeszcze mniejszymi elementami stanowiącymi zbiór różnych genów, w tym oporności na antybiotyki, są tzw. integrony, transpozony lub sekwencje insercyjne. Ich najważniejszą właściwością jest mobilność – mogą łatwo zmieniać gospodarza, dając mu nową cechę, w tym wypadku lekooporność. Ten sposób szerzenia się lekooporności nosi nazwę transferu horyzontalnego, a szczepy takie są łatwo przenoszone np. przez ręce personelu medycznego lub z otoczenia na pacjenta. Oporność plazmidowa na fluorochinolony wykryto niedawno, jednak w przypadku tej grupy leków nie ma ona istotnego znaczenia klinicznego. Oporność plazmidowa na fluorochinolony jest opornością niskiego stopnia. Warto jednak zaznaczyć, że szczepy posiadające plazmid z genami oporności na fluorochinolony wykazują większą skłonność do mutacji chromosomalnych, gdy znajdują się pod wpływem działania leku. Oznacza to, że zastosowanie fluorochinolonu w terapii stanowi czynnik ryzyka mutacji jednostopniowej i selekcji szczepu o niskim stopniu oporności. Kolejna terapia fluorochinolonom może powodować mutację drugostopniową i selekcję szczepu w pełni opornego na zastosowany preparat. Plazmidowa oporność na fluorochinolony występuje tylko u pałeczek Gram-ujemnych [8]. Ten typ oporności ma ogromne znaczenie w przypadku np. antybiotyków beta-laktamowych.

Współwystępowanie oporności chromosomalnej i plazmidowej oznacza, że oporność bakterii na określone antybiotyki i chemioterapeutyki rozwija się w wyniku uruchomienia różnych mechanizmów w zależności od zastosowanego preparatu. Najważniejsze i najlepiej poznane mechanizmy polegają na zaburzeniach przepuszczalności komórki

dla zastosowanego leku. Antybiotyk wnika do komórki poprzez białka tworzące kanały porynowe umieszczone w osłonach zewnętrznych do miejsca docelowego, zazwyczaj w cytoplazmie, czasem w błonie komórkowej, DNA lub ścianie komórkowej. Mutacje w genach determinujących syntezę białek porynowych prowadzą albo do zmniejszenia ich liczby, albo zmiany struktury, albo do całkowitego zamknięcia, w wyniku czego antybiotyk nie może się dostać do wnętrza komórki [9].

Ten mechanizm oporności jest szczególnie istotny u pałeczek Gram-ujemnych. Droga, jaką przebywa antybiotyk u bakterii Gram-ujemnych, zanim dotrze do miejsca docelowego, jest bardzo długa i trójeta-powa. Lek musi pokonać takie struktury komórki, jak osłona zewnętrzna, przestrzeń okołoplazmatyczna oraz błona protoplazmatyczna.

Zwykle z tym mechanizmem oporności współwystępuje inny, polegający na:

- czynnym usuwaniu leku z wnętrza komórki (eksport). W procesie tym biorą udział białka transportowe tworzące system tzw. pompy effluksowej [10, 11]. Obrazowo można to porównać do pompy wydobywającej wodę ze studni. Równoczesne występowanie obydwu tych mechanizmów odpowiada za oporność na fluorochinolony wyrażającą się 4–8-krotnym wzrostem pierwotnej wartości MIC;
- modyfikacji miejsca docelowego działania leku (target) w komórce bakteryjnej. Ten mechanizm oporności występuje w szczepach MRSA, a jego istotą jest powstanie nowego białka wiążącego penicylinę PBP2a, które zachowuje swoją funkcję biologiczną w syntezie ściany komórkowej, jednak nie ma już powinowactwa do antybiotyku beta-laktamowego. Podobny mechanizm oporności występuje w przypadku linezolidu;
- inaktywacji leku przez wytwarzanie enzymów. Enzymy mogą degradować lek, np. beta-laktamazy i antybiotyki beta-laktamowe, lub modyfikować przez tworzenie pochodnych, np. acetylo pochodne aminoglikozydu (AME). Tak zmodyfikowana pochodna nie może się połączyć z miejscem docelowym z powodu utraty powinowactwa [12].

W przypadku fluorochinolonów odnotowano jeszcze jeden, znacznie rzadszy mechanizm oporności, polegający na syntezie białka, które osłania w sposób fizyczny miejsce docelowego działania leku, tj. gyrazę i topoizomerazę.

Warto podkreślić, że klinicznie najważniejszym mechanizmem lekooporności bakterii na fluoro-

chinolony jest mutacja prowadząca do zmian strukturalnych w enzymach biorących udział w syntezie DNA bakteryjnego. Enzymy te to topoizomeraza II (gyraza) i topoizomeraza IV. Każdy z nich zawiera dwie podjednostki, tj. gyr A i gyr B oraz par C i par E. Zaburzenie syntezy jednego z enzymów lub obydwu jednocześnie prowadzi do zahamowania replikacji DNA komórki i jej śmierci. Z tego powodu fluorochinolony są lekami o działaniu bakteriobójczym. Preferencyjnie gyraza DNA jest miejscem docelowym fluorochinolonów u bakterii Gram-ujemnych, a topoizomeraza IV u bakterii Gram-dodatnich, nie jest to jednak regułą, gdyż czasami miejscem docelowym są obydwa enzymy równocześnie lub np. topoizomeraza IV w przypadku bakterii Gram-ujemnych. Ten obszar mutacji w genach gyrazy i topoizomerazy określa się jako QRDS (*quinolone resistance determining region*) [13].

Efektom mutacji w regionie QRDS jest zamiana jednego aminokwasu na inny w określonym miejscu aktywnym enzymu. Zazwyczaj jest to wymiana seryny, co prowadzi do zmiany struktury enzymu i spadku powinowactwa do leku. Warto zaznaczyć, że mutacje w genach gyr B i par E są zdecydowanie rzadsze i mają mniejsze znaczenie w powstawaniu lekooporności bakterii na fluorochinolony [1].

Mutacje w genach gyr A zachodzą najczęściej w terminalnych domenach genu, czyli w pozycjach od 67 do 106 u *Escherichia coli* lub w przypadku mutacji par C w pozycjach od 63 do 103. Stopień oporności spowodowanej pojedynczą wymianą aminokwasu w podjednostce gyrazy II lub topoizomerazy IV jest różny w zależności od rodzaju bakterii i rodzaju fluorochinolonu [3].

Fluorochinolony, które mają podobne powinowactwo i podobny stopień wiązania obydwu enzymów, rozwijają lekooporność istotną klinicznie w wyniku mutacji w obu genach. Zasadniczo oporność na moksyflokscynę rozwija się wolniej i jest globalnie niewielka. Wysoka oporność na moksyflokscynę (MIC = 32 µg/l) występuje w przypadku mutacji w gyr B pozycji P454 S w połączeniu z mutacją w gyr A w pozycji S 81. Jest to mutacja bardzo rzadka u dwoinek *Streptococcus pneumoniae*. Lekooporne szczepy *S. pneumoniae* powstałe w wyniku mutacji w regionie QRDR nie szerzą się klonalnie. Warto jednak zaznaczyć, że u wielolekoopornych szczepów pneumokoków izolowanych z zakażeń inwazyjnych oporność na fluorochinolony występowała wśród klonów wielolekoopornych izolowanych w różnych regionach i krajach świata [8].

Oporność plazmidowa

Mechanizm lekooporności plazmidowej na fluorochinolony (*plasmid-mediated quinolone resistance* – PMQR) wykryto u bakterii dopiero w latach 90. ubiegłego stulecia [8]. Pierwszy wykryty gen PMQR – gnr A – opisano na plazmidzie występującym w całej gamie różnych gatunków bakterii charakteryzujących się opornością na cyprofloksacynę. Obecnie znanych jest ok. 100 wariantów genu gnr zaklasyfikowanych do 6 różnych rodzin. Białka, których syntezę determinują geny gnr, są powtarzającymi się pięciopeptydami, które osłaniają gyrazę i topoizomerazę IV przed działaniem fluorochinolonów, jak opisano wcześniej.

Kolejnym mechanizmem PMQR, opisanym przed blisko 10 laty, jest oporność enzymatyczna polegająca na syntezie acetylotransferazy aminoglikozydowej – AAC(6')Ib-cr [14]. Enzym ten acetyluje atom azotu przy węglu C7 pierścienia piperazynowego cyprofloksacyny, czego efektem jest oporność na fluorochinolony. Trzecim mechanizmem oporności plazmidowej jest opisany wcześniej mechanizm pompy effluksowej.

Uważa się, że plazmidowo determinowana oporność na fluorochinolony jest opornością niskiego stopnia, nieprzekraczającą wartości granicznej MIC dla szczepu wrażliwego. Warto jednak podkreślić, że obecność w komórce bakteryjnej plazmidu sprzyja mutacji w genach gyrazy i topoizomerazy i selekcji szczepu opornego na fluorochinolony. Geny umieszczone na plazmidach mogą występować także na innych ruchomych elementach genetycznych, takich jak transpozony i/lub integrony, wspólnie z genami oporności na inne antybiotyki, np. na beta-laktamy (ESβL, KPC) w szczepach wieloopornych pałeczek Gram-ujemnych.

Należy podkreślić, że mechanizm plazmidowej oporności na fluorochinolony jest charakterystyczny tylko dla pałeczek Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae* lub pałeczek niefermentujących. Współwystępowanie z innymi genami oporności w szczepach bakterii sprzyja selekcji i rozprzestrzenianiu się szczepów MDR w środowisku.

Oporność *Streptococcus pneumoniae* na fluorochinolony tzw. oddechowe, tj. lewofloksacynę i moksyflokscynę

Lewofloksacyna i moksyflokscyna są bardziej aktywne od cyprofloksacyny wobec *Streptococcus pneumoniae*, dlatego zaproponowano dla nich nazwę „oddechowe”.

Oporność na lewofloksacynę szczepów *S. pneumoniae* w Stanach Zjednoczonych w 2011 r. wynosiła zaledwie 1,2%, w Belgii w 2015 r. < 1% [3], a w Wielkiej Brytanii odnotowano zaledwie kilka szczepów opornych [4, 15, 16].

Wśród dwoinek zapalenia płuc dominującym mechanizmem oporności jest opisany wcześniej mechanizm mutacji punktowej w regionie QRDR determinującym syntezę enzymów biorących udział w replikacji bakteryjnego DNA [16].

Oporność *S. pneumoniae* na fluorochinolony rozwija się dwustopniowo: pierwsza mutacja występuje w genie jednego enzymu i prowadzi do zmniejszenia aktywności leku wobec dwoinek zapalenia płuc, a druga mutacja w kolejnym enzymie powoduje dalszy spadek aktywności leku.

Mutacja pojedyncza (I stopnia) jest niewidoczna w warunkach *in vitro*. Zmutowany szczep w badaniu laboratoryjnym nadal jest wrażliwy na fluorochinolony, a wartości MIC mieszczą się w zakresie dla szczepów wrażliwych. Należy jednak podkreślić, że podczas leczenia fluorochinolonomi szczep z mutacją jednostopniową obciążony jest wysokim ryzykiem mutacji dwustopniowej, z pełną manifestacją kliniczną oporności [17].

Dwoinka zapalenia płuc może posiadać także geny pompy effluksowej oznaczone symbolem pat A i pat B, jednak ten mechanizm nie wiąże się z opornością o znaczeniu klinicznym [18]. Szczepy zawierające geny pompy effluksowej wyrażają gotowość do mutacji w genach gyrazy w przypadku zastosowania leku w terapii.

Fluorochinolony „oddechowe”, zwłaszcza moksyflokscyna, charakteryzują się niskim powinowactwem do białek pompy effluksowej i wzrastające zużycie moksyflokscyny nie jest czynnikiem stymulującym selekcję mutantów o tym mechanizmie działania.

Dwoinki zapalenia płuc o wysokim stopniu oporności na fluorochinolony mają mutację w obu genach, tj. gyr A i topoizomerazie IV. Zróżnicowany stopień oporności na fluorochinolony poszczególnych szczepów *S. pneumoniae* może być efektem różnych kombinacji mutacji w genach gyrazy i topoizomerazy. Dla przykładu, pierwsza mutacja (jednostopniowa) w genie par C i druga mutacja w genie gyr A zawsze prowadzi do wysokiej oporności na lewofloksacynę (MIC > 32 mg/l).

Najczęściej występującą kombinacją mutacji u *S. pneumoniae* (33%) jest mutacja S79F w par C i S81F w gyr A. Za wysoki stopień oporności na moksyflokscynę odpowiada bardzo rzadka mutacja w genach gyrazy: gyr A – S81L/Gyr B P454s, łącznie z mechanizmem

pompy effluksowej. Oporność na moksyflokscynę rozwija się zatem wolniej niż w przypadku lewoflokscyny [4].

Z uwagi na aktywność przeciwbakteryjną, kinetykę oraz szybkość selekcji mutantów opornych preferowanym fluorochinolonom w terapii zakażeń dróg oddechowych może być moksyflokscyna. Pomimo szerokiego stosowania lewoflokscyny i moksyflokscyny w leczeniu otwartym nie obserwuje się znaczącego wzrostu odsetka szczepów lekoopornych u dwoinek zapalenia płuc [4].

Do czynników sprzyjających selekcji szczepów *S. pneumoniae* opornych na lewofloksacynę należą: podeszły wiek, choroby ośrodkowego układu nerwowego, wcześniejszy pobyt w szpitalu, wcześniejsze leczenie lewofloksacyną [19].

Oporność gronkowców na fluorochinolony

W odróżnieniu od *Streptococcus pneumoniae*, odsetki szczepów gronkowca złocistego opornych na fluorochinolony są wysokie. Mechanizm oporności jest identyczny jak u pneumokoków i polega na substytucji aminokwasów w regionie QRDR gyr A i/lub par C. Najczęstszą substytucję obserwuje się w głównych regionach odpowiedzialnych za koordynację wiązania magnezu niezbędnego do efektywnego wiązania fluorochinolonu do miejsca docelowego [20]. Ponadto ważnym mechanizmem oporności gronkowca złocistego na fluorochinolony jest obecność mechanizmu pompy effluksowej. Wykazano, że u gronkowców nadekspresja białek tworzących 3 grupy pompy effluksowej, tj. Nor A, Nor B i Nor C, powoduje 4–8-krotny wzrost wartości MIC na fluorochinolony, z pewnym zróżnicowaniem dla poszczególnych preparatów. Transporter Nor A odpowiada za oporność na hydrofilne fluorochinolony, takie jak norfloksacyna i cyprofloksacyna, a Nor B i Nor C za oporność na fluorochinolony zarówno hydrofilne, jak i hydrofobowe, w tym moksyflokscynę [21, 22]. Oporność na moksyflokscynę jest dwukrotnie niższa niż na cyprofloksacynę, dlatego moksyflokscyna jest szczególnie zalecana w leczeniu zakażeń gronkowcowych.

Oporność na fluorochinolony wśród szczepów szpitalnych gronkowca złocistego dotyczy najczęściej szczepów jednocześnie opornych na metycylinę.

Oporność pałeczek Gram-ujemnych na fluorochinolony

Wśród pałeczek Gram-ujemnych obserwuje się drastyczne tendencje wzrostowe oporności na fluorochinolony. Leki te są bardzo szeroko stosowane w te-

rapii zakażeń bakteryjnych w warunkach szpitalnych oraz w zakażeniach układu moczowego i dróg oddechowych (POChP) w warunkach ambulatoryjnych [23]. Najważniejsze mechanizmy oporności pałeczek Gram-ujemnych są podobne jak w przypadku dwuinek i gronkowców i polegają na mutacjach miejsca docelowego działania, tj. gyrazy i topoizomerazy. Mniejsze znaczenie ma oporność determinowana ruchomymi elementami genetycznymi, czyli plazmidami (PMQR) [8]. Determinantem lekooporności plazmidowej u pałeczek Gram-ujemnych jest obecność genu *qnr S*, *qnr B* i *aac(6')-Ib-cr* [14]. Oporność plazmidowa odpowiada za niski stopień lekooporności i dopiero w połączeniu z mutacją w genach gyrazy (QRDR) – za oporność istotną z punktu widzenia klinicznego [3]. Szczepy lekooporne rozwijają się w wyniku mutacji sekwencyjnej (wielostopniowej) w obydwu enzymach. Gyraza DNA i topoizomeraza IV są enzymami cytoplazmatycznymi i dotarcie fluorochinolonu do miejsca ich działania wymaga u bakterii Gram-ujemnych pokonania dodatkowej bariery, jaką jest ściana komórkowa. Efektem mutacji prowadzącej do zaburzenia przepuszczalności ściany komórkowej jest zmniejszanie stężenia leku w cytoplazmie komórki. Transport antybiotyku do wnętrza komórki (przepuszczalność) odbywa się przy udziale białek tworzących kanały porynowe osłony zewnętrznej. Mutacje w genach regulatorowych sterujących syntezą białek porynowych mogą prowadzić do zmniejszenia ich liczby, całkowitego ich zamknięcia lub zmian morfologicznych, co wiąże się ze zróżnicowaną opornością na poszczególne preparaty fluorochinolonów [24].

Zmniejszenie stężenia leku może być też spowodowane jego usuwaniem przy udziale białek transportowych tworzących opisany wcześniej system pompy effluksowej.

Białka transportowe tworzące system pompy effluksowej tworzą rodzinę określoną mianem RND (*resistance nodulation division*) zawierającą trójskładowe struktury, tj. białka umieszczone w błonie protoplazmatycznej, które bezpośrednio przylegają do protoplazmy komórki, dalej białka tworzące kanały w osłonie zewnętrznej komórki (*cell envelope*) – OmpF, OmpC, oraz białka fuzyjne błony komórkowej. Ta trójskładowa struktura umożliwia usunięcie fluorochinolonu z wnętrza komórki zarówno przez błonę protoplazmatyczną, jak i osłonę komórkową na zewnątrz (eksport). W ten sposób pozbawiona leku komórka bakteryjna pozostaje żywa. Zazwyczaj występowanie obydwu tych me-

chanizmów równocześnie powoduje lekooporność na fluorochinolony [10, 11, 24].

Najczęstszym patogenem odpowiedzialnym za zakażenia dróg moczowych u pacjentów leczonych ambulatoryjnie są pałeczki *Escherichia coli*. U tych bakterii najlepiej też poznano mechanizmy oporności związane z obecnością białek transportowych pompy effluksowej typu Acr Ab-Tol C oraz mutacje w genach determinujących syntezę białek porynowych OmpF i OmpC [25, 26].

W leczeniu zakażeń układu moczowego z fluorochinolonów nowej generacji stosowane są głównie cyprofloksacyna i lewofloksacyna. Ta ostatnia osiąga bardzo wysokie stężenia w moczu, zdecydowanie wyższe od cyprofloksacyny, co wpływa na jej lepszą skuteczność terapeutyczną i mniejsze ryzyko selekcji szczepów opornych. Warto jednak pamiętać, że niekontrolowane i często powtarzane cykle terapeutyczne z zastosowaniem nowych fluorochinolonów w lecznictwie otwartym są czynnikiem selekcyjnym mutanty lekooporne. Oporność na fluorochinolony w izolatach szpitalnych jest znacznie częstsza i zwykle jest sprzężona z opornością na inne antybiotyki, np. beta-laktamy czy aminoglikozydy. Szczepy szpitalne *E. coli* oporne na obydwie grupy leków przeciwbakteryjnych szerzą się klonalnie, co wykazano w przypadku zakażeń układu moczowego i klonu *E. coli* ST131 opornego na beta-laktamy i fluorochinolony. Odsetki szczepów opornych na fluorochinolony w szpitalu są bardzo wysokie i sięgają nawet 40–60%, w zależności od regionu i intensywności ich stosowania w terapii. Należy także przypomnieć, że obecność genów plazmidowych oporności na fluorochinolony (PMQR), tj. *qnr* i *aac(6')Ib-cr*, u pałeczek *E. coli* sprzyja mutacji w regionie QRDR i selekcji szczepów opornych na cyprofloksacynę i lewofloksacynę po zastosowaniu tych leków w terapii [27].

Szczepy szpitalne kolonizujące pacjentów hospitalizowanych po ich wypisaniu z oddziału przenoszone są do środowiska pozaszpitalnego, co powoduje, że coraz częściej w warunkach ambulatoryjnych notowane są także zakażenia szczepami wieloopornymi. Ograniczenie stosowania fluorochinolonów ma ogromne znaczenie w zmniejszeniu presji selekcji mutantów lekoopornych i powrocie do wrażliwości po zastosowaniu takiej strategii.

Podsumowanie

Opracowanie miało na celu przybliżenie czytelnikowi skomplikowanych mechanizmów, jakie uruchamiają bakterie, zwłaszcza pałeczki Gram-ujemne,

w walce o przetrwanie w niesprzyjającym środowisku, jakim jest obecność antybiotyku.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że w warunkach ambulatoryjnych stosowanie tzw. fluorochinolonów oddechowych w leczeniu zakażeń układu oddechowego nie powoduje gwałtownego wzrostu szczepów *Streptococcus pneumoniae* opornych na tę grupę leków, zwłaszcza moksyflokscynę, dlatego preferencyjnie lek ten jest zalecany w terapii zakażeń dróg oddechowych. Zjawisko to jednak wymaga systematycznego monitorowania.

W celu zmniejszenia ryzyka selekcji szczepów lekoopornych w leczeniu zakażeń układu moczowego należy unikać częstego powtarzania kolejnych cykli terapeutycznych lekiem lub lekami należącymi do tej samej grupy chemioterapeutyków lub antybiotyków.

Piśmiennictwo

- Correia S, Poeta P, Hébraud M i wsp. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? *J Med Microbiol* 2017; 66: 551-559.
- Bisacchi GS. Origins of the quinolone class of antibacterials: an expanded "Discovery Story". *J Med Chem* 2015; 58: 4874-4882.
- Hooper DC, Jacoby GA. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Ann N Y Acad Sci* 2015; 1354: 12-31.
- Ceysens PJ, Van Bambeke F, Mattheus W i wsp. Molecular analysis of rising fluoroquinolone resistance in Belgian non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates (1995–2014). *PLoS One* 2016; 11: e0154816.
- Sarma JB, Marshall B, Cleeve V i wsp. Effects of fluoroquinolone restriction (from 2007 to 2012) on resistance in Enterobacteriaceae: interrupted time-series analysis. *J Hosp Infect* 2015; 91: 68-73.
- Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010; 74: 417-433.
- Jacoby GA, Strahilevitz J, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance. *Microbiol Spectr* 2014; 2: 1-24.
- Rodríguez-Martínez JM, Cano ME, Velasco C i wsp. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J Infect Chemother* 2011; 17: 149-182.
- Redgrave LS, Sutton SB, Webber MA i wsp. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol* 2014; 22: 438-445.
- Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs* 2009; 69: 1555-1623.
- Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28: 337-418.
- Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA i wsp. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med* 2006; 12: 83-88.
- Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M i wsp. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase gyrA gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1271-1272.
- Seyedpour SM, Eftekhari F. Quinolone Susceptibility and Detection of qnr and aac(6')-Ib-cr Genes in Community Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7: e11136.
- Orr D, Wilkinson P, Moyce L i wsp. Incidence and epidemiology of levofloxacin resistance in *Streptococcus pneumoniae*: experience from a tertiary referral hospital in England. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 449-452.
- Schmitz J, van der Linden M, Al-Lahham A i wsp. Fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Germany from 2004-2005 to 2014-2015. *Int J Med Microbiol* 2017; 307: 216-222.
- Pletz MW, Fugit RV, McGee L i wsp. Fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1462-1463.
- Baylay AJ, Piddock LJ. Clinically relevant fluoroquinolone resistance due to constitutive overexpression of the PatAB ABC transporter in *Streptococcus pneumoniae* is conferred by disruption of a transcriptional attenuator. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70: 670-679.
- Kang CI, Song JH, Kim SH i wsp. Risk factors for levofloxacin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* in community-acquired pneumococcal pneumonia: a nested case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 55-59.
- Fournier B, Zhao X, Lu T i wsp. Selective targeting of topoisomerase IV and DNA gyrase in *Staphylococcus aureus*: different patterns of quinolone-induced inhibition of DNA synthesis. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2160-2165.
- Yu JL, Grinius L, Hooper DC. NorA functions as a multidrug efflux protein in both cytoplasmic membrane vesicles and reconstituted proteoliposomes. *J Bacteriol* 2002; 184: 1370-1377.
- Truong-Bolduc QC, Strahilevitz J, Hooper DC. NorC, a new efflux pump regulated by MgrA of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1104-1107.
- Dalhoff A. Global fluoroquinolone resistance epidemiology and implications for clinical use. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2012; 2012: 976273.
- Grkovic S, Brown MH, Skurray RA. Regulation of bacterial drug export systems. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66: 671-701.
- Dasgupta N, Paul D, Dhar Chanda D i wsp. An insight into selection specificity of quinolone resistance determinants within Enterobacteriaceae family. *J Glob Antimicrob Resist* 2017; 10: 40-46.
- van der Starre WE, van Nieuwkoop C, Paltansing S i wsp. Risk factors for fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in adults with community-onset febrile urinary tract infection. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 650-656.
- Piekarska K, Wołkowicz T, Zacharczuk K i wsp. Coexistence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants and mutations in gyrA and parC among fluoroquinolone-resistant clinical Enterobacteriaceae isolated in a tertiary hospital in Warsaw, Poland. *Int J Antimicrob Agents* 2015; 45: 238-243.

Adres do korespondencji:

prof. Danuta Dzierżanowska
Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej
Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie
Al. Dzieci Polskich 20
04-730 Warszawa
e-mail: d.dzierzanowska@czd.pl