

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Maja BERTONCELJ

**OBČUTLJIVOST POVZROČITELJEV OKUŽB DIHAL  
OSAMLJENIH V MEDICINSKEM MIKROBIOLOŠKEM  
LABORATORIJU V OBDOBJU 2004-2006**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**SUSCEPTIBILITY OF RESPIRATORY TRACT PATHOGENES  
ISOLATED IN MEDICAL MICROBIOLOGICAL LABORATORY  
DURING 2004-2006**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija mikrobiologije. Opravljeno je bilo na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija univerzitetnega študija mikrobiologije je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Katjo Seme in za recenzentko doc. dr. Evo Ružić Sabljic.

Mentorica: prof. dr. Katja SEME

Recenzentka: doc. dr. Eva RUŽIĆ SABLJIĆ

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Darja ŽGUR BERTOK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Mentorica: prof. dr. Katja SEME  
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

Recenzentka: doc. dr. Eva RUŽIĆ SABLJIĆ  
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Maja Bertoncelj

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)

- ŠD Dn  
 DK UDK 579.61+579.24:615.33(043)=863  
 KG bakterijske okužbe dihal/ spremljanje odpornosti/ *Streptococcus pneumoniae*/ *Haemophilus influenzae*/ *Moraxella catarrhalis*/ *Streptococcus pyogenes*/ obdobje 2004-2006/ starostne skupine/ zgornja/ spodnja dihala/ Slovenija  
 AV BERTONCELJ, Maja  
 SA SEME, Katja (mentorica)/ RUŽIĆ SABLJIĆ, Eva (recenzentka)  
 KZ Si-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
 ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije  
 LI 2007  
 IN OBČUTLJIVOST POVZROČITELJEV OKUŽB DIHAL OSAMLJENIH V MEDICINSKEM MIKROBIOLOŠKEM LABORATORIJU V OBDOBJU 2004-2006  
 TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)  
 OP XIII, 62 str., 14 pregl., 30 sl., 12 pril., 54 vir.  
 IJ sl  
 JI sl/ en  
 AI *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* in *Streptococcus pyogenes* so med najpogostejšimi bakterijskimi povzročitelji okužb dihal. Pri vseh se odpornost proti nekaterim osnovnim antibiotikom, ki jih uporabljamo za zdravljenje okužb, relativno hitro širi. V naši raziskovalni nalogi smo primerjali občutljivost izolatov osamljenih iz dihal med letoma 2004 in 2006. Iskali smo tudi morebitne razlike v občutljivosti izolatov glede na starost bolnika (0-5, 6-18, 19-60, nad 60) in mesto osamitve (zgornja oziroma spodnja dihala). Vsi izolati bakterij, vključeni v raziskavo, so bili osamljeni iz dihal na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani. Njihovo občutljivost za izbrane antibiotike je bila določena z difuzijsko metodo na diskih že v rutinskih preiskavah. Izolati *S. pneumoniae* so bili testirani na eritromicin, klindamicin, moksifloksacin, penicilin, tetraciklin, trimetoprim s sulfometoksazolom in vankomicin. Izolati *H. influenzae* in *M. catarrhalis* so bili testirani na amoksicilin s klavulansko kislino, ampicilin, azitromicin, cefaklor, cefotaksim, cefuroksim, ciprofloksacin, klaritromicin, moksifloksacin, tetraciklin in trimetoprim s sulfometoksazolom. Pri izolati *S. pyogenes* pa so določali občutljivost na cefotaksim, eritromicin, klindamicin, penicilin in vankomicin. Za statistično primerjavo smo uporabili Pearsonovo  $\chi^2$  testno statistiko na kontingenčnih tabelah, rezultat pa smo potrdili s *p*-vrednostjo. Pri vseh bakterijah se med posameznimi antibiotiki pojavljajo statistično pomembne razlike. V splošnem odpornost ostaja enaka. Razlike med starostnimi skupinami bolnikov so običajno večje pri primerjavi številčno največje in najmanjše skupine. Delež občutljivih izolatov iz zgornjih dihal je običajno višji od deleža občutljivih izolatov iz spodnjih dihal.

### KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

ND Dn  
 DC UDC 579.61+579.24:615.33(043)=863  
 CX bacterial respiratory tract infections/ resistance to antibiotics/ *Streptococcus pneumoniae*/ *Haemophilus influenzae*/ *Moraxella catarrhalis*/ *Streptococcus pyogenes*/ period 2004-2006/ age groups/ upper/ lower respiratory tract/ Slovenia  
 AU BERTONCELJ, Maja  
 AA SEME, Katja (supervisor)/ RUŽIĆ SABLJIĆ, Eva (reviewer)  
 PP Si-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Interdepartmental Programme in Microbiology  
 PY 2007  
 TI SUSCEPTIBILITY OF RESPIRATORY TRACT PATHOGENES ISOLATED IN MEDICAL MICROBIOLOGICAL LABORATORY DURING 2004-2006  
 DT Graduation Thesis (University studies)  
 NO XIII, 62 p., 14 tab., 30 fig., 12 ann., 54 ref.  
 LA sl  
 AL sl/ en  
 AB *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pyogenes* are among the most common bacteria pathogens of respiratory tract infections. They have been known to develop resistance to common therapeutic options relatively rapidly. Our study compared the sensitivity of specimens isolated from respiratory organs between 2004 and 2006. We also searched for differences in sensibility of isolates between age groups (0-5; 6-18, 19-60, over 60) and place of isolation (upper or lower respiratory tract). All specimens of bacteria were isolated from respiratory tract and processed by Institute of Microbiology and Immunology of the Ljubljana Medical Faculty. For all isolates sensibility was determined by disk diffusion test in routine examinations. Isolates of *S. pneumoniae* were tested for resistance to erythromycin, clindamycin, moxifloxacin, penicillin, tetracyclin, trimethoprim/ sulfamethoxazol and vancomycin. Isolates of *H. influenzae* and *M. catarrhalis* were tested for resistance to amoxicilin and clavulanic acid, ampicillin, azitromycin, cefaclor, cefotaxime, cefuroxime, ciprofloxacin, claritromycin, moxifloxacin, tetracyclin and trimethoprim/ sulfametoxazol. Isolates of *S. pyogenes* were tested to cefotaxime, erythromycin, clindamycin, penicillin and vancomycin. Pearson's  $\chi^2$  test on contingency table and p-value were used for statistical analysis. Several significant differences between tested antibiotics were found. Generally resistance to most commonly used antibiotics stays the same. Differences in sensibility to antibiotics between age groups are noted between the numerous smallest and the biggest group. Isolates from upper respiratory tract are usually less resistant than isolates from lower respiratory tract.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)</b> .....	III
<b>KEY WORD DOCUMENTATION (KWD)</b> .....	IV
<b>KAZALO VSEBINE</b> .....	V
<b>KAZALO PREGLEDNIC</b> .....	VII
<b>KAZALO SLIK</b> .....	VIII
<b>KAZALO PRILOG</b> .....	X
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI</b> .....	XII
<b>1 UVOD</b> .....	1
1.1 NAMEN DELA.....	2
<b>2 PREGLED OBJAV</b> .....	4
2.1 BAKTERIJE, POVZROČITELJICE OKUŽB DIHAL.....	4
2.1.1 <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	6
2.1.2 <i>Haemophilus influenzae</i> .....	7
2.1.3 <i>Moraxella catarrhalis</i> .....	8
2.1.4 <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	8
2.2 ANTIBIOTIKI.....	9
2.2.1 Delovanje antibiotikov.....	9
2.2.1.1 Zaviralci sinteze celične stene.....	10
2.2.1.2 Inhibitorji sinteze beljakovin.....	11
2.2.1.3 Inhibitorji sinteze nukleinskih kislin.....	12
2.2.2 Pridobitev odpornosti proti antibiotikom.....	12
2.2.3 Mehanizmi odpornosti proti antibiotikom.....	13
2.2.3.1 Mehanizmi odpornosti bakterije <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	13
2.2.3.2 Mehanizmi odpornosti bakterije <i>Haemophilus influenzae</i> .....	16
2.2.3.3 Mehanizmi odpornosti bakterije <i>Moraxella catarrhalis</i> .....	18
2.2.3.4 Mehanizmi odpornosti bakterije <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	19
<b>3 MATERIALI IN METODE</b> .....	21
3.1 METODE.....	21
3.1.1 Zbiranje podatkov.....	21

<b>3.1.2 Kategorizacija podatkov</b> .....	21
<b>3.1.3 Statistična analiza</b> .....	22
<b>4 REZULTATI</b> .....	24
4.1 OBČUTLJIVOST IZOLATOV <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	24
4.2 OBČUTLJIVOST IZOLATOV <i>Haemophilus influenzae</i> .....	31
4.3 OBČUTLJIVOST IZOLATOV <i>Moraxella catarrhalis</i> .....	39
4.4 OBČUTLJIVOST IZOLATOV <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	45
<b>5 RAZPRAVA IN SKLEPI</b> .....	48
5.1 RAZPRAVA.....	48
<b>5.1.1 Občutljivost izolatov <i>Streptococcus pneumoniae</i> za antibiotike</b> .....	48
<b>5.1.2 Občutljivost izolatov <i>Haemophilus influenzae</i> za antibiotike</b> .....	50
<b>5.1.3 Občutljivost izolatov <i>Moraxella catarrhalis</i> za antibiotike</b> .....	52
<b>5.1.4 Občutljivost izolatov <i>Streptococcus pyogenes</i> za antibiotike</b> .....	53
5.2 SKLEPI.....	53
<b>6 POVZETEK</b> .....	55
<b>7 VIRI</b> .....	58

## KAZALO PREGLEDNIC

<b>Preglednica 1:</b> Bakterijski povzročitelji vnetja spodnjih dihal (Forbes in sod., 2002b; Čižman in Seme, 2004; Spudič in Furlan, 2004; Pokorn in Gros, 2004).....	4
<b>Preglednica 2:</b> Bakterijski povzročitelji okužb zgornjih dihal in srednjega ušesa (Forbes in sod., 2002c; Forbes in sod., 2002c; Čižman in Seme, 2004; Spudič in Furlan, 2004; Pokorn in Gros, 2004).....	5
<b>Preglednica 3:</b> Število in delež občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.....	24
<b>Preglednica 4:</b> Število in delež (%) občutljivih, nizko odpornih in visoko odpornih izolatov <i>S. pneumoniae</i> med leti 2004-2006 in glede na področje osamitve na IMI MF.....	25
<b>Preglednica 5:</b> Število in delež občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.....	26
<b>Preglednica 6:</b> Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> glede na področje osamitve na IMI MF.....	28
<b>Preglednica 7:</b> Število in delež občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.....	31
<b>Preglednica 8:</b> Število in delež občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.....	33
<b>Preglednica 9:</b> Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov bakterije <i>H. influenzae</i> glede na področje osamitve na IMI MF.....	35
<b>Preglednica 10:</b> Število in delež občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.....	40
<b>Preglednica 11:</b> Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> glede na starostno skupino na IMI MF.....	41
<b>Preglednica 12:</b> Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov bakterije <i>M. catarrhalis</i> glede na področje osamitve na IMI MF.....	43
<b>Preglednica 13:</b> Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>S. pyogenes</i> glede na leto osamitve na IMI MF.....	46
<b>Preglednica 14:</b> Število in delež občutljivih izolatov <i>S. pyogenes</i> za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.....	47

## KAZALO SLIK

<b>Slika 1:</b> Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> med leti 2004-2006 na IMI MF.....	25
<b>Slika 2:</b> Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> po starostnih skupinah na IMI MF.....	27
<b>Slika 3:</b> Pogostost pojavljanja za eritromicin občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	28
<b>Slika 4:</b> Pogostost pojavljanja za klindamicin občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	29
<b>Slika 5:</b> Pogostost pojavljanja za tetraciklin občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitven na IMI MF.....	29
<b>Slika 6:</b> Pogostost pojavljanja za trimetoprim s sulfometoksazolom občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	29
<b>Slika 7:</b> Pogostost pojavljanja za penicilin občutljivih izolatov <i>S. pneumoniae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	30
<b>Slika 8:</b> Pogostost pojavljanja proti penicilinu nizko odpornih izolatov <i>S. pneumoniae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	30
<b>Slika 9:</b> Pogostost pojavljanja proti penicilinu visoko odpornih izolatov <i>S. pneumoniae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	30
<b>Slika 10:</b> Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> med leti 2004-2006 na IMI MF.....	32
<b>Slika 11:</b> Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> po starostnih skupinah na IMI MF.....	34
<b>Slika 12:</b> Pogostost pojavljanja za amoksicilin s klavulansko kislino občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	36
<b>Slika 13:</b> Pogostost pojavljanja za ampicilin občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	36
<b>Slika 14:</b> Pogostost pojavljanja za azitromicin občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	36
<b>Slika 15:</b> Pogostost pojavljanja za cefaklor občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	37



<b>Slika 16:</b> Pogostost pojavljanja za cefotaksim občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	37
<b>Slika 17:</b> Pogostost pojavljanja za cefuroksim občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	37
<b>Slika 18:</b> Pogostost pojavljanja za ciprofloksacin občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	38
<b>Slika 19:</b> Pogostost pojavljanja za klaritromicin občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	38
<b>Slika 20:</b> Pogostost pojavljanja za tetraciklin občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	38
<b>Slika 21:</b> Pogostost pojavljanja za trimetoprim s sulfometoksazolom občutljivih izolatov <i>H. influenzae</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	39
<b>Slika 22:</b> Delež (%) zaposamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> med leti 2004-2006 na IMI MF.....	40
<b>Slika 23:</b> Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> po starostnih skupinah na IMI MF.....	42
<b>Slika 24:</b> Pogostost pojavljanja za ampicilin občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	44
<b>Slika 25:</b> Pogostost pojavljanja za cefaklor občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	44
<b>Slika 26:</b> Pogostost pojavljanja za ciprofloksacin občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	44
<b>Slika 27:</b> Pogostost pojavljanja za tetraciklin občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	45
<b>Slika 28:</b> Pogostost pojavljanja za trimetoprim s sulfometoksazolom občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.....	45
<b>Slika 29:</b> Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>S. pyogenes</i> med leti 2004-2006 na IMI MF.....	47
<b>Slika 30:</b> Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov <i>M. catarrhalis</i> po starostnih skupinah na IMI MF.....	47

## KAZALO PRILOG

**Priloga A:**  $\chi^2$ -porazdelitve (Košmelj, 2001: 208)

**Priloga B1:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Streptococcus pneumoniae* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga B2:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Streptococcus pneumoniae* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga B3:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Streptococcus pneumoniae* za posamezne antibiotike glede na mesto osamitve. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga C1:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Haemophilus influenzae* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga C2:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Haemophilus influenzae* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga C3:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Haemophilus influenzae* za posamezne antibiotike glede na mesto osamitve. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga D1:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Moraxella catarrhalis* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga D2:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Moraxella catarrhalis* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino. Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga D3:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Moraxella catarrhalis* za posamezne antibiotike in glede na mesto osamitve.

Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga E1:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Streptococcus pyogenes* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve. Pri

tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

**Priloga E2:** Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Streptococcus pyogenes* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino.

Pri tem je  $SP = 1$ ,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

BLNAR.....	β-laktamaza negativni proti ampicilinu odporni sevi (angl. β-lactamase negative, ampicillin resistant)
BLNAS.....	β-laktamaza negativni proti ampicilin občutljivi sevi (angl. β-lactamase negative, ampicillin sensitive)
BLPACR.....	β-laktamaza pozitivni za ampicilin in klavulansko kislino odporni sevi (angl. β-lactamase positive, ampicillin clavunate resistant)
BLPAR.....	β-laktamaza pozitivni proti ampicilinu odporni sevi (angl. β-lactamase positive, ampicillin resistant)
C.....	Citozin
CAT.....	Kloramfenikolacetil transferaza (angl. chloramphenicolacetyl transferase)
CLSI.....	Clinical and Laboratory Standards Institute
cMLS <sub>B</sub> .....	Sevi z konstitutivnim tipom odpornosti proti makrolidom, linkozamidu in streptograminu B (angl. constitutitive)
DHPS.....	Dihidropteorat sintaza
DNK.....	Deoksiribonukleinska kislina
EF.....	Elongacijski faktor
G.....	Gvanin
GTP.....	Gvanozin trifosfat
I.....	Delna odpornost (angl. intermediate resistance)
IgA.....	Imunoglobulini razreda A
IMI MF.....	Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani
iMLS <sub>B</sub> .....	Sevi z inducibilnim tipom odpornosti proti makrolidom, linkozamidu in streptograminu B (angl. inducible MLS <sub>B</sub> )
MIK.....	Minimalna inhibitorna koncentracija antibiotika

MKLS <sub>B</sub> .....	Proti eritromicinu, klindamicinu, linkozamidu in streptograminu B odporni sevi
ML.....	Proti makrolidom in linkozamidu odporni sevi
MLS <sub>B</sub> .....	Proti makrolidom, linkozamidu in streptograminu B odporni sevi
mRNK.....	Sporočilna ribonukleinska kislina (angl. messenger RNA)
MS.....	Proti makrolidom in streptograminom odporni sevi
MS <sub>b</sub> .....	Proti makrolidom in streptograminu B odporni sevi
PBP .....	Penicilin vezavno mesto (angl. penicillin binding protein)
PRSP.....	Proti penicilinu odporni izolati <i>S. pneumoniae</i> (angl. penicillin resistant <i>S. pneumoniae</i> )
PSSP.....	Za penicilin občutljivi izolati <i>S. pneumoniae</i> (angl. penicillin sensitive <i>S. pneumoniae</i> )
R.....	Odpornost (angl. resistance)
RNK.....	Ribonukleinska kislina
rRNK.....	Ribosomska ribonukleinska kislina
S.....	Občutljivost (angl. sensitivity)
tRNK.....	Prenašalna ribonukleinska kislina (angl. transporter RNA)
ZDA.....	Združene države Amerike

## 1 UVOD

Okužbe dihal spadajo med najpogostejša obolenja v vseh starostnih skupinah. Glede na področje, ki je prizadeto jih lahko razdelimo na okužbe zgornjih in spodnjih dihal. Okužbe zgornjih dihal pogosteje povzročajo virusi, okužbe spodnjih dihal pa večinoma bakterije. Med najpogostejše bakterijske povzročitelje okužb dihal uvrščamo *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* in *Moraxella catarrhalis*, ki povzročajo predvsem akutno vnetje srednjega ušesa in obnosnih votlin, pljučnico ter poslabšanje kronične obstruktivne pljučne bolezni, medtem ko je *Streptococcus pyogenes* najpogostejši bakterijski povzročitelj akutnega vnetja žrela. Pri vseh naštetih bakterijah se pojavlja in širi odpornost proti različnim antibiotikom, kar predstavlja tudi temeljni problem pri zdravljenju bakterijskih okužb dihal (Beekmann in sod., 2005).

Najpogosteje uporabljeni antibiotiki za zdravljenje okužbe dihal v večini držav Zahodne Evrope in Severne Amerike so  $\beta$  laktamski antibiotiki in makrolidi.

V preteklem desetletju je bilo jasno dokazano, da povečana in enolična poraba določenih antibiotikov lahko povzroči relativno hiter razvoj odpornosti pri teh bakterijah. Pri *S. pneumoniae* je problematično naraščanje odpornosti proti penicilinu in makrolidom, zdravljenje okužb s tovrstnimi sevi pa močno otežuje tudi pojav odpornosti proti širokospektralnim cefalosporinom in kinolom (Jacobs, 2003; Seme in Mueller-Premru, 2003, Hryniewicz, 2005, Sadowy in sod., 2007). Pri *H. influenzae* in *M. catarrhalis* je v ospredju tvorba  $\beta$ -laktamaz, ki povzročajo odpornost proti ampicilinu in amoksicilinu (Beekmann in sod., 2005; Doern in sod., 1999; Zhanel in sod., 2003). Pri *S. pyogenes* narašča odpornost predvsem proti makrolidom. Raziskave kažejo, da se frekvenca odpornosti povečuje iz leta v leto (Richter in sod., 2005; Grivea in sod., 2006).

Tudi v Sloveniji so ob stalnem naraščanju porabe kritičnih antibiotikov opazili naraščanje deleža odpornih sevov bakterij, ki povzročajo okužbo dihal. Povečana poraba antibiotikov v splošni populaciji vpliva na selekcijo odpornih sevov. Ugotavljanje razširjenosti klinično pomembnih izolatov odpornih proti pogosto uporabljenim antibiotikom pa lahko prispeva

k njihovi ustrežnejši uporabi (Seme in Mueller-Premru, 2003; Ribič in sod., 2005; Seme in sod., 2006).

## 1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je bil ugotoviti kakšna je občutljivost izolatov *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* in *S. pyogenes*, ki so bili osamljeni iz dihal na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani v triletnem obdobju, od 2004 do 2006. Pri tem smo uporabili 1643 izolatov *S. pneumoniae*, 1092 izolatov *H. influenzae*, 752 *M. catarrhalis* in 669 *S. pyogenes*. Statistično smo želeli ovrednotiti morebitne spremembe v občutljivosti zgoraj naštetih bakterij proti antibiotikom in primerjati občutljivost izolatov osamljenih iz zgornjih in spodnjih dihal, ter izolatov osamljenih pri posameznih starostnih skupinah bolnikov.

Predvidevali smo, da bo zaradi večjih selekcijskih pritiskov, višji delež odpornih izolatov proti antibiotikom prvega izbora. Za zdravljenje bakterijskih okužb dihal se najpogosteje uporabljajo  $\beta$ -laktami in makrolidi (Lejko-Zupanc in sod., 2006). Tetraciklini, kinolononi, glikopeptidi in kombinacija sulfonamidov s trimetoprimom so antibiotiki drugega izbora, pri njih smo pričakovali nižji delež odpornih izolatov. Predvidevali smo, da so deleži odpornih bakterij *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* in *S. pyogenes*, izoliranih na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani (IMI MF), proti testiranim antibiotikom primerljivi evropskemu in svetovnemu povprečju odpornih bakterij. Pričakovali smo, da bodo izolati iz zgornjih dihal občutljivejši od izolatov iz spodnjih dihal (Jacobs, 2003). Menimo, da je temu tako, ker se pri okužbi spodnjih dihal lečeči zdravnik pogosteje odloči za takojšnje zdravljenje z antibiotiki, saj je takšna okužba resnejša. Ti sevi so verjetno tudi invazivnejši, hkrati pa jih izpostavljamo večjim selekcijskim pritiskom. Razvoj odpornosti je tako verjetno hitrejši. Prav tako so rizična starostna skupina za okužbo z odpornimi sevi predšolski otroci (<24 mesecev) (Jacobs, 2003). Imunološko so ti otroci še neizkušeni, prav tako v tej starosti prihajajo v stik s širšo populacijo (v vrtcih in jaslih), tudi medsebojni stiki so tesnejši. Okužbe so tako pogostejše, verjetno pa se zdravniki pri okužbah predšolskih otrok hitreje odločajo za antibiotično zdravljenje (bolnik še ne zna povedati kaj je narobe). Pričakujemo, da bodo

vsi izolati *S. pneumoniae* občutljivi za vankomicin. Izolati *H. influenzae* pričakujemo, da bodo 100 % občutljivi za moksifloksacin, prav tako izolati *M. catarrhalis*. V svetu še niso poročali o pojavu odpornih izolatov *S. pyogenes* proti cefotaksimu, penicilinu in vankomicinu. To pričakujemo tudi v naši raziskavi.



## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 BAKTERIJE, KI POVZROČAJO OKUŽBE DIHAL

Dihalna pot je poleg prebavne glavna povezava med notranjostjo telesa in okoljem. Iz zgornjih dihal zdravega človeka je mogoče osamiti številne bakterije, ki so del normalne flore, ali take, ki pod določenimi pogoji lahko povzročajo bolezni (npr. po virusni okužbi ali oslABLjeni imunosti). Nekateri organizmi v vsakem primeru povzročajo bolezni, ker imajo virulentne faktorje, ki se izrazijo v vsakem gostitelju (Ihan, 2002). Preglednici 1 in 2 prikazujeta bakterijske povzročitelje (Forbes in sod., 2002b; Forbes in sod., 2002c; Forbes in sod., 2002d; Čižman in Seme, 2004; Spudič in Lotrič-Furlan, 2004; Pokorn in Gros, 2004).

**Preglednica 1.** Bakterijski povzročitelji vnetja spodnjih dihal (Forbes in sod., 2002b; Čižman in Seme, 2004; Spudič in Lotrič-Furlan, 2004; Pokorn in Gros, 2004)

okužba	povzročitelji
bronhitis akutni	<i>Bordetella pertussis</i> , <i>B. parapertussis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> .
kronični	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> .
pljučnica novorojenčki otroci	<i>Chlamydia trachomatis</i> . <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .
mladi odrasli (< 30 let)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> .
odrasli	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .

**Preglednica 2.** Bakterijski povzročitelji okužb zgornjih dihal in srednjega ušesa (Forbes in sod., 2002c; Forbes in sod., 2002d; Čižman in Seme, 2004; Spudič in Furlan, 2004; Pokorn in Gros, 2004)

<b>okužba</b>	<b>povzročitelji</b>
vnetje žrela	<i>Streptococcus pyogenes</i> , β hemolitični streptokoki skupine C in G ( <i>S. anginosus</i> , <i>S. equi</i> , <i>S. disgalactiae</i> ), <i>Corynebacterium haemolyticum</i> , <i>C. ulcerans</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Bordetella pertussis</i> .
krup	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> .
vnetje poklopca	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .
Vincentova angina	anaerobi, predvsem <i>Fusobacterium necrophorum</i> .
periotonsilarni abscesi	<i>Fusobacterium</i> spp., <i>Bacteroides fragilis</i> , anaerobni koki.
davica	<i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> , <i>K. ozaenae</i> .
vnetje obnosnih votlin akutno	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> .
kronično	<i>Bacteroides</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
vnetje srednjega ušesa	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .

### 2.1.1 *Streptococcus pneumoniae*

Pred več kot sto leti sta Pasteur in Steinberg izolirala bakterijo *S. pneumoniae*, ki jo po Bergeyevem priročniku uvrščamo v po Gramu pozitivno deblo in sicer med nesporulirajoče mlečnokislinske bakterije z nizko vsebnostjo GC nukleotidnih parov. Od takrat je bilo opravljenih veliko raziskav, ki so omogočile boljše razumevanje molekularne genetike, protimikrobne odpornosti in razvoj cepiva proti okužbam s to bakterijo, kljub temu pa ta ostaja ena vodilnih vzrokov obolevanja in smrtnosti ljudi po vsem svetu (Murray in sod., 2002a).

*S. pneumoniae* je po Gramu pozitiven kok, ki je lahko obdan s kapsulo, velikosti 0,5 do 1,2  $\mu\text{m}$ . Običajno se pojavlja v parih oziroma kratkih verižicah. Če jo inkubiramo v aerobnih pogojih na krvnem agarju tvori  $\alpha$  hemolizo, ki je posledica produkcije pneumolizina (Murray in sod., 2002a).

*S. pneumoniae* je fakultativno anaerobna bakterija (raste ob 5 % do 10 %  $\text{CO}_2$ ). Prehransko je nekoliko zahtevnejša, saj raste le na obogatenih gojiščih z dodatkom krvi. V aerobnih pogojih pridobiva energijo z respiratornim metabolizmom, v anaerobnih pa s fermentativnim metabolizmom. Pri fermentaciji ogljikovih hidratov nastaja kot primarni stranski produkt mlečna kislina. Kot drugi streptokoki nima katalaze, zato akumulira vodikov peroksid na gojiščih, kjer ni zunanega vira katalaze (čokoladni agar). To upočasnjuje rast (Forbes in sod., 2002a).

Bakterija *S. pneumoniae* je del normalne mikrobne flore nosnožrelene sluznice pri približno 15 % otrok in 5 % odraslih (Ihan, 2002), oziroma je incidenca prenašalcev med 5 % in 75 % (Murray in sod., 2002a). V zunanjem okolju pnevmokok hitro propade. Do razvoja bolezni pride, ko bakterije kolonizirajo bolj oddaljena tkiva, npr. pljuča (pljučnica), obnosne votline (sinuzitis), srednje uho (otitis media) ali možganske ovojnice (meningitis). Ob hudih okužbah lahko pride do bakteriemije in sepse. Forbes in sodelavci (2002b) poročajo, da doma pridobljeno pljučnico v 80 % pri odraslih povzroča *S. pneumoniae*. Medtem ko pri otrocih v 38 % povzroča vnetje srednjega ušesa (Pokorn in Gros, 2004), oziroma v 35 % akutno vnetje obnosnih votlin (Čižman in Seme, 2004). Do bakteriemije

pride v 25 % do 30 % primerov bolnikov z pnevmokokno pljučnico in v več kot 80 % bolnikov z meningitisom (Murray in sod., 2002a). *S. pneumoniae* sintetizira virulentne dejavnike, ki ob znižani odpornosti gostitelja omogočajo uspešno kolonizacijo, vdor in poškodbe. Mednje v prvi vrsti sodi polisaharidna kapsula, ki je omogočila tudi serološko klasifikacijo sevov. Do sedaj je poznanih 90 serotipov. Deluje antifagocitno. Prečiščena oblika kapsule se uporablja za cepivo. (Murray in sod., 2002a). Kolonizacijo omogočajo površinski proteini – adhezini, migracijo v spodnji respiratorni trakt pa sekretorna IgA proteaza (prepreči vezavo IgA na površino bakterije) in pneumolizin, ki je citolizin in dela pore v membrani gostiteljevih celic (Murray in sod., 2002a). Značilnost pnevmokokne okužbe je mobilizacija vnetnih celic na mesto okužbe. Pri tem pride do poškodbe tkiv. Glavne komponente teh reakcij so teihoična kislina, peptidoglikanski fragmenti in pneumolizin. Tkivo poškoduje tudi ogljikov peroksid, ki ga tvori bakterija. Fosfoholin omogoča vstop bakteriji v gostiteljske celice, kjer je zaščitena pred opsonizacijo in fagocitozo. Poleg tega so za uspešno okužbo pomembni še drugi dejavniki kot je naravna kompetenca, pri kateri prihaja do horizontalnega prenosa DNK med celicami *S. pneumoniae*, ki zagotavlja variabilnost in odpornost proti različnim antibiotikom (Jones in sod., 2002).

### 2.1.2 *Haemophilus influenzae*

*H. influenzae* je odkril R.F. Pfeiffer leta 1892. Spada v družino *Pasteurellaceae* in je eden pogostejših humanih patogenov (Murray in sod., 2002b).

*Haemophilus* je majhen, včasih pleomorfen, po Gramu negativen bacil. Ne tvori spore in je negibljiv. Je obvezni parazit, ki ga najdemo predvsem na sluznicah ljudi in živali. Zaradi tega je njegovo gojenje zahtevnejše. V gojišče je potrebno dodajati faktorje, ki pospešujejo rast, kot so hemin (faktor X) in nikotinamidadenin dinukleotid (faktor V). Faktor V se v sveži krvi razgradi, zato *H. influenzae* uspešno raste le na čokoladnem agarju oziroma krvnem z dodatkom kulture *Staphylococcus aureus*, ki je vir faktorja V. Določeni sevi tvorijo polisaharidno kapsulo. *H. influenzae* razdelimo še na manjše skupine, glede na:

- serotip a do f (tvorba kapsule),
- biotip I do VIII (biokemične značilnosti),

- bioskupino (Murray in sod., 2002b).

Nekapsuliran *H. influenzae* kolonizira skoraj vse ljudi v prvih mesecih življenja. Ti organizmi se lahko širijo lokalno in povzročajo v 25 % vnetje ušes ali sinusov (Čižman in Seme, 2004). Vnetje poklopca v 90 % povzroča *H. influenzae* tipa B, pri tem so ogrožena skupina predvsem otroci med 2. in 6. letom starosti (Čižman in Seme, 2004). Povzročča lahko tudi celulitis in okužbe spodnjih dihal kot sta bronhitis in pljučnica. Lahko pa se širi po krvi in povzroča okužbe možganskih ovojnic (pri otrocih do 4. leta), septikemijo in septični artritis. Poglavitni virulenčni mehanizem je verjetno vnetna reakcija, ki jo povzroči lipopolisaharid z endotoksinskim delovanjem v celični steni (Pokorn in Gros, 2004).

### 2.1.3 *Moraxella catarrhalis*

*M. catarrhalis* po Bergeyevem priročniku uvrščamo med proteobakterije in nadaljnje v δ oddelek. Je po Gramu negativen, aeroben diplokok. Ta bakterija ni sposobna fermentirati ogljikovih hidratov. Tvori oksidazo in katalazo, ter deoksiribonukleazo, ki je eden pomembnejših virulenčnih dejavnikov. Ima tudi piluse, ki ji omogočajo pritrditev na površino sluznice (Madigan in sod., 2003b).

Je del normalne bakterijske flore nazofarinksa, vendar se v ugodnih razmerah lahko razširi v spodnja dihala, srednje uho in na očesno veznico. Povzročča bronhitis, pljučnico, v 15 % vnetje obnosnih votlin (Čižman in Seme, 2004), vnetje srednjega ušesa pri otrocih do 10 % (Pokorn in Gros, 2004) in očesne veznice. Prenos okužbe je pretežno kapljičen.

### 2.1.4 *Streptococcus pyogenes*

*S. pyogenes* je pomemben vzrok razvoja gnojnih in negojnih vnetij. Kljub temu, da je najpogostejši bakterijski povzročitelj vnetja žrela, lahko povzročča tudi resna življenjsko nevarna obolenja (Murray in sod., 2002a).

*S. pyogenes* je po Gramu pozitiven kok, velikosti 0,5 do 1,0  $\mu\text{m}$ , ki na trdnih gojiščih tvori krajše oz. v tekočih gojiščih daljše verižice. Rast je optimalna na obogatenem krvnem agarju z majhnimi koncentracijami glukoze. Na njem tvori  $\beta$ -hemolizo. Po Lancefildovi ga uvrščamo v skupino A. Tudi *S. pyogenes* je fakultativni anaerob, z negativno katalazo. Pomembna diagnostična posebnost je, da so občutljivi na bacitracin (Murray in sod., 2002a).

Za okužbo so najbolj dovzetni otroci med 3. in 10. letom. Vir okužbe pa so običajno klicenosci. Po nekaterih ocenah jih je med 15 % in 20 %, vendar so ti podatki lahko zavajajoči. Potrebne so namreč visoko selektivne kultivacijske tehnike, da zaznamo majhne količine *S. pyogenes* v orofaringealnih izločkih, poleg tega se poleg *S. pyogenes* v žrelu pojavlja še en streptokok skupine A (*S. anginosus*), ki ne povzroča faringitisa (Murray in sod., 2002a). Virulenca *S. pyogenes* je odvisna od sposobnost, da se pripne na površino gostiteljske celice, pri tem se mora biti bakterija sposobna izogniti opsonizaciji in fagocitozi, ter proizvesti številne toksine ter encime. Vse to ji omogočajo številni virulenci dejavniki, od kapsule, lipoteihojske kisline, beljakovin M, M-podobni ter F beljakovini in tvorba pirogenih ekosoksinov, streptolizina S in O, streptokinaz, DNaz in C5a peptidaz (Murray in sod., 2002a). Pri tem povzroča gnojno vnetje žrela, škrlatinko, impetigo, šen, celulitis, nekrozantni fasciitis, endokarditis in sindrom toksičnega šoka. Pomembna sta tudi dva pozna zapleta okužbe, revmatična vročica in akutni glomerulonefritis (Čižman in Seme, 2004). Pri okužbi dihal se *S. pyogenes* praviloma ne širi na spodnja dihalna. Pri otrocih povzroča faringitis v 15 % do 35 %, medtem ko je pri odraslih ta okužba redkejša (5 % - 10 %). V isti starostni skupini lahko povzroča tudi vnetje srednjega ušesa (3 %) ali obnosnih votlin (< 3 %) (Čižman in Seme, 2004; Pokorn in Gros, 2004).

## 2.2 ANTIBIOTIKI

### 2.2.1 Delovanje antibiotikov

Antibiotiki so nizkomolekularne kemijske snovi, ki s svojim delovanjem uničujejo mikroorganizme (delujejo bakteriocidno) ali pa zavirajo njihovo rast (delujejo

bakteriostatično). Normalno delovanje bakterije antibiotiki preprečujejo bodisi z delovanjem na celično steno, citoplazemsko membrano, biosintezo proteinov ali biosintezo nukleinskih kislin (Madigan in sod., 2000).

Antibiotiki so sekundarni metaboliti mikroorganizmov in delujejo proti drugim mikroorganizmom že v nizkih koncentracijah. Največ mikroorganizmov, ki proizvajajo antibiotsko aktivne snovi najdemo med aktinomicetami, natančneje med streptomicetami in v rodu *Bacillus* (Kotnik, 2002).

#### 2.2.1.1 Zaviralci sinteze celične stene

##### **$\beta$ -laktamski antibiotiki**

Med  $\beta$ -laktamske antibiotike uvrščamo peniciline, cefalosporine, monobaktame in karbapeneme. Vsi preprečujejo nastanek celične stene. Po stopnjah to poteka tako:

1. Vezava antibiotika na penicilin vezavno mesto (PBP), ki služi kot receptor na bakteriji.
2. Inhibicija sinteze celične stene s pomočjo blokade transpeptidacije peptidoglikanov.
3. Aktivacija encimov v celični steni bakterije, kar končno povzroči njeno smrt.

Penicilini so najbolj razširjena skupina antibiotikov, ki so se razvili iz primarnega penicilina G. Ta je bil izoliran iz kulture plesni *Penicillium notatum* (Kotnik, 2002). Delimo jih na naravne peniciline (penicilin G in V), proti penicilnazam odporne peniciline (meticilin, oksacilin) in peniciline s širokim spektrom delovanja, ki jih razdelimo na aminopeniciline (amoksicilin, ampicilin), karboksipeniciline (karbamicilin) in ureidopeniciline (piperacidin). Uporabljajo se tudi kombinacije aminopenicilinov in  $\beta$ -laktamaznih inhibitorjev, npr. amoksicilin / klavulanska kislina. Njihova slaba stran je, da povzročajo od vseh antibiotikov največ alergij in so toksični, saj dražijo centralni živčni sistem in povečujejo razdražljivost nevronov (Murray in sod., 2002c; Kotnik, 2002).

Cefalosporini so polysintetični derivati 7-aminocefalosporinske kisline, ki je bila izolirana iz plesni rodu *Cephalosporium*. Delimo jih v štiri generacije, od prve do četrte se je širil

njihov spekter delovanja proti Gram negativnim mikroorganizmom, povečevala njihova aktivnost proti anaerobom, zmanjšala učinkovitost proti po Gramu pozitivnim mikrobom in povečala učinkovitost proti odpornim bakterijam. Pri delu smo se srečevali z cefalosporini II. (cefaklor, cefuroksim) in III. (cefotaksim) generacije (Murray in sod., 2002c).

### **Glikopeptidi**

Motijo sintezo peptidoglikana v celični steni tako, da reagirajo z D-alanin-D-alanin terminalnimi konci pentapeptidnih stranskih verig. To vpliva na formacijo povezovalnih mostičkov med peptidoglikanskimi verigami. Najznačilnejši predstavnik je vankomicin, ki so ga najprej pridobili iz *Streptomyces orientalis* (Murray in sod., 2002c).

#### 2.2.1.2 Inhibitorji sinteze beljakovin

### **Makrolidi**

Makrolidi so bakteriostatični antibiotiki z širokim spektrom delovanja. Delujejo tako, da se reverzibilno vežejo na 50S podenoto ribosoma, natančneje 23S, kar blokira podaljševanje polipeptida. Predstavniki so eritromicin, azitromicin in klaritromicin. Slednja dva dobro prodirata v makrofage in nevtrofilce (Murray in sod., 2002c).

### **Piranozidni antibiotiki-linkozamidi**

Po delovanju so podobni makrolidom, saj inhibirajo peptidil transferazo tako, da onemogočijo njeno vezavo v kompleks z aminoacil-tRNK. Aktivno jih sprejemajo makrofagi in polimorfonuklearci. Najznačilnejši predstavnik je klindamicin (Kotnik, 2002).

### **Tetraciklini**

Tetraciklini so širokospektralni bakteriostatični antibiotiki. So derivati naftacena, ki ima štiri obroče. Izolirani so iz kultur streptomicet. Delujejo tako, da z vezavo na podenoto 30S ribosoma preprečijo vezavo aminoacil-tRNK na akceptorsko mesto ribosoma, ter tako preprečijo sintezo proteinov (Charpentier in Tuomanen, 2000).



### 2.2.1.3 Inhibitorji sinteze nukleinskih kislin

#### **Kinoloni**

Kinoloni so sintetični kemoterapevtiki z baktericidnim delovanjem. V bakterijski celici inhibirajo DNK girazo (vezava na  $\alpha$  podenoto) ali topoizomerozo IV, ki sta potrebni za DNK podvojevanje, rekombinacijo in za odpravljanje napak (Murray in sod., 2002c). Poznamo tri generacije glede na spekter delovanja. Pri diplomskem delu smo se srečevali s fluorokinoloni, ki spadajo v II. (ciprofloksacin) oz. III. (moksifloksacin) generacijo.

#### **Sulfonamidi**

So antimetaboliki, ki s para-aminobenzojsko kislino tekmujejo za ista vezišča na dihidropteorat-sintetazi. Posledica je preprečena produkcija dihidropteorata in s tem tudi sinteza DNK (Charpentier in Tuomanen, 2000). Prokariotske celice sintetizirajo tetrahidrofolno kislino same, zato je vgraditev neučinkovitega ekvivalenta para-aminobenzojske kisline za njih toksična. Za evkariotske celice sulfonamidi niso toksični, ker te ne morejo tvoriti lastne folne kisline in so vezane na zunanje vire že pripravljene folne kisline (Kotnik, 2001). Največkrat uporabljen predstavnik je sulfometoksazol.

#### **Trimetoprim**

Trimetoprim je antibiotik z bakteriostatičnim učinkom (Huovinen in sod., 1995), je antimetabolik. Spada v skupino diaminopirimidinov in je analog tetrahidrofolni kislini. Selektivno inhibira bakterijsko dihidrofolat-reduktazo, ki je potrebna za redukcijo dihidrofolata v tetrahidrofolat (Adrian in sod., 1998). Uporablja se sinergistično z sulfometoksazolom (kombinacija imenovana kotrimoksazol), saj blokirata metabolizem folne kisline na različnih stopnjah in tako delujeta širokospektralno.

### 2.2.2 Pridobitev odpornost proti antibiotikom

Odpornost proti antibiotikom je pomemben dejavnik, ki bakterijam omogoča selektivno prednost v okolju. Rodovi in vrste bakterij so lahko naravno odporni proti določenim antibiotikom zaradi svojih fizioloških posebnosti. Posamezni izolati pa lahko odpornost pridobijo preko spontanah mutacij kromosomske DNK ali odpornost proti antibiotikom

dosežejo s horizontalnim prenosom genov, ki posredujejo odpornost. Zapis za odpornost imajo plazmidi, transpozoni in integroni, lahko pa pridobijo odpornost z rekombinacijo tuje DNK v kromosom, ali z mutacijami v različnih kromosomskih lokusih (Martinez in Baquero, 2000).

Vzroki za naraščanje prevalence odpornih bakterij, ki je dobila svetovne razsežnosti (Schito 2002) so mnogoštevilni in kompleksni. Zaradi izboljšane zdravstvene preskrbljenosti narašča število imunokompromitiranih bolnikov, narašča tudi število starostnikov in pogostost potovanj po celem svetu. Preveč se uporablja široko spektralne antibiotike in antibiotike slabše kakovosti (predvsem v Aziji). Bolniki ne upoštevajo doze in časa jemanja antibiotikov oz. jih jemljejo na lastno pest. Nekatero zdravstveno osebje slabo pozna delovanje antibiotikov, oz. jih nepravilno predpisuje (za zdravljenje virusnih okužb). Pomanjkljivo se spremlja tudi gibanje odpornosti med bakterijami. Istočasno pa se antibiotiki neracionalno uporabljajo v živilsko prehranjevalni verigi za profilaktične namene oz. pospeševanje rasti (Madigan in sod., 2003a).

Vse to vodi k nevarno velikemu številu bakterijskih izolatov odpornih proti več antibiotikom hkrati in onemogoča zdravljenje.

### **2.2.3 Mehanizmi odpornosti proti antibiotikom**

Pri bakterijah so se razvili številni mehanizmi odpornosti proti antibiotikom, ki jih lahko razdelimo v naslednje skupine: sinteza encima, ki razgradi ali inaktivira antibiotik; spremenjena tarča, na katero deluje antibiotik; spremenjena propustnost membrane in črpanje antibiotika iz celice (Denver in Dermody, 1991; Madigan in sod., 2002a).

#### **2.2.3.1 Mehanizmi odpornosti bakterije *Streptococcus pneumoniae***

*S. pneumoniae* je najpogostejši povzročitelj bakterijske pljučnice. Zaradi resnosti te okužbe in zato obvezne in pogoste uporabe antibiotikov, je bakterija razvila številne mehanizme odpornosti. Prvi je mehanizem odpornosti proti penicilinom. CLSI (angl. Clinical and Laboratory Standards Institute) priporoča sledeče standarde za določanje občutljivosti *S.*

*pneumoniae*. Izolati, pri katerih je minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) penicilina  $\geq 2,0 \mu\text{g} / \text{ml}$  so proti penicilinu visoko odporni sevi *S. pneumoniae* (PRSP). Tisti, pri katerih je MIK med  $0,1$  in  $1,0 \mu\text{g} / \text{ml}$  so nizko odporni in tisti, ki imajo  $\text{MIK} \leq 0,06 \mu\text{g} / \text{ml}$  so za penicilin občutljivi izolati (PSSP). To je pomembno, ker lahko  $\beta$ -laktamski antibiotiki kljub odpornosti ostanejo učinkoviti, če so dozirani v dovolj velikih koncentracijah in primerno dolgo časa (Jacobs, 2003). PRSP izolati imajo zmanjšano občutljivost na  $\beta$ -laktame zaradi spremembe penicilin vezavnih beljakovin (PBP). Te mutacije nastajajo predvsem na PBP 1A, 2A in 2B oz. za cefotaksim na PBP 2X. Med letoma 1993 in 1994 so v Kanadi poročali o 12,2 % odpornosti proti penicilinu (Blondeau in sod., 1999), med letom 1997 in 2002 pa so zabeležili 14,6 % sevov z nizko odpornostjo in 5,6 % tistih z visoko odpornostjo (Zhanel in sod., 2003). V Evropi, v Veliki Britaniji in na Irskem, je ta delež med leti 1999 in 2001 znašal 9,9 % za nizko odporne izolate in le 0,6 % za visoko odporne izolate (Reynolds in sod., 2003). V okviru GRASP študije v nekaterih evropskih državah, vzhodni Aziji in južni Afriki, pa so med letoma 2002 in 2003 v povprečju zabeležili 13 % delno odpornih in 17 % visoko odpornih izolatov pnevmokokov. V Sloveniji so na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo v Ljubljani med leti 1998 in 2002 ugotovili, da je z izjemo leta 2000 delež obpornih izolatov naraščal vse do 30,8 % (Seme in Muller-Premru, 2003), na nacionalni ravni pa so med letoma 2001 in 2002, zabeležili 17,3 % nizko odpornih in 14,4 % visoko odpornih izolatov *S. pneumoniae*, leta 2003 pa 16,6 % nizko in 0,5 % visoko odpornih izolatov (Štrumbelj in sod., 2003; Štrumbelj in sod., 2005b).

Odpornost proti makrolidom so prvič opazili leta 1967 v Združenih državah Amerike. Razvila sta se dva mehanizma in sicer povratno črpanje antibiotika iz celice (efflux), ki ga kodira *mefA* gen in metilacija oz. mutacija, ki povzroči modifikacijo ribosoma. Metilacijo kodirata gena *ermB* in *ermA*, ki se nahajata na plazmidu. Tako ločimo tri fenotipe proti eritromicinu odpornih izolatov *S. pneumoniae*, ki pogojujejo tudi občutljivosti za linkozamid in streptogramin B oz. klindamicin (16-ciklični makrolid). Izolati, ki nosijo *mefA* gen imajo M fenotip, kar pomeni, da so občutljivi za linkozamid in streptogramin B ter odporni proti eritromicinu. Vzrok je, da linkozamidi in streptogramin B niso substrati te črpalke in tako ostanejo aktivni kljub indukciji z eritromicinom. Izolati, ki imajo *ermB* gen so odporni proti eritromicinu in zaradi navzkrižne odpornosti še proti linkozamidu in

streptograminu B (MLS<sub>B</sub>). Ko je ekspresija konstitutivna (cMLS<sub>B</sub>), je *ermB* mRNA aktivna in njena translacija dovoljuje konstitutivno metilacijo ribosoma, medtem ko se ta sintetizira. Tretji fenotip pa je inducibilna odpornost MLS<sub>B</sub> (iMLS<sub>B</sub>), ki jo kodira *ermA* gen. To pomeni, da je *ermA* mRNA sintetizirana v neaktivni obliki in postane aktivna šele ob prisotnosti inducibilnega makrolida. Torej izpostavljenost makrolidnemu antibiotiku sproži odpornost proti klindamicinu. Mutacije na ribosomu *S. pneumoniae*, ki lahko povzročijo odpornost proti makrolidom se lahko pojavljajo na domenah V in II 23S rRNK in na beljakovinah L22 in L4. Mutacije na *rrl* genih povzročajo spremembo 23S rRNK, ki vodi v različne fenotipe odpornosti. MLS<sub>B</sub>, ML (zmerna odpornost proti klaritromicinu in klindamicinu, občutljivost na streptogramine), MS<sub>B</sub> (odpornost proti eritromicinu in streptograminu B) in MKLS<sub>B</sub> (odpornost proti 14- in 15- cikličnim makrolidom ter proti telitromicinu). Mutacije na genih, ki kodirajo proteina L22 (*rplV*) in L4 (*rplD*) tvorijo dva fenotipa. Prvi MS fenotip (blaga odpornost proti makrolidom, večja proti streptograminom), drugi, MS<sub>B</sub>, pa kaže večjo odpornost le proti streptograminu B (Leclercq in Courvaline, 2002). Med leti 1997 in 2002 so v Kanadi zabeležili porast proti eritromicinu (9,8 %) in proti klindamicinu (3,8 %) odpornih sevov pnevmokoka (Zhanel in sod., 2003). V Veliki Britaniji in na Irskem so v podobnem obdobju (1999-2001) poročali o 12,3 % proti eritromicinu odpornih sevov in 5,1 % proti klindamicinu odpornih pnevmokokov (Reynolds in sod., 2003). V okviru GRASP študije so med letoma 2002 in 2003 zabeležili že 31,2 % proti eritromicinu odpornih sevov (Beekmann in sod., 2005). V Sloveniji so med letoma 2001 in 2002 opazili 11,5 % proti eritromicinu in 8,3 % proti klindamicinu odpornih sevov, leta 2003 pa je ta delež ostal skoraj nespremenjen, 12,3 % oz. 9,8 % (Štrumbelj in sod., 2003; Štrumbelj in sod., 2005b).

Odpornost proti tetraciklinom pri *S. pneumoniae* omogoča prisotnost enega od dveh genov, ki kodirata ribosomska proteina. Ta sta homologna elongacijskima faktorjema EF-G in EF-Tu. Imata GTPazno aktivnost, ki je pomembna pri premestitvi tetraciklina iz ribosoma. Kodirata jih gena *tetM* in sporadično *tetO*. Ta gena se običajno nahajata na konjugativnem transpozonu iz družine Tn916, ki poleg te rezistence nosi še kakšen gen za odpornost proti drugim antibiotikom, npr. makrolidom ali kloramfenikolu (Izdebski in sod., 2007). V ZDA se ta kombinirana odpornost pojavlja v 60 %, v Evropskih državah, kot sta Španija in Italija pa kar v 80 % (Izdebski in sod., 2007). V Kanadi so med letoma 1997 in 2002 našli

10,4 % proti tetraciklinu odpornih izolatov (Zhanel in sod., 2003), v Evropi pa v okviru GRASP študije med letoma 2002 in 2003 poročajo o 27 %. V Sloveniji se med letoma 2001 in 2002 pojavlja 11,4 % proti tetraciklinu odpornih sevov. Leto pozneje pa jih je že 12,2 % (Štrumbelj in sod., 2003; Štrumbelj in sod., 2005b).

Odpornost proti trimetoprimu omogoča velika produkcija mutirane dihidrofolat reduktaze, ki je potrebna za sintezo bakterijskega timidina in aminokislin. Sulfonamidno odpornost pa posreduje mutacija kromosomskega gena, ki kodira dihidropteorat sintazo (DHPS) (Jacobs, 2003). Med letoma 1997 in 2002 so se proti trimetoprim-sulfometoksazolu odporni sevi, v Kanadi, pojavljali v 19 % (Zhanel in sod., 2003). V Evropi, vzhodni Aziji in južni Afriki med 2002 in 2003, se je preverjala le odpornost proti sulfometoksazolu. Ta je bila 31 %. V Sloveniji so med letoma 2001 in 2002 poročali o 25,9 %, leta 2003 pa o 27 % proti trimetoprim-sulfometoksazolu odpornih pnevmokokov (Štrumbelj in sod., 2003; Štrumbelj in sod., 2005b).

V svetu se pojavljajo tudi proti florokinolonom odporni izolati *S. pneumoniae*. To rezistenco omogočata dva mehanizma. Prvi so kromosomske mutacije genov, ki kodirajo DNK girazo (*gyrA* in *gyrB*) in topoizomerazo IV (*parC* in *parE*), drugi pa povratna črpalka, ki jo kodira *pmrA* gen (LaPlante in sod., 2007). Proti moksifloksacinu odporni sevi so se v Kanadi pojavljali že med leti 1997 in 2002 in sicer v 0,6 % (Zhanel in sod., 2003), v Veliki Britaniji in na Irskem pa se je v podobnem obdobju (1999-2001) odpornost pojavljala v 0,3 % (Reynolds in sod., 2003). V Sloveniji najdemo prve zapise o pojavljanju teh izolatov pnevmokokov šele leta 2004 (Seme in sod., 2006).

### 2.2.3.2 Mehanizmi odpornosti bakterije *Haemophilus influenzae*

Leta 1972 se je pojavil prvi sev *H. influenzae*, ki je bil odporen na ampicilin. Odpornost proti temu antibiotiku in drugim penicilinom zagotavljata dva mehanizma. Prvi je produkcija dveh  $\beta$ -laktamaz TEM-1 (zapis na plazmidu) in ROB-1. Obe encimsko hidrolizirata ampicilin. Drugi mehanizem pa je konformacijska sprememba tarčnih proteinov na bakteriji in sicer PBP 3, kar zmanjša afiniteto vezave za ampicilin (Kim in sod., 2007). Zapis zanj nosi gen *ftsI*. Ti sevi so bili prvič izolirani med letom 1978 in 1980.

Pravimo jim tudi BLNAR ( $\beta$ -laktamaza negativni ampicilin rezistentni) sevi, saj ne sintetizirajo  $\beta$ -laktamaze. Problem je, ker so odporni tudi proti drugim  $\beta$ -laktamom, med drugim tudi na kombinacije z zaviralci  $\beta$ -laktamaz in nekatere cefalosporine (Barry in sod., 2001). V zadnjem času se pojavljajo klinični izolati, v katerih lahko najdemo oba mehanizma odpornosti. Ti sevi *H. influenzae* so  $\beta$ -laktamaza pozitivni proti ampicilinu in klavulanski kislini odporni sevi (BLPACR) (Kim in sod., 2007).

Doern in sod. poročajo da je bil leta 1997 v Združenih državah Amerike (ZDA) in Kanadi delež sevov odpornih proti ampicilinu 33,5 %, med leti 1997 in 2002 pa je delež teh sevov v Kanadi upadel na 18,6 % (Zhanel in sod., 2003). V GRASP raziskavah je bil ta delež v državah Evrope, vzhodne Azije in južne Afrike med letoma 2002 in 2003 13 % (Beekmann in sod., 2005). V Sloveniji je bil delež proti ampicilinu odpornih sevov leta 2003 12,7 % (Ribič in sod., 2005), leta 2004 pa 8 % (Seme in sod., 2006).

BLNAR in BLPACR sevi so poleg penicilina odporni tudi proti kombinacijam z zaviralci  $\beta$ -laktamaz ter določenim cefalosporinom, predvsem I. in II. generacije, kamor spada cefaklor. Leta 1997 je bilo v Kanadi in ZDA 12,8 % sevov odpornih na cefaklor (Doern in sod., 1999) in 7,1 % med letom 1997 in 2002 v Kanadi (Zhanel in sod., 2003). V Sloveniji je ta delež leta 2003 znašal 0,8 % (Ribič in sod., 2005), leta 2004 pa 1 % (Seme in sod., 2006).

V zadnjem času je pri *H. influenzae* postala problematična tudi odpornost proti trimetoprimu s sulfometoksazolom. Odpornost proti trimetoprimu omogoča velika produkcija mutirane dihidrofolat reduktaze, ki je potrebna za sintezo bakterijskega timidina in aminokislin. Sulfonamidno odpornost posreduje dva mehanizma: pridobitev DHPS, ki jo kodira plazemski protein *Sul2* in sprememba kromosomskega gena *folP*, ki kodira DHPS (Jacobs, 2003). Leta 1997 je v Kanadi bil delež teh rezistentnih sevov le 0,2 %, do leta 2002 pa je že narastel na 14,2 % (Zhanel in sod., 2003). V Sloveniji je bil delež odpornih sevov leta 2003 13,3 % (Ribič in sod., 2005) in 2004 že 16 % (Seme in sod., 2006).

Kmalu po pojavu proti ampicilinu odpornih sevov so se začeli pojavljati tudi proti kloramfenikolu odporni izolati. To vrsto odpornosti zagotavlja sinteza kloramfenikolacetil transferaze (CAT). Do vnosa gena pride s transpozicijo (Needham, 1988).

### 2.2.3.3 Mehanizmi odpornosti bakterije *Moraxella catarrhalis*

Pomembna posebnost *M. catarrhalis* je tvorba  $\beta$ -laktamaze, ki je bila prvič opisana leta 1977 (Bootsma in sod., 1996). Danes več kot 90 % izolatov tvori  $\beta$ -laktamazo. Ta ni pomembna le zaradi pridobljene odpornosti, marveč tudi zato, ker lahko neposredno blokira zdravljenje z  $\beta$ -laktamskimi antibiotiki ob hkratnih okužbah z drugimi respiratornimi patogeni (Bootsma in sod., 1996). Odporni sevi imajo na kromosomu *bla* gen, ki kodira encima BRO-1 ali BRO-2. Encima sta si zelo sorodna, razlikujeta se le v izoelektričnih točkah. V 90 % proti ampicilinu odpornih izolatih *M. catarrhalis* se izraža BRO-1, medtem ko se v 10 % izraža BRO-2  $\beta$ -laktamaza.

V okviru SENTRY nadzorovalnega programa za pojavljanje odpornosti proti antibiotikom leta 1997, so v ZDA in Kanadi poročali o 92,1 %  $\beta$ -laktamaza pozitivnih sevov *M. catarrhalis* (Doern in sod., 1999). Do leta 1999 je v Kanadi ta delež narasel do 94,3 %, do leta 2002 pa padel na 90,0 % (Zhanel in sod., 2003). Tudi v Veliki Britaniji in na Irskem se med leti 1999 in 2001 poročali o 91 % odpornosti proti ampicilinu odpornih sevov. V okviru GRASP študije v različnih državah Evrope, vzhodne Azije in južne Afrike pa so poročali o porastu teh sevov na 94 % med letoma 2002 in 2003 (Beekmann in sod., 2005). V Sloveniji je leta 2004 delež proti ampicilinu odpornih sevov znašal 85,4 % (Seme in sod., 2006).

Prav tako je pomembna tudi odpornost proti trimetoprim s sulfometoksazolom. Mehanizem odpornosti je podoben kot pri *H. influenzae*. V Sloveniji je leta 2004 ta delež znašal 22,1 % (Seme in sod., 2006).

#### 2.2.3.4 Mehanizmi odpornosti bakterije *Streptococcus pyogenes*

Trenutno zdavilo prvega izbora za zdravljenje bakterijskega faringitisa, ki ga povzroča *S. pyogenes* je penicilin V, alternativa temu pa eritromicin in klindamicin pri bolnikih z večkratnimi ponovitvami obolenja (Uh in sod., 2004). Zaradi pogoste alergije na penicilin, proti katerem se odpornost še ni razvila, se je uporaba teh dveh specifičnih antibiotikov zelo povečala, to pa je vodilo k razvoju odpornosti.

Tako kot pri *S. pneumoniae* poznamo dva genetska mehanizma odpornosti proti makrolidom. To sta povratno črpanje antibiotika iz celice (efflux), ki ga kodira *mefA* gen in modifikacija tarče na ribosomu s pomočjo metilacije ali mutacije. Metilacijo kodirata gena *ermB* in *ermA*, ki se nahajata na plazmidu. Ločimo torej tri fenotipe proti eritromicinu odpornih sevov *S. pyogenes*, ki so pogojujejo tudi občutljivost za linkozamid in streptogramin B oz. klindamicin (16-ciklični makrolid). Izolati, z *mefA* genom imajo M fenotip (so občutljivi na linkozamid in streptogramin B ter odporni proti eritromicinu). Izolati, ki imajo *ermB* gen so odporni proti eritromicinu in zaradi navzkrižne odpornosti še proti linkozamidu in streptograminu B (MLS<sub>B</sub>), vzorec odpornosti poznan kot konstitutivni (cMLS<sub>B</sub>). Tretji fenotip pa je inducibilna MLS<sub>B</sub> (iMLS<sub>B</sub>) odpornost, ki jo kodira *ermA* gen. Ta fenotip lahko razdelimo še v tri podtipa in sicer iMLS-A (visoka raven konstitutivne odpornosti proti 16 cikličnim makrolidom), iMLS-B in iMLS-C (oba sta občutljiva na 16-ciklični makrolid josamicin, vendar po indukciji kažeta različno raven odpornosti; visoko oz. nizko) (Grivea in sod., 2006). Redko se pojavljajo tudi poročila o mutacijah na ribosomu pri proti makrolidom odpornih izolatih *S. pyogenes*. Te se pojavljajo na L4 proteinu oz. na domeni V rRNK molekule (Richter in sod., 2005). Prvi sevi odporni proti eritromicinu so se začeli pojavljati v 90' letih prejšnjega stoletja. V Čilu in na Koreji leta 1994, in sicer v 11,3 % in 14,3 % (Palavecino in sod., 2001; Uh in sod., 2004). Na Finskem pa je ta delež leta 1992 znašal že 16 %, do leta 1997 pa je padel na 9,2 % (Bergmann in sod., 2004). Ti avtorji poročajo o naglem in hitrem porastu proti eritromicinu odpornih sevov v naslednjem letu, nato pa delni padec. V Koreji na 14,3 % leta 2000, V Čilu na 5,6 % v letu 1998 in na Finskem do 7,4 %. V Berlinu je bilo leta 1997 12,7 % proti eritromicinu odpornih sevov (Arvand in sod., 2000). GRASP študija v nekaterih Evropskih državah ter v vzhodni Aziji in južni Afriki, je poročala o 11 % proti eritromicinu odpornih



sevov med letoma 2002 in 2003 (Beekman in sod., 2005), v Združenih državah Amerike pa se je v enakem obdobju pojavljalo 6,8 % teh izolatov (Richter in sod., 2005). Na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Univerze v Ljubljani so leta 1995 zabeležili 4,2 %, do leta 1999 7,4 % proti eritromicinu odpornih izolatov. Do leta 2002 se je ta delež ustalil na 7 % (Seme in Mueller-Premru, 2003). Leta 2003 so na nacionalni ravni zabeležili 10,8 % in leta 2004 na 11,9 % proti eritromicinu odpornih izolatov (Štrumbelj in sod., 2003; Štrumbelj in sod., 2005a). V to skupino spada tudi spremljanje proti klindamicinu odpornih sevov. V državah Evrope, vzhodne Azije in južne Afrike se je ta odpornost v povprečju pojavljala v 3 % med letoma 2002 in 2003, v ZDA pa v enakem obdobju v 0,5 % (Beekman in sod., 2005; Richter in sod., 2005). V Sloveniji so na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani od leta 1998 do leta 2000 opazili porast odpornosti (od 3,5 % do 5,6 %), nato pa je v letih 2001 in 2002 ta delež padel na 4 % oz. 4,2 % (Seme in Muller-Premru; 2003). Leta 2003 so na nacionalni ravni zabeležili 9,5 % odpornost proti klindamicinu pri izolatih *S. pyogenes* (Štrumbelj in sod., 2005a).

Nekateri izolati *S. pyogenes* so razvili odpornost proti tetraciklinom. Obstajata dva mehanizma. Prvi je veliko pogostejši in kodira ribosomske proteine, ki so homologni elongacijskima faktorjema EF-G in EF-Tu. Imajo GTPazno aktivnost, ki je pomembna pri premestitvi tetraciklina iz ribosoma. Te proteine kodirajo *tetM* geni, redkeje pa *tetO*, *tetQ*, *tetS*, *tetT* in *tetW* geni. Drugi mehanizem je povratna črpalka, ki jo kodirajo *tetK* ali *tetL* geni. V Sloveniji je bil v prvem tričetrletju leta 2001 in 2002 delež proti tetraciklinu odpornih sevov 7,7 %, vendar je prihajalo do velikih odstopanj med posameznimi regijami, od 0,2 % do 21,6 %. Leta 2003 pa je ta delež znašal 6 % (Štrumbelj in sod., 2003; Štrumbelj in sod., 2005a).

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 METODE

##### 3.1.1 Zbiranje podatkov

Podatke o občutljivosti izolatov, ki so bili pri rutinskem delu osamljeni iz dihal, smo pridobili na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani (IMI MF). Pri vseh izolatih je bila občutljivost za antibiotike že določena. Pri tem so uporabili difuzijsko metodo na diskih in upoštevali merila ameriškega združenja Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Kategorije po CLSI so: občutljivost (angl. sensibility - S), nizka odpornost (angl. intermediate resistance - I) in visoka odpornost (angl. resistance - R) (Seme in sod., 2006; Štrumbelj in sod., 2003). V predpisanih primerih so dodatno še opredeljevali občutljivost z metodo difuzijskega gradienta z E-testi (AB Biodisk, Solna, Švedska).

Podatke med 1. januarjem 2004 in 31. decembrom 2004 smo retrospektivno zbrali s pomočjo laboratorijskega računalniškega programa Mbio (AZ Programske delavnice, Ljubljana), med 1. januarjem 2005 in 31. decembrom 2006 pa s pomočjo programa MBL (Infonet, Kranj).

##### 3.1.2 Kategorizacija podatkov

Izolate iz dihal smo najprej ločili glede na leto osamitve (2004-2006), nato po starostnih skupinah. Pri tem so nastale štiri skupine:

- predšolski otroci (0 - 5 let),
- šolarji in mladina (6 – 18 let),
- odrasli (19 – 60 let) in
- starostniki (nad 60 let).

Nazadnje smo izolate iz dihal ločili na tiste osamljene iz kužnin, odvzetih s področja zgornjih dihal, kot so bris tonzil, bris žrela, bris nosu, transnazalni bris in aspirat nazofarinksa, ter na tiste, osamljene iz kužnin, odvzetih s področja spodnjih dihal, kot so izmeček, aspirat traheje in vse bronhoskopsko odvzete kužnine. Pri tem smo za vsako leto izključili vse ponovne izolate istega seva pri eni osebi.

### 3.1.3 Statistična analiza

Razlike v občutljivosti za določene antibiotike med posameznimi skupinami izolatov smo statistično ovrednotili s testom  $\chi^2$  na kontingenčnih tabelah.

Pri  $\chi^2$  preizkusu na osnovi zbranih podatkov preverjamo domnevo o verjetnostni porazdelitvi (Košmelj, 2001). Pri tem ocenimo dejansko verjetnost s Pearsonovo  $\chi^2$ -statistiko:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(f_i - f'_i)^2}{f'_i}$$

Podatki niso statistično značilni, če je Pearsonova  $\chi^2$ -statistika (pri stopnji značilnosti  $\alpha$ ) porazdeljena približno po  $\chi^2$  porazdelitvi s  $(k - 1)(r - 1)$  stopnjami prostosti (SP), oz:

$$\chi^2 \leq \chi^2_{\alpha} (SP = (k - 1)(r - 1)) \Rightarrow \text{podatki niso statistično značilni,}$$

$$\chi^2 > \chi^2_{\alpha} (SP = (k - 1)(r - 1)) \Rightarrow \text{podatki so statistično značilni.}$$

Rezultat potrdimo s  $p$ -vrednostjo, ki je verjetnost, da ob predpostavki, da je ničelna domneva (rezultati niso statistično značilni) pravilna, dobimo za testno statistiko vrednosti, ki so bolj v korist alternativne domneve (rezultati so statistično značilni) od izračunane vrednosti testne statistike (Košmelj, 2001). Stopnja značilnosti  $\alpha$  je zgornja meja.

$$p\text{-vrednost} < \alpha \Rightarrow \text{ničelno domnevo zavrnamo,}$$

$$p\text{-vrednost} > \alpha \Rightarrow \text{ničelno domnevo obdržimo.}$$

Za računalniško analizi smo uporabili JavaStat in Excel iz Microsoft Office 2003. Podatke  $\chi^2$  porazdelitve s  $(k - 1)(r - 1)$  stopnjami prostosti smo odčitali v tabeli (Priloga A). Stopnjo značilnosti  $\alpha$  pa smo si izbrali 0,05.

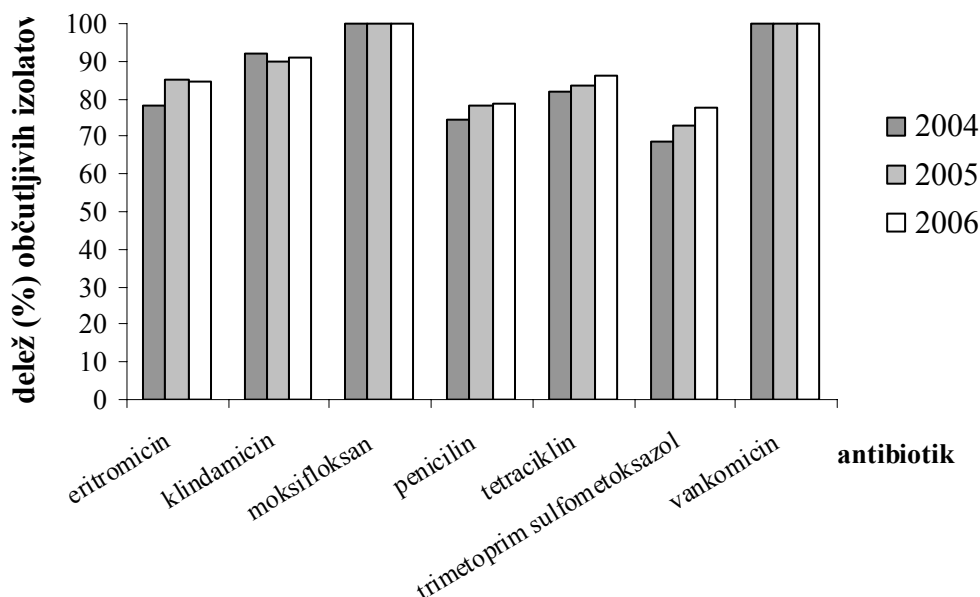
## 4 REZULTATI

### 4.1 OBČUTLJIVOST IZOLATOV *Streptococcus pneumoniae*

Izolate *S. pneumoniae*, smo najprej obdelali glede na leto osamitve. V letu 2004 je bilo osamljenih 699 izolatov, v letu 2005 464, leta 2006 pa 480 izolatov. V preglednici 3, so zbrani vsi podatki o številu in deležu občutljivih (S) sevov, glede na posamezen antibiotik. Na sliki 1, so podatki predstavljeni še grafično. Razberemo lahko, da so bili vsi testirani izolati v triletnem obdobju občutljivi za moksifloksacin in vankomicin. Delež za eritromicin občutljivih izolatov *S. pneumoniae* je iz 78,3 % v letu 2004 statistično pomembno narasel na 84,9 % ( $p=0,005$ ), nato pa do leta 2006 ostal skoraj enak. Delež za trimetoprim s sulfometoksazolom in za tetraciklin občutljivih izolatov je skozi triletno obdobje počasi naraščal, delež za klindamicin občutljivih izolatov pa je ostajal konstanten. Razlike niso statistično pomembne. V preglednici 4 so podani podrobnejši podatki o deležu občutljivih, nizko odpornih in visoko odpornih izolatov *S. pneumoniae* proti penicilinu. Opazimo lahko, da delež za penicilin občutljivih izolatov iz zgornjih dihal počasi narašča, iz 73,7 % leta 2004 na 76,3 % leta 2006. Delež za penicilin občutljivih izolatov iz spodnjih dihal je nekoliko višji od izolatov iz zgornjih dihal. Leta 2006 je ta znašal že 79,5 %. Proti penicilinu nizko odporni izolati so 3,5 x pogostejši kot visoko odporni izolati. Natančne izračune Pearsonove  $\chi^2$ - statistike in p-vrednosti najdemo v prilogi B1.

**Preglednica 3.** Število in delež občutljivih izolatov *S. pneumoniae* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.

Antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) v posameznih letih		
	2004	2005	2006
eritromicin	547/699 (78,3)	394/464 (84,9)	406/480 (84,6)
klindamicin	643/699 (92,0)	417/464 (89,9)	436/480 (90,8)
moksifloksacin	699/699 (100)	464/464 (100)	480/480 (100)
penicilin	520/699 (74,4)	362/464 (78,0)	376/479 (78,5)
tetraciklin	573/699 (82,0)	387/464 (83,4)	414/480 (86,2)
trimetoprim/ sulfometoksazol	479/699 (68,5)	339/464 (73,1)	374/480 (77,9)
vankomicin	699/699 (100)	464/464 (100)	480/480 (100)



**Slika 1.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *S. pneumoniae* med leti 2004-2006 na IMI MF.

**Preglednica 4.** Število in delež (%) občutljivih, nizko odpornih in visoko odpornih izolatov *S. pneumoniae* med leti 2004-2006 in glede na področje osamitve na IMI MF.

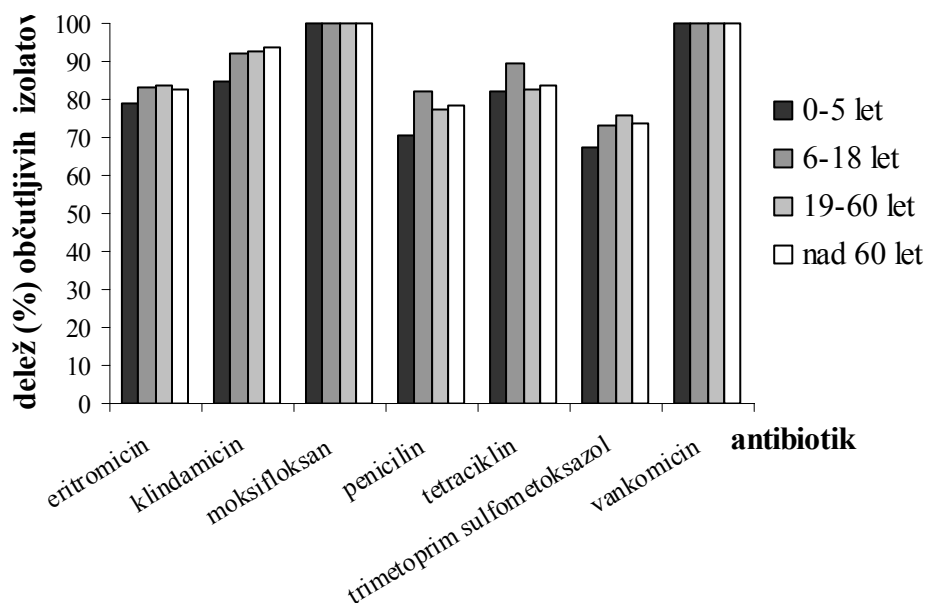
leto	zgornja dihala			spodnja dihala		
	število in delež (%) občutljivih izolatov (S)	število in delež (%) nizko odpornih izolatov (I)	število in delež (%) visoko odpornih izolatov (R)	število in delež (%) občutljivih izolatov (S)	število in delež (%) nizko odpornih izolatov (I)	število in delež (%) visoko odpornih izolatov (R)
2004	222 (73,7)	67 (22,3)	12 (4,0)	298 (74,9)	84 (21,1)	16 (4,0)
2005	117 (74,0)	29 (18,4)	12 (7,6)	245 (80,1)	43 (14,0)	18 (5,9)
2006	116 (76,3)	31 (20,4)	5 (3,3)	260 (79,5)	53 (16,2)	14 (4,3)

V drugi fazi, smo podatke razdelili v štiri starostne skupine, pri katerih smo poskušali najti morebitne razlike v občutljivosti za izbran antibiotik. Prva skupina, predšolski otroci (0 - 5 let) je imela 415 izolatov, druga, šolarji in mladina (6 - 18 let), je bila najmanjša skupina z 199 izolati. Tretja skupina, odrasli (19 - 60 let), je imela 419 izolatov in zadnja, starostniki (nad 60 let), 610. Podatki so zbrani v preglednici 5, grafično pa so prikazani na sliki 2. Izračuni Pearsonove  $\chi^2$ -statistike in p-vrednosti so podani v prilogi B2. Najvišjo stopnjo odpornosti proti testiranim antibiotikom je bilo zaslediti v skupini predšolskih otrok, prav tako je primerjava te skupine z drugimi pokazala največ statistično pomembnih razlik.

Odstopanja v odpornosti med predšolskimi otroki so se pojavljala v primerjavi z vsemi drugimi skupinami pri odpornosti proti klindamicinu (s šolarji je  $p=0,013$ , z odraslimi  $p=0,001$  in s starostniki je  $p=0,000$ ). Pri penicilinu je statistično pomembna razlika nastala v primerjavi predšolskih otrok s šolarji ( $p=0,003$ ), odraslimi ( $p=0,028$ ) in starostniki ( $p=0,004$ ). Razlika je velika tudi pri občutljivosti na trimetoprim s sulfometoksazolom v primerjavi predšolskih otrok z odraslimi ( $p=0,007$ ) in starostniki ( $p=0,023$ ) ter pri občutljivosti na tetraciklin med predšolskimi otroki in šolarji ( $p=0,016$ ). Pri tetraciklinu je razlika statistično pomembna tudi pri primerjavi šolarjev z odraslimi ( $p=0,026$ ) in starostniki ( $p=0,045$ ). Razlike v občutljivosti za ostale antibiotike med starostnimi skupinami niso statistično pomembne.

**Preglednica 5.** Število in delež občutljivih izolatov *S. pneumoniae* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.

Antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) po starostnih skupinah			
	0-5 let	6-18 let	19-60 let	nad 60 let
eritromicin	328/415 (79,0)	166/199 (83,4)	350/419 (83,5)	503/610 (82,5)
klindamicin	352/415 (84,8)	183/199 (92,0)	387/419 (92,4)	573/610 (93,9)
moksifloksacin	415/415 (100)	199/199 (100)	419/419 (100)	610/610 (100)
penicilin	293/415 (70,6)	163/199 (81,9)	323/418 (77,3)	479/610 (78,5)
tetraciklin	340/415 (81,9)	178/199 (89,4)	346/419 (82,6)	510/610 (83,6)
trimetoprim/ sulfometoksazol	279/415 (67,2)	146/199 (73,4)	317/419 (75,6)	450/610 (73,8)
vankomicin	415/415 (100)	199/199 (100)	419/419 (100)	610/610 (100)



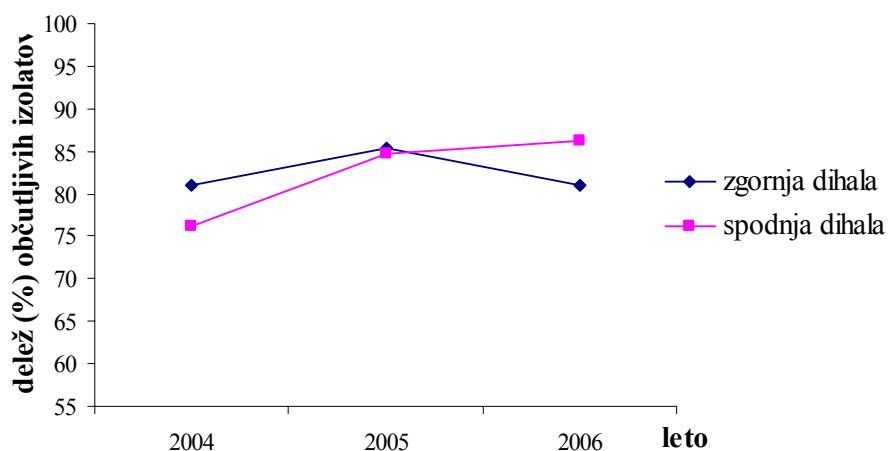
**Slika 2.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *S. pneumoniae* po starostnih skupinah na IMI MF.

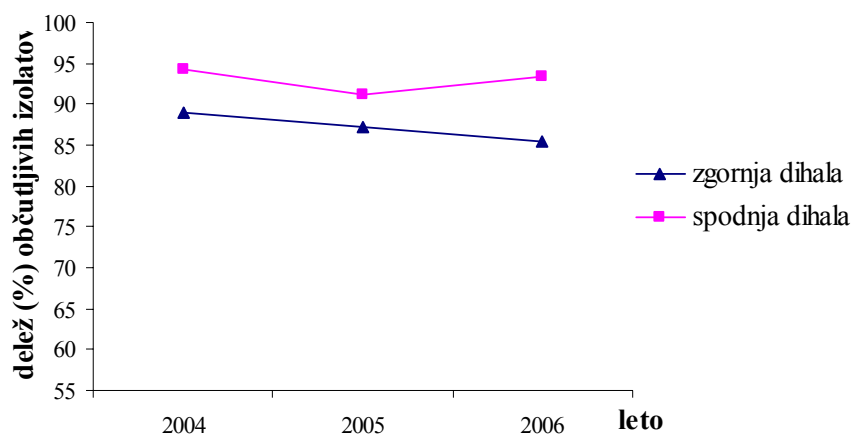
V zadnji fazi smo iskali razlike v občutljivosti za testirane antibiotike glede na mesto osamitve (zgornja oz. spodnja dihal) po posameznih letih. Podatki so podani v preglednici 6 ( $\chi^2$  statistika in p-vrednosti pa v prilogi B3). Razlike med leti in mestom osamitve so bile pri večini testiranih antibiotikov minimalne in statistično pričakovane. Razlika je pomembna le pri klindamicinu leta 2004 in 2006. V obeh letih je delež odpornih izolatov iz zgornjih dihal višji kot pri spodnjih dihalih, leta 2004 je ta razlika 5,2 % ( $p=0,012$ ), leta 2006 pa 7,8 % ( $p=0,006$ ). Spreminjanje odpornosti skozi triletno obdobje, proti posameznim antibiotikom, glede na zgornja oziroma spodnja dihal, je grafično predstavljeno na slikah 3 do 9.



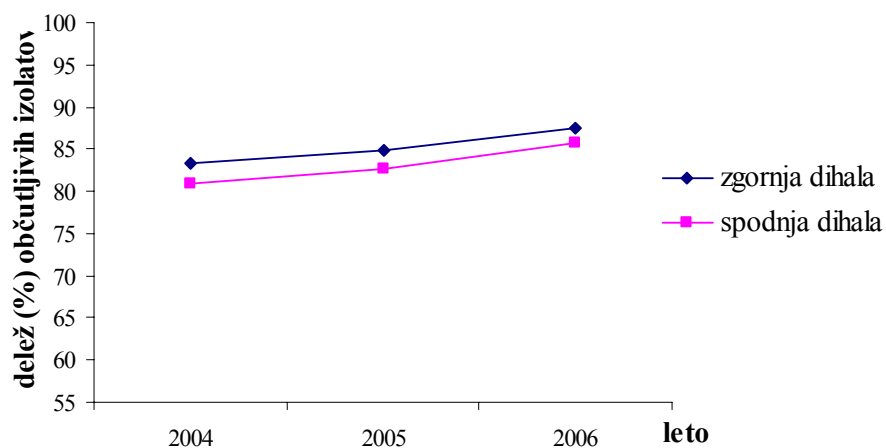
**Preglednica 6.** Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *S. pneumoniae* glede na področje osamitve na IMI MF.

leto	antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%)	
		zgornja dihala (N <sub>Z</sub> )	spodnja dihala (N <sub>S</sub> )
2004	eritromicin	244/301 (81,1)	303/398 (76,1)
	klindamicin	268/301 (89,0)	375/398 (94,2)
	moksifloksacin	301/301 (100)	398/398 (100)
	penicilin	222/301 (73,8)	298/398 (74,9)
	tetraciklin	251/301 (83,4)	322/398 (80,9)
	trimetoprim/ sulfometoksazol	211/301 (70,1)	268/398 (67,3)
	vankomicin	301/301 (100)	398/398 (100)
2005	eritromicin	135/158 (85,4)	259/306 (84,6)
	klindamicin	138/158 (87,3)	279/306 (91,2)
	moksifloksacin	158/158 (100)	306/306 (100)
	penicilin	117/158 (74,0)	245/306 (80,1)
	tetraciklin	134/158 (84,8)	253/306 (82,7)
	trimetoprim/ sulfometoksazol	109/158 (69,0)	230/306 (75,2)
	vankomicin	158/158 (100)	306/306 (100)
2006	eritromicin	123/152 (80,9)	283/328 (86,3)
	klindamicin	130/152 (85,5)	306/328 (93,3)
	moksifloksacin	152/152 (100)	328/328 (100)
	penicilin	116/152 (76,3)	260/327 (79,5)
	tetraciklin	133/152 (87,5)	281/328 (85,7)
	trimetoprim/ sulfometoksazol	118/152 (77,6)	256/328 (78,0)
	vankomicin	152/152 (100)	328/328 (100)

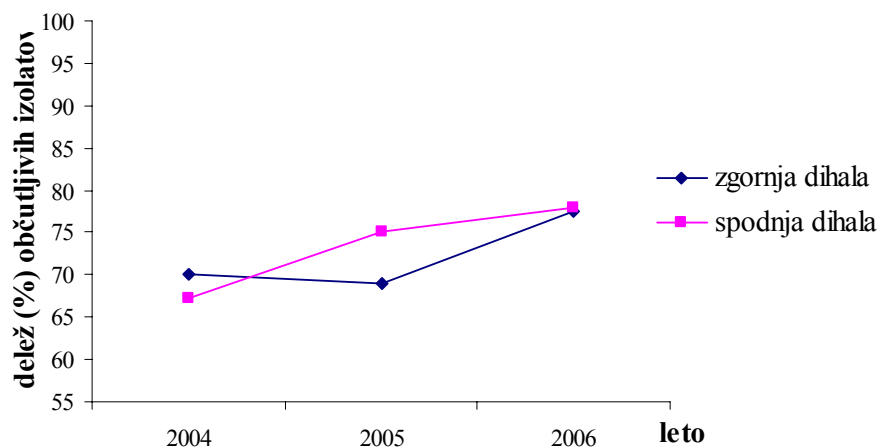
**Slika 3.** Pogostost pojavljanja za eritromicin občutljivih izolatov *S. pneumoniae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



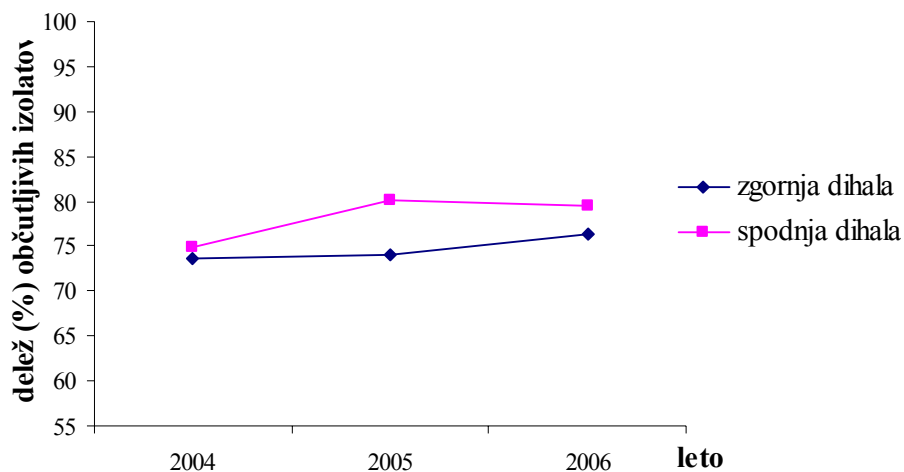
**Slika 4.** Pogostost pojavljanja za klindamicin občutljivih izolatov *S. pneumoniae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



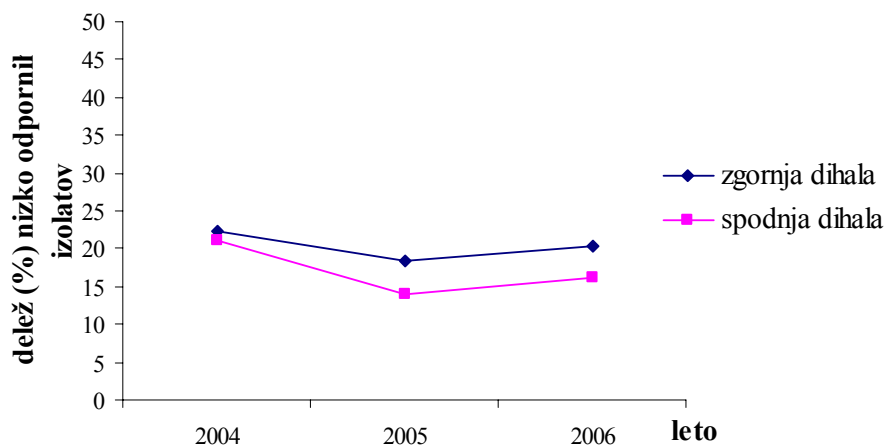
**Slika 5.** Pogostost pojavljanja za tetraciklin občutljivih izolatov *S. pneumoniae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



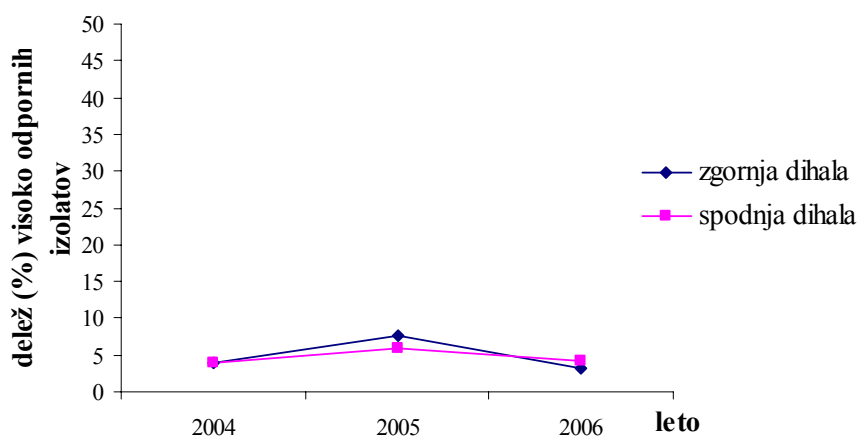
**Slika 6.** Pogostost pojavljanja za trimetoprim s sulfometoksazolom občutljivih izolatov *S. pneumoniae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



**Slika 7.** Pogostost pojavljanja za penicilin občutljivih izolatov *S. pneumoniae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



**Slika 8.** Pogostost pojavljanja proti penicilinu nizko odpornih izolatov *S. pneumoniae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



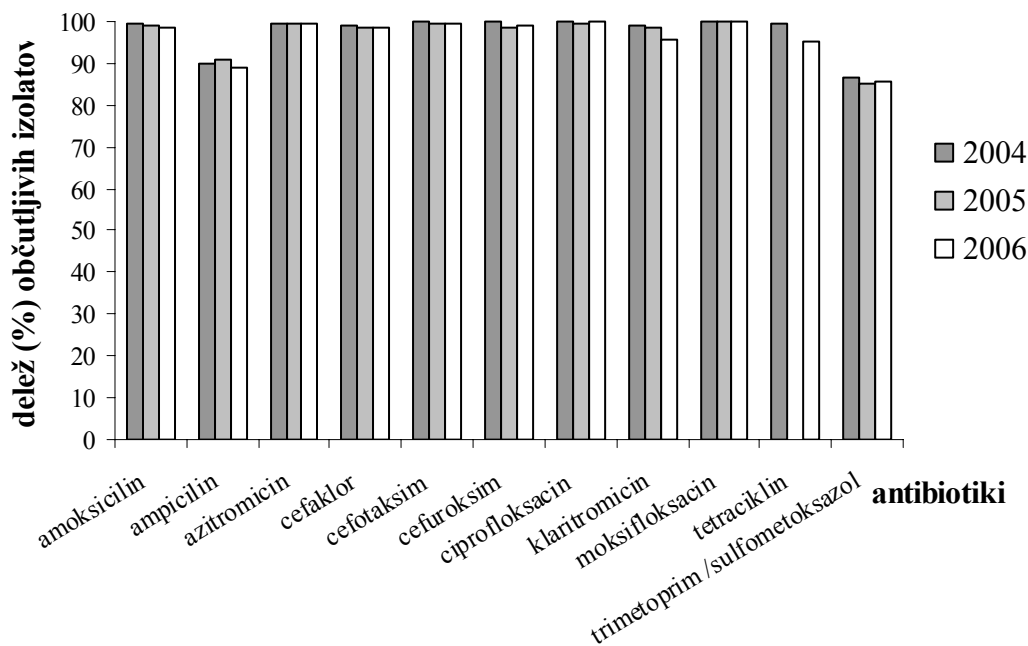
**Slika 9.** Pogostost pojavljanja proti penicilinu visoko odpornih izolatov *S. pneumoniae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.

#### 4.2 OBČUTLJIVOST IZOLATOV *Haemophilus influenzae*

Izolatov *H. influenzae* je bilo leta 2004 386, leta 2005 312 in leta 2006 394. V preglednici 7, so zbrani vsi podatki o številu in deležu občutljivih (S) izolatov, glede na testiran antibiotik. V prilogi C1 pa natančnejši izračuni Pearsonove  $\chi^2$  statistike in p-vrednosti. Slika 10 te podatke prikazuje še grafično. Razberemo lahko, da so bili vsi testirani izolati v triletnem obdobju občutljivi na moksifloksacin. Vsi izolati *H. influenzae* imajo občutljivost za večino testiranih antibiotikov višjo od 90 % ali celo 99 %. To pomeni, da se lahko uspešno uporabljajo za zdravljenje. Najnižja deleža, ki pa sta še vedno višji od 85 %, se pojavljata pri trimetoprimu s sulfometoksazolom in ampicilinu. Statistično pomembne razlike se pojavijo pri klaritromicinu, tetraciklinu in cefuroksimu. Leta 2005 je delež za klaritromicin občutljivih izolatov znašal 98,7 %, leta 2006 pa 95,9 % ( $p=0,027$ ). Pri tetraciklinu smo opazili večji padec med letoma 2004 (99,7 %) in 2005 (92,6 %), pri tem je  $p=0,000$ . Pri cefuroksimu je bil delež občutljivih izolatov leta 2004 100 %, leta 2005 pa se pojavijo 4 odporni izolati ( $p=0,026$ ).

**Preglednica 7.** Število in delež občutljivih izolatov *H. influenzae* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.

antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) po letih		
	2004	2005	2006
amoksicilin/ klavulanska kislina	385/386 (99,7)	309/312 (99,0)	389/394 (98,7)
ampicilin	347/386 (89,9)	280/308 (90,9)	350/394 (88,8)
azitromicin	384/386 (99,5)	311/312 (99,7)	393/394 (99,7)
cefaklor	383/386 (99,2)	307/312 (98,4)	389/394 (98,7)
cefotaksim	386/386 (100)	310/312 (99,4)	393/394 (99,7)
cefuroksim	386/386 (100)	308/312 (98,7)	391/394 (99,2)
ciprofloksacin	386/386 (100)	311/312 (99,7)	394/394 (100)
klaritromicin	382/386 (99,0)	308/312 (98,7)	378/394 (95,9)
moksifloksacin	386/386 (100)	312/312 (100)	394/394 (100)
tetraciklin	385/386 (99,7)	289/312 (92,6)	376/394 (95,4)
trimetoprim/sulfometoksazol	334/386 (86,5)	266/312 (85,2)	338/394 (85,8)

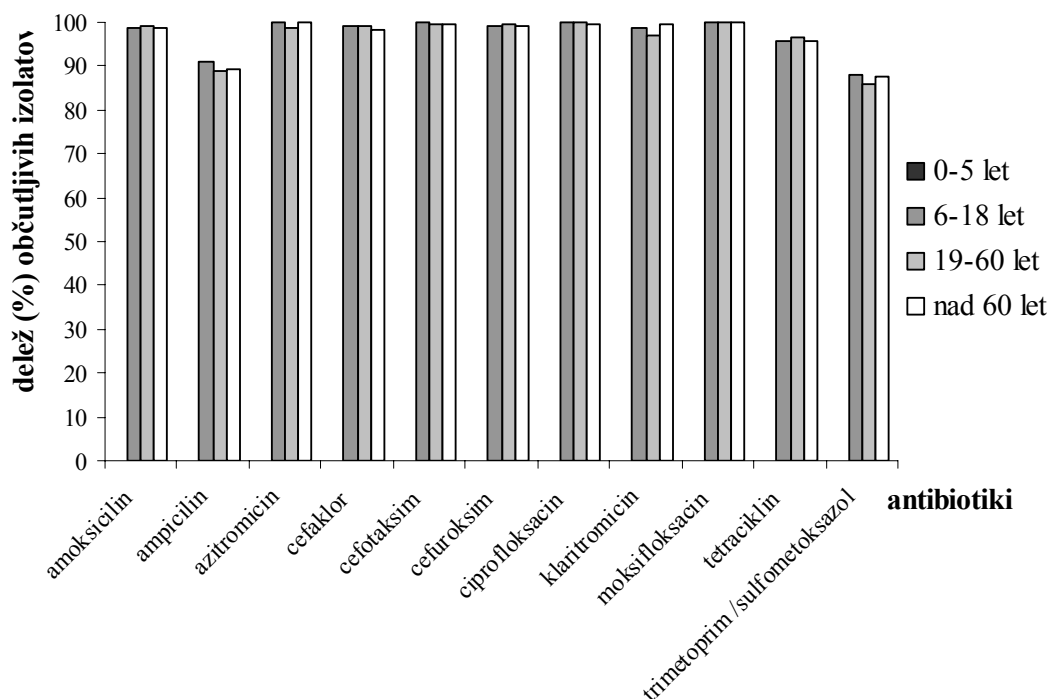


**Slika 10.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *H. influenzae* med leti 2004-2006 na IMI MF.

Občutljivost izolatov *H. influenzae* glede na starostno skupino je podana v preglednici 8, v prilogi C2 pa so podani izračuni Pearsonove  $\chi^2$  statistike in pripadajoče p-vrednosti. Grafično so podatki prikazani na sliki 11. Prva skupina, od 0 do 5 let, je imela 261 izolatov, druga, od 6 do 18 let, je imela 144 izolatov, tretja skupina, od 19 do 60 let, je imela 302 izolatov in zadnja, nad 60 let, 385. Občutljivost za testirane antibiotike je po skupinah primerljiva. Statistično pomembna razlika se pojavi le pri občutljivosti za azitromicin ( $p=0,024$ ) med odraslimi (98,7 %) in starostniki (100 %), vendar je delež občutljivih izolatov pri odraslih, tako visok, da za zdravljenje ta podatek ni omejujoč.

**Preglednica 8.** Število in delež občutljivih izolatov *H. influenzae* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.

antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) po starostnih skupinah			
	0-5 let	6-18 let	19-60 let	nad 60 let
amoksicilin/ klavulanska kislina	261/261 (100)	142/144 (98,6)	300/302 (99,3)	380/385 (98,7)
ampicilin	237/261 (90,8)	131/144 (91,0)	267/300 (89,0)	342/383 (89,3)
azitromicin	261/261 (100)	144/144 (100)	298/302 (98,7)	385/385 (100)
cefaklor	259/261 (99,2)	143/144 (99,3)	299/302 (99,0)	378/385 (98,2)
cefotaksim	261/261 (100)	144/144 (100)	301/302 (99,7)	383/385 (99,5)
cefuroksim	261/261 (100)	143/144 (99,3)	299/302 (99,7)	382/385 (99,2)
ciprofloksacin	261/261 (100)	144/144 (100)	302/302 (100)	384/385 (99,7)
klaritromicin	259/261 (99,2)	142/144 (98,6)	293/302 (97,0)	374/385 (99,7)
moksifloksacin	261/261 (100)	144/144 (100)	302/302 (100)	385/385 (100)
tetraciklin	252/261 (96,6)	138/144 (95,8)	291/302 (96,4)	369/385 (95,8)
trimetoprim/sulfometoksazol	216/261 (82,8)	127/144 (88,2)	259/302 (85,8)	337/385 (87,5)



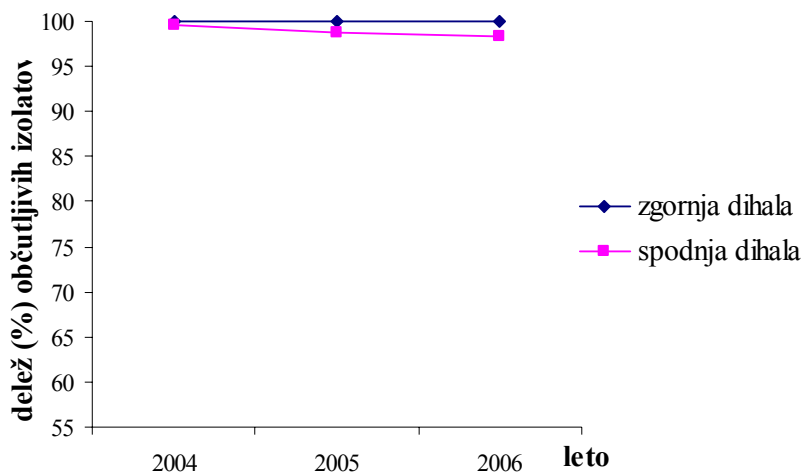
**Slika 11.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *H. influenzae* po starostnih skupinah na IMI MF.

Razlike v občutljivosti za izbrane antibiotike glede na mesto osamitve (zgornja oz. spodnja dihala) po letih, za bakterijo *H. influenzae*, so podane v preglednici 9. Pripadajoče vrednosti Pearsonove  $\chi^2$  statistike in p-vrednosti najdemo v prilogi C3. Razlike v občutljivosti za testirane antibiotike med zgornjimi in spodnjimi dihali so v povprečju manjše od 1 %. Razlike statistično niso značilne. Grafično so podatki prikazani na slikah 12 do 21.

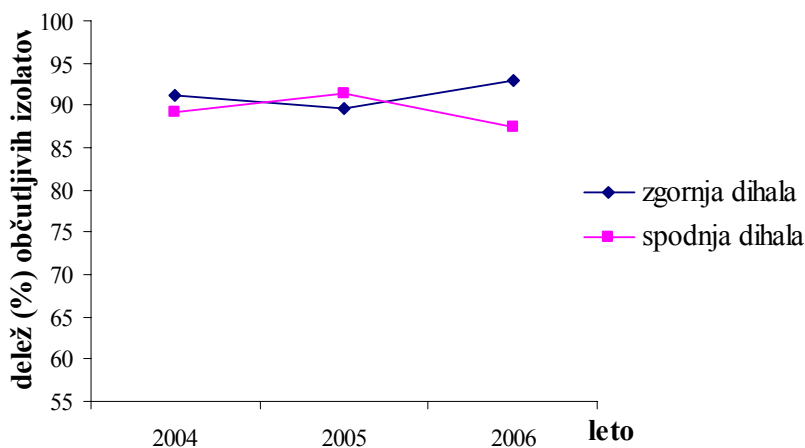
**Preglednica 9.** Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *H. influenzae* glede na področje osamitve na IMI MF.

leto	antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%)	
		zgornja dihala (N <sub>Z</sub> )	spodnja dihala (N <sub>S</sub> )
2004	amoksicilin/ klavulanska kislina	146/146 (100)	239/240 (99,6)
	ampicilin	133/146 (91,1)	214/240 (89,2)
	azitromicin	145/146 (99,3)	239/240 (99,6)
	cefaklor	145/146 (99,3)	238/240 (99,2)
	cefotaksim	146/146 (100)	240/240 (100)
	cefuroksim	146/146 (100)	240/240 (100)
	ciprofloksacin	146/146 (100)	240/240 (100)
	klaritromicin	146/146 (100)	236/240 (98,3)
	moksifloksacin	146/146 (100)	240/240 (100)
	tetraciklin	146/146 (100)	239/240 (99,6)
	trimetoprim/sulfometoksazol	123/146 (84,2)	211/240 (87,9)
2005	amoksicilin/ klavulanska kislina	87/87 (100)	222/225 (98,7)
	ampicilin	78/87 (89,6)	202/221 (91,4)
	azitromicin	87/87 (100)	224/225 (99,6)
	cefaklor	86/87 (98,8)	221/225 (98,2)
	cefotaksim	87/87 (100)	223/225 (99,1)
	cefuroksim	87/87 (100)	221/225 (98,2)
	ciprofloksacin	87/87 (100)	224/225 (99,6)
	klaritromicin	87/87 (100)	221/225 (98,2)
	moksifloksacin	87/87 (100)	225/225 (100)
	tetraciklin	78/87 (89,6)	211/225 (93,8)
	trimetoprim/sulfometoksazol	72/87 (82,8)	194/225 (86,2)
2006	amoksicilin/ klavulanska kislina	100/100 (100)	289/294 (98,3)
	ampicilin	93/100 (93,0)	257/294 (87,4)
	azitromicin	100/100 (100)	293/294 (99,6)
	cefaklor	100/100 (100)	289/294 (98,3)
	cefotaksim	100/100 (100)	293/294 (99,6)
	cefuroksim	100/100 (100)	291/294 (99,0)
	ciprofloksacin	100/100 (100)	294/294 (100)
	klaritromicin	99/100 (99,0)	279/294 (94,9)
	moksifloksacin	100/100 (100)	294/294 (100)
	tetraciklin	98/100 (98,0)	278/294 (94,5)
	trimetoprim/sulfometoksazol	89/100 (89,0)	249/294 (84,7)

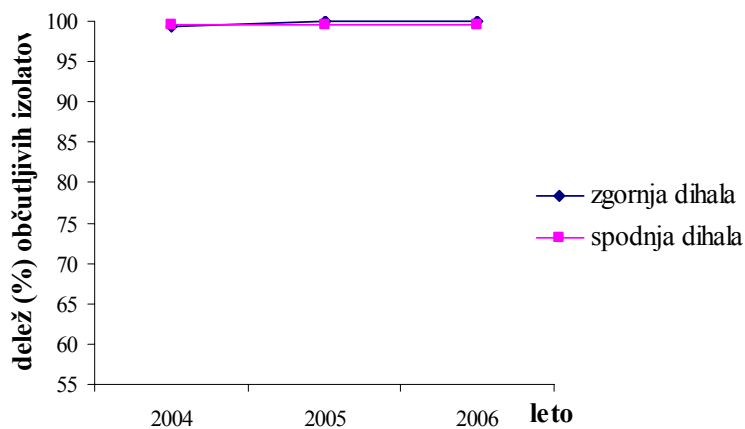




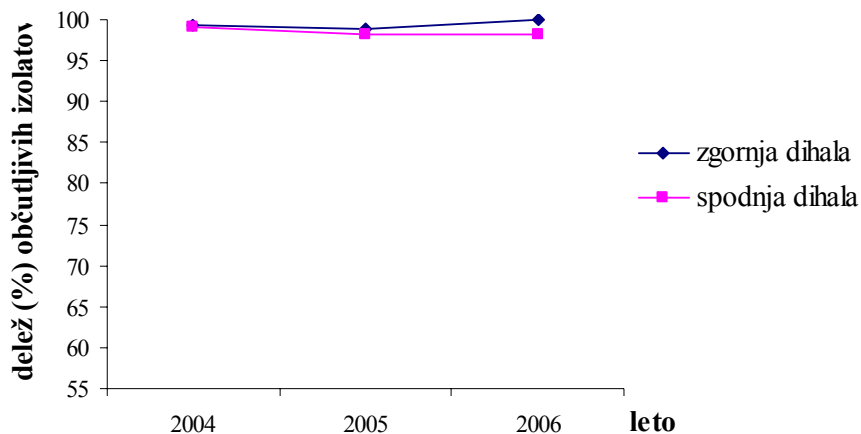
**Slika 12.** Pogostost pojavljanja za amoksicilin s klavulansko kislino občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



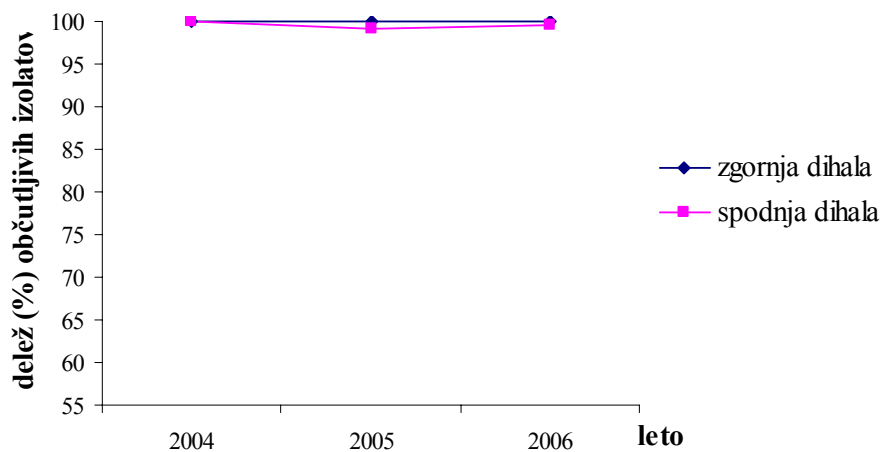
**Slika 13.** Pogostost pojavljanja za ampicilin občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



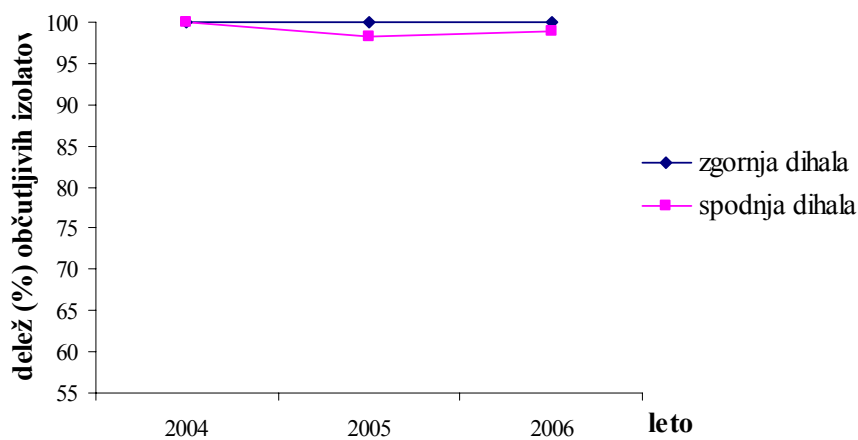
**Slika 14.** Pogostost pojavljanja za azitromicin občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



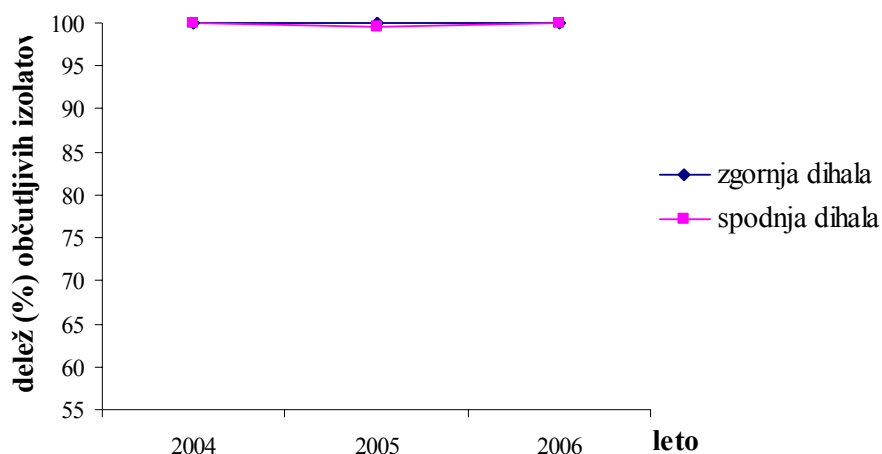
Slika 15. Pogostost pojavljanja za cefaklor občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



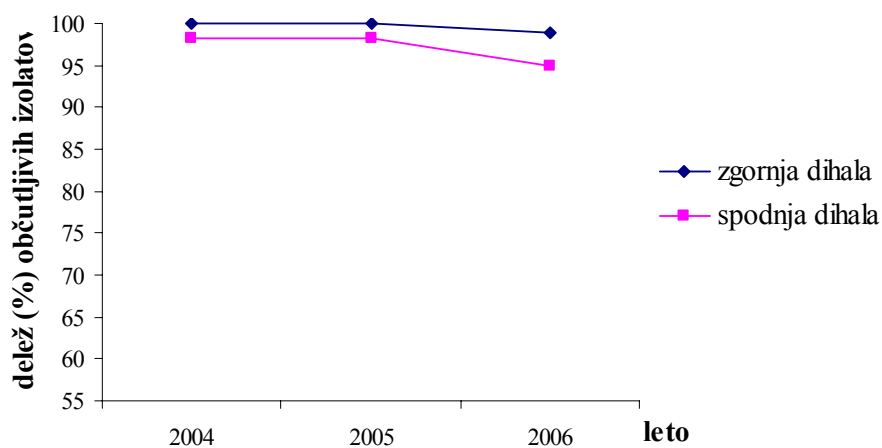
Slika 16. Pogostost pojavljanja za cefotaksim občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



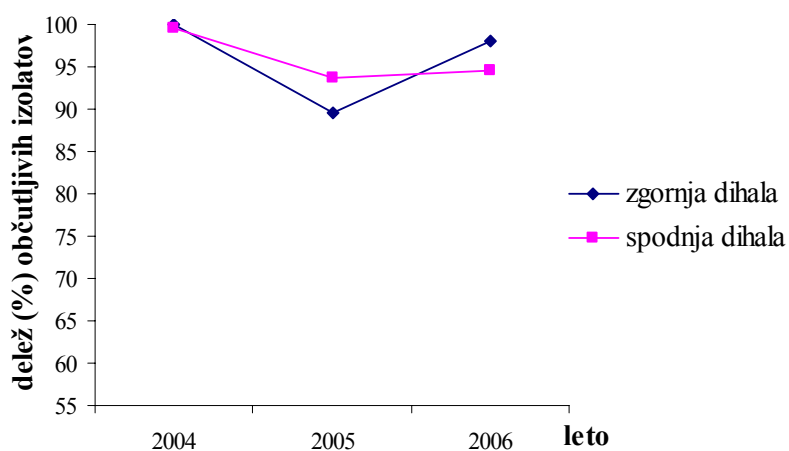
Slika 17. Pogostost pojavljanja za cefuroksim občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



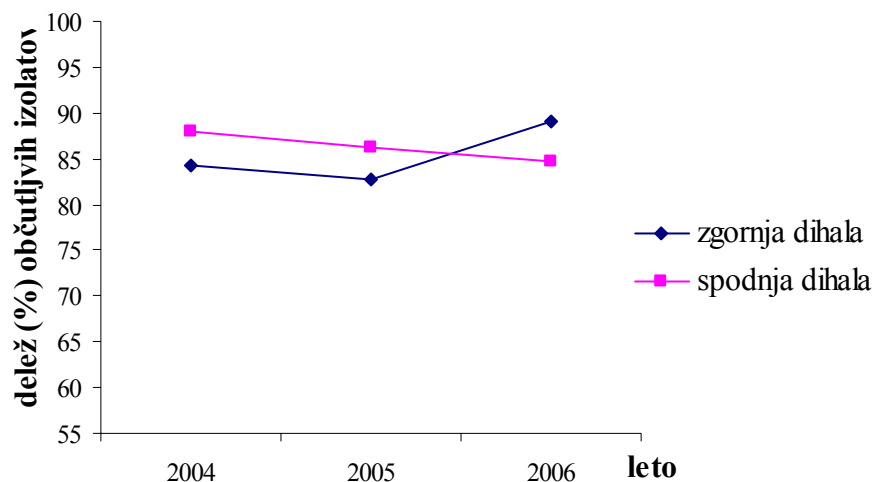
**Slika 18.** Pogostost pojavljanja za ciprofloksacin občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



**Slika 19.** Pogostost pojavljanja za klaritromicin občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



**Slika 20.** Pogostost pojavljanja za tetraciklin občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



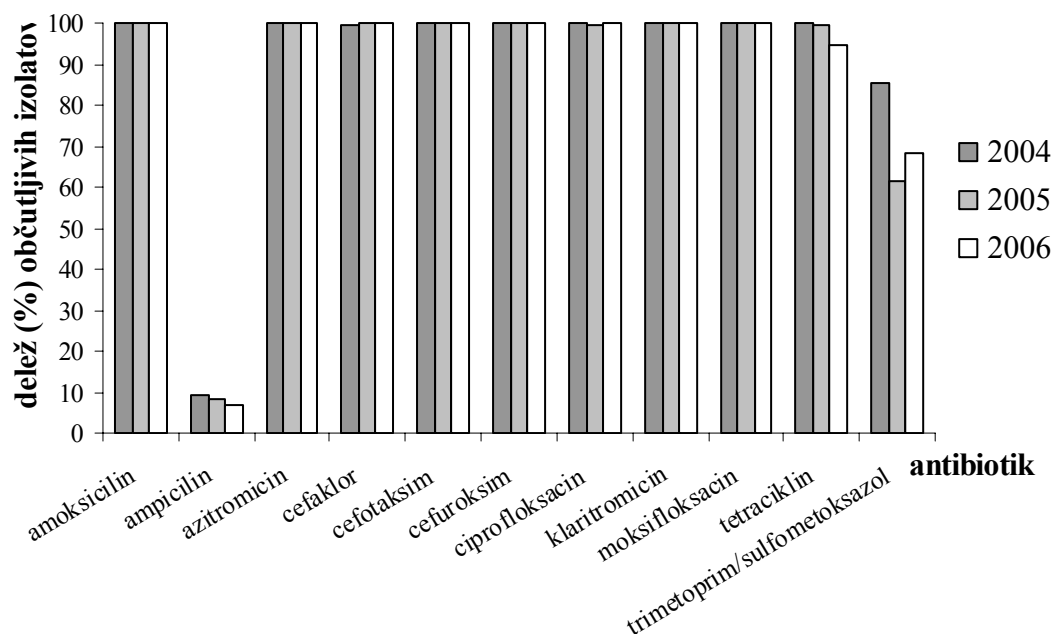
**Slika 21.** Pogostost pojavljanja za trimetoprim s sulfometoksazolom občutljivih izolatov *H. influenzae* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.

#### 4.3 OBČUTLJIVOST IZOLATOV *Moraxella catarrhalis*

V letu 2004 je bilo 290 izolatov bakterije *M. catarrhalis*, v letu 2005 200 in v letu 2006 262. V preglednici 10, so zbrani vsi podatki o številu in deležu občutljivih (S) izolatov, glede na leto osamitve. Izračune Pearsonove  $\chi^2$  statistike in p-vrednosti najdemo v prilogi D1. Vsi testirani izolati v triletnem obdobju so bili občutljivi na amoksicilin s klavulansko kislino, azitromicin, cefotaksim, cefuroksim, klaritromicin in moksifloksacin. V letu 2004 smo izolirali en izolat odporen proti cefakloru in leta 2005 en proti ciprofloksacinu. Več kot 90 % izolatov je bilo odpornih proti ampicilinu. V letu 2006 se tako pojavlja le še 6,9 % za ampicilin občutljivih izolatov. Leta 2004 se proti tetraciklinu odporni izolati niso pojavljali; leta 2005 smo zabeležili en odporen izolat, do leta 2006 pa se je delež odpornih izolatov povečal za 5 %. Pri tem je nastala statistično pomembna razlika ( $p=0,004$ ). Prav tako je leta 2005 delež izolatov *M. catarrhalis* občutljivih za trimetoprim s sulfometoksazolom močno padel. Leta 2004 je bilo 85,2 % izolatov občutljivih na trimetoprim s sulfometoksazolom, leta 2005 pa je bilo teh izolatov le 61,5 % ( $p=0,000$ ). Leta 2006 smo teh izolatov zabeležili 68,3 %. Grafično podatke prikazuje slika 22.

**Preglednica 10.** Število in delež občutljivih izolatov *M. catarrhalis* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.

antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) po letih		
	2004	2005	2006
amoksicilin/ klavulanska kislina	290/290 (100)	200/200 (100)	262/262 (100)
ampicilin	27/290 (9,3)	17/199 (8,5)	18/261 (6,9)
azitromicin	290/290 (100)	200/200 (100)	262/262 (100)
cefaklor	289/290 (99,6)	200/200 (100)	262/262 (100)
cefotaksim	290/290 (100)	200/200 (100)	262/262 (100)
cefuroksim	290/290 (100)	200/200 (100)	262/262 (100)
ciprofloksacin	290/290 (100)	199/200 (99,5)	262/262 (100)
klaritromicin	290/290 (100)	200/200 (100)	262/262 (100)
moksifloksacin	290/290 (100)	200/200 (100)	262/262 (100)
tetraciklin	290/290 (100)	199/200 (99,5)	248/262 (94,6)
trimetoprim /sulfometoksazol	247/290 (85,2)	123/200 (61,5)	179/262 (68,3)

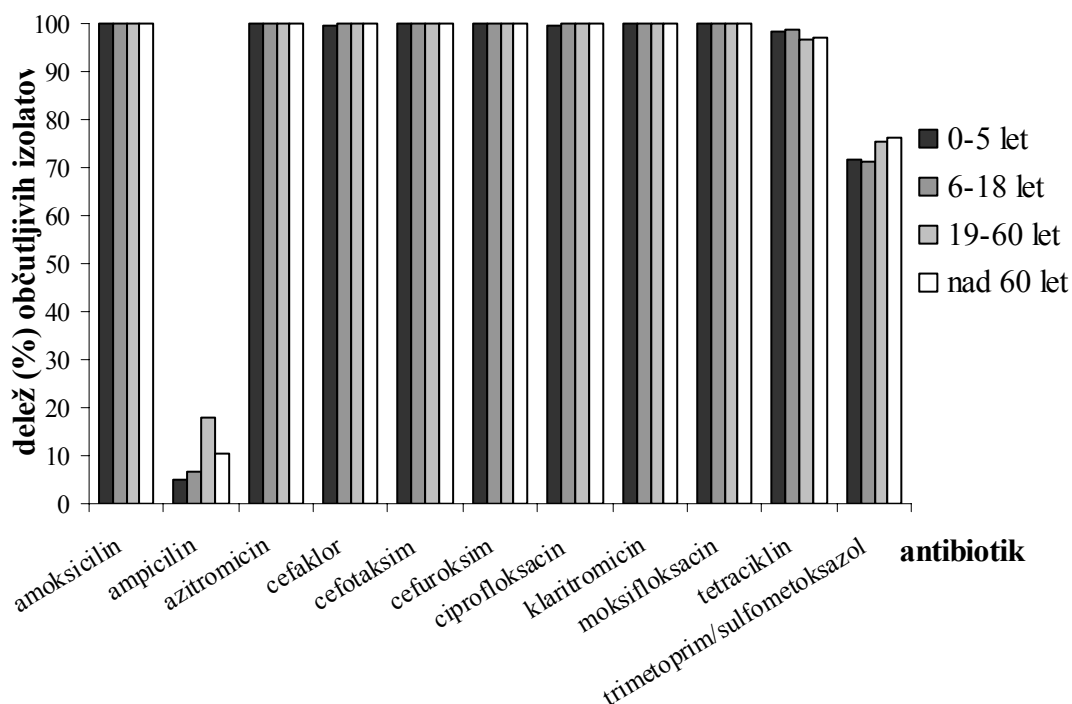
**Slika 22.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *M. catarrhalis* med leti 2004-2006 na IMI MF.

Razlike v občutljivosti za testirane antibiotike med starostnimi skupinami, so navedene v preglednici 11, izračuni Pearsonove  $\chi^2$  statistike in p-vrednosti pa v prilogi D2. V prvi skupini, predšolski otroci, je bilo 344 izolatov, v drugi, šolarji in mladina, 153, v tretji skupini, odrasli, je bilo testiranih 94 izolatov in v zadnji, starostniki, 161. Do statistično značilnih razlik med starostnimi skupinami je prišlo v občutljivosti za ampicilin.

Odpornost proti ampicilinu je večja pri predšolskih otrocih kot pri odraslih in starostnikih. Enako velja za šolarje v primerjavi z odraslimi. Razlike pri ostalih antibiotikah, glede na izbrane starostne skupine, statistično niso značilne. Grafično so podatki predstavljeni na sliki 23.

**Preglednica 11.** Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *M.catarrhalis* glede na starostno skupino na IMI MF.

antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) po starostnih skupinah			
	0-5 let	6-18 let	19-60 let	nad 60 let
amoksicilin / klavulanska kislina	344/344 (100)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
ampicilin	18/343 (5,2)	10/153 (6,5)	17/94 (18,1)	17/161 (10,6)
azitromicin	344/344 (100)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
cefaklor	343/344 (99,7)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
cefotaksim	344/344 (100)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
cefuroksim	344/344 (100)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
ciprofloksacin	343/344 (99,7)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
klaritromicin	344/344 (100)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
moksifloksacin	344/344 (100)	153/153 (100)	94/94 (100)	161/161 (100)
tetraciklin	339/344 (98,5)	151/153 (98,7)	91/94 (96,8)	156/161 (96,9)
trimetoprim /sulfometoksazol	246/344 (71,5)	109/153 (71,2)	71/94 (75,5)	123/161 (76,4)



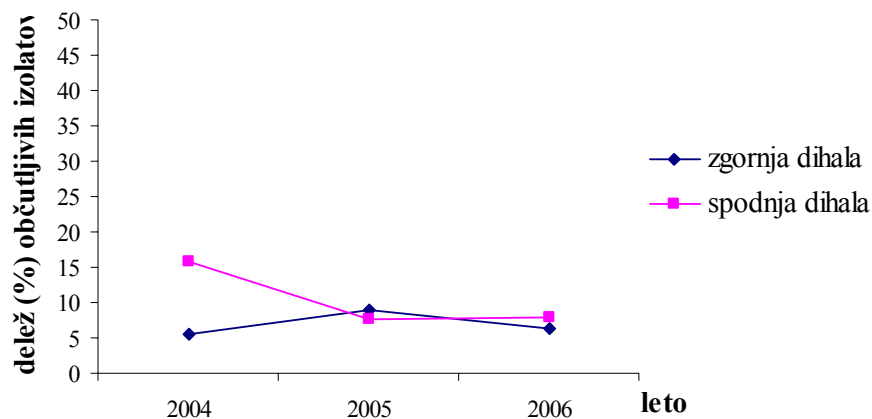
**Slika 23.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *M. catarrhalis* po starostnih skupinah na IMI MF.

Razlike v občutljivosti za izbrane antibiotike glede na mesto odvzema (zgornja oz. spodnja dihal) in leto osamitve, so podane v preglednici 12, Pearsonova  $\chi^2$  statistika in p-vrednosti pa v prilogi D3. Grafično je spremljanje občutljivosti za posamezne antibiotike glede na mesto osamitve prikazano na slikah 24 do 28. Tudi pri tej primerjavi so največje razlike v občutljivosti za ampicilin. Leta 2004 so bili izolati iz zgornjih dihal za 10,2 % manj občutljiv kot izolat iz spodnjih dihal ( $p=0,004$ ). Statistično značilna razlika se pojavlja tudi pri občutljivosti za trimetoprim s sulfometoksazolom. Leta 2004 je delež občutljivih izolatov iz zgornjih dihal znašal 88,5 %, iz spodnjih pa 79,6 %, pri tem je  $p=0,041$ . Razlike so bile pri ostalih antibiotikah glede na mesto osamitve manjše in statistično niso bile značilne.

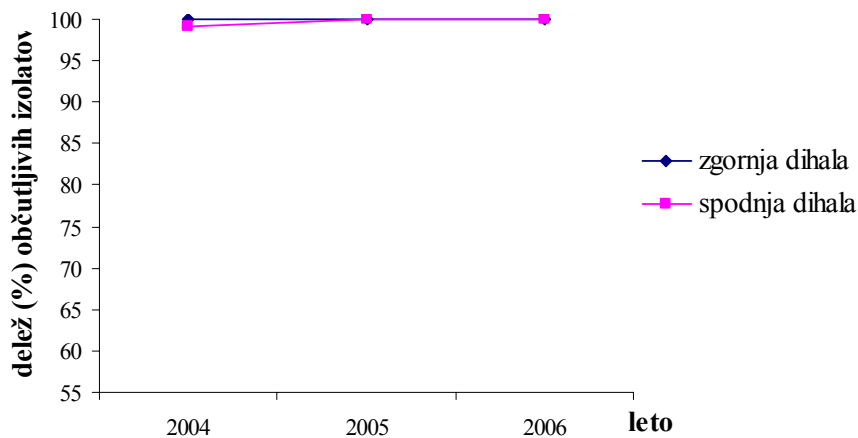
**Preglednica 12.** Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov bakterije *M.catarrhalis* glede na področje osamitve na IMI MF.

leto	antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%)	
		zgornja dihala (N <sub>Z</sub> )	spodnja dihala (N <sub>S</sub> )
2004	amoksicilin/ klavulanska k.	182/182 (100)	108/108 (100)
	ampicilin	10/182 (5,5)	17/108 (15,7)
	azitromicin	182/182 (100)	108/108 (100)
	cefaklor	182/182 (100)	107/108 (99,1)
	cefotaksim	182/182 (100)	108/108 (100)
	cefuroksim	182/182 (100)	108/108 (100)
	ciprofloksacin	182/182 (100)	108/108 (100)
	klaritromicin	182/182 (100)	108/108 (100)
	moksifloksacin	182/182 (100)	108/108 (100)
	tetraciklin	182/182 (100)	108/108 (100)
	trimetoprim/ sulfometoksazol	161/182 (88,5)	86/108 (79,6)
2005	amoksicilin/ klavulanska k.	135/135 (100)	65/65 (100)
	ampicilin	12/134 (9,0)	5/65 (7,7)
	azitromicin	135/135 (100)	65/65 (100)
	cefaklor	135/135 (100)	65/65 (100)
	cefotaksim	135/135 (100)	65/65 (100)
	cefuroksim	135/135 (100)	65/65 (100)
	ciprofloksacin	135/135 (100)	64/65 (98,5)
	klaritromicin	135/135 (100)	65/65 (100)
	moksifloksacin	135/135 (100)	65/65 (100)
	tetraciklin	134/135 (99,2)	65/65 (100)
	trimetoprim/ sulfometoksazol	82/135 (60,7)	41/65 (63,1)
2006	amoksicilin/ klavulanska k.	145/145 (100)	117/117 (100)
	ampicilin	9/145 (6,2)	9/116 (7,8)
	azitromicin	145/145 (100)	117/117 (100)
	cefaklor	145/145 (100)	117/117 (100)
	cefotaksim	145/145 (100)	117/117 (100)
	cefuroksim	145/145 (100)	117/117 (100)
	ciprofloksacin	145/145 (100)	117/117 (100)
	klaritromicin	145/145 (100)	117/117 (100)
	moksifloksacin	145/145 (100)	117/117 (100)
	tetraciklin	139/145 (95,9)	109/117 (93,2)
	trimetoprim/ sulfometoksazol	101/145 (69,6)	78/117 (66,7)

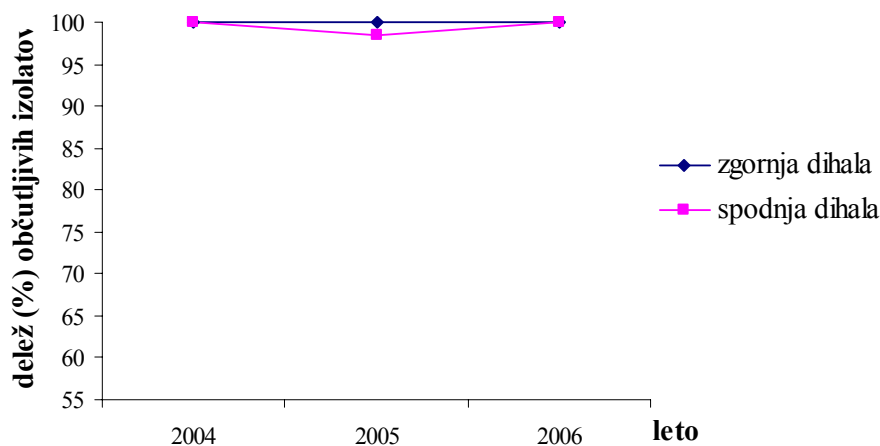




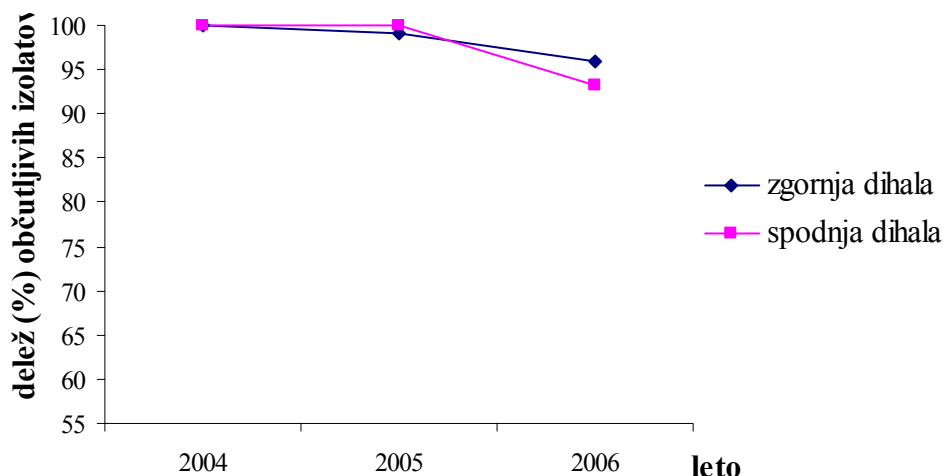
Slika 24. Pogostost pojavljanja za ampicilin občutljivih izolatov *M. catarrhalis* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



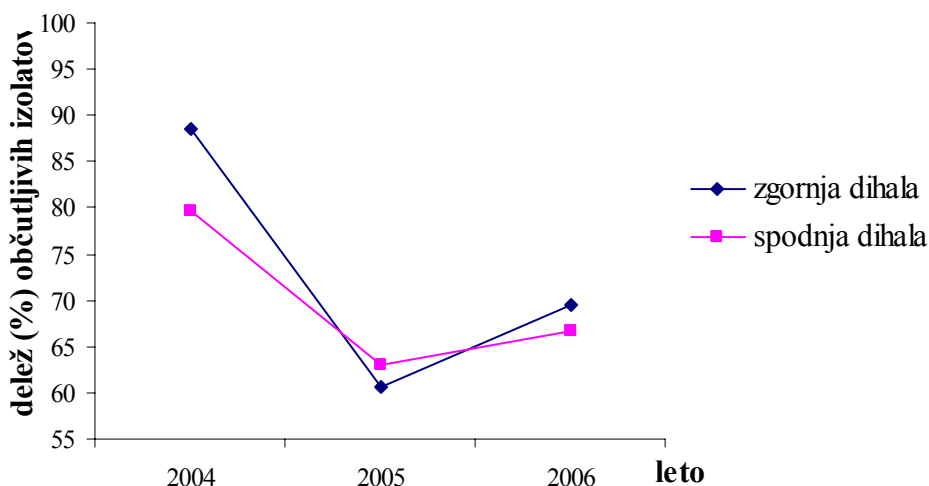
Slika 25. Pogostost pojavljanja za cefaklor občutljivih izolatov *M. catarrhalis* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



Slika 26. Pogostost pojavljanja za ciprofloksacin občutljivih izolatov *M. catarrhalis* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



Slika 27. Pogostost pojavljanja za tetraciklin občutljivih izolatov *M. catarrhalis* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.



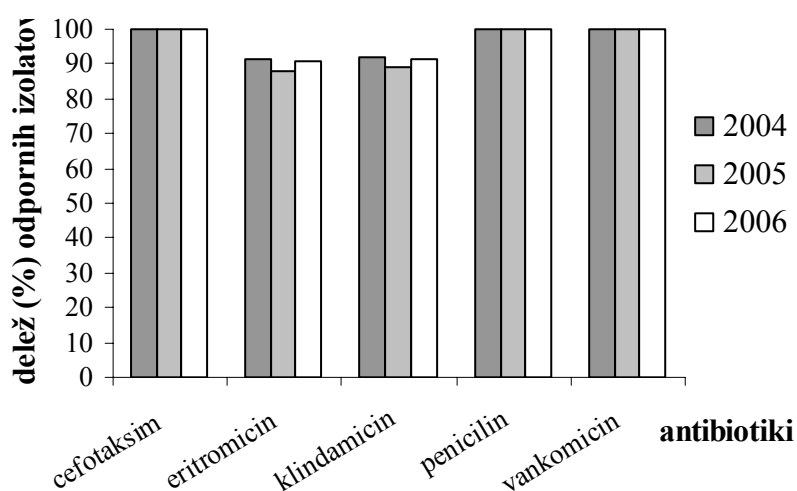
Slika 28. Pogostost pojavljanja za trimetoprim s sulfametoksazolom občutljivih izolatov *M. catarrhalis* v posameznih letih glede na mesto osamitve na IMI MF.

#### 4.4 OBČUTLJIVOST IZOLATOV *Streptococcus pyogenes*

Tudi pri *S. pyogenes* smo najprej primerjali razlike v odpornosti med posameznimi leti. Leta 2004 je bilo 271 izolatov, leta 2005 140 in leta 2006 258 izolatov. Podatki so zbrani v preglednici 13, izračuni Pearsonove  $\chi^2$  statistike in p-vrednosti pa v prilogi E1. Vsi testirani izolati so bili občutljivi za cefotaksim, penicilin in vankomicin. Delež za eritromicin in klindamicin občutljivih izolatov je ostajal konstanten in v povprečju 90 %. Podatki so grafično predstavljeni na sliki 29.

**Preglednica 13.** Število in delež za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *S. pyogenes* glede na leto osamitve na IMI MF.

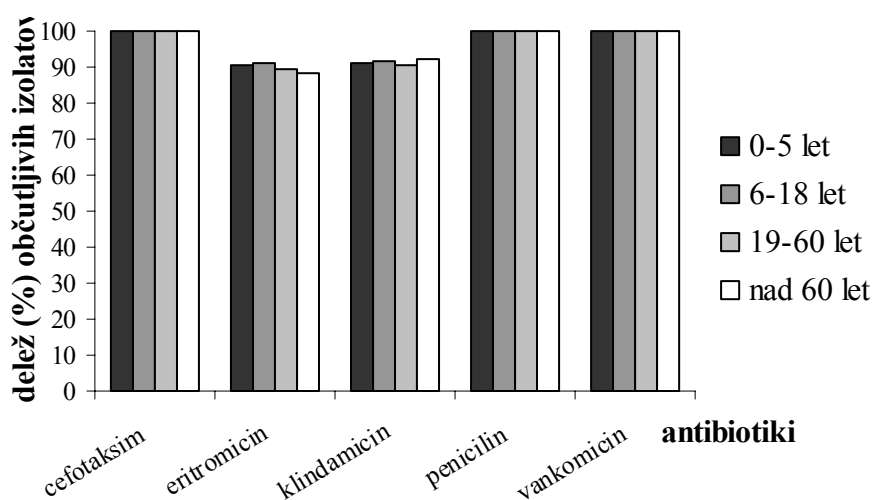
antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) po letih		
	2004	2005	2006
cefotaksim	271/271 (100)	140/140 (100)	258/258 (100)
eritromicin	247/271 (91,1)	123/140 (87,8)	234/258 (90,7)
klindamicin	250/271 (92,2)	125/140 (89,3)	236/258 (91,5)
penicilin	271/271 (100)	140/140 (100)	258/258 (100)
vankomicin	271/271 (100)	140/140 (100)	258/258 (100)

**Slika 29.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *S. pyogenes* med leti 2004-2006 na IMI MF.

Tudi med starostnimi skupinami pri *S. pyogenes* ni opaziti velikih odstopanj v občutljivosti na testirane antibiotike, kar prikazujeta preglednica 14 in priloga E2. Opazimo lahko le, da je število izolatov pri starostniki 11x nižje od najbolj prizadete skupine, šolarjev in mladine. Prav tako je nižje število izolatov *S. pyogenes* med odraslimi starimi med 19 in 60 let. Slika 23 prikazuje občutljivost izolatov *S. pyogenes* grafično.

**Preglednica 14.** Število in delež občutljivih izolatov *S. pyogenes* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.

antibiotik	število občutljivih izolatov glede na skupno število testiranih in delež (%) po starostnih skupinah			
	0-5 let	6-18 let	19-60 let	nad 60 let
cefotaksim	207/207 (100)	287/287 (100)	149/149 (100)	26/26 (100)
eritromicin	187/207 (90,3)	261/287 (90,9)	133/149 (89,3)	23/26 (88,5)
klindamicin	189/207 (91,3)	263/287 (91,6)	135/149 (90,6)	24/26 (92,3)
penicilin	207/207 (100)	287/287 (100)	149/149 (100)	26/26 (100)
vankomicin	207/207 (100)	287/287 (100)	149/149 (100)	26/26 (100)

**Slika 30.** Delež (%) za posamezne antibiotike občutljivih izolatov *M. catarrhalis* po starostnih skupinah na IMI MF.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

Najpogosteje uporabljeni antibiotiki za zdravljenje bakterijskih okužb dihal so  $\beta$ -laktami in makrolidi. Možna je tudi uporaba tetraciklinov, kinolonov, glikopeptidov ali kombinacija sulfonamidov s trimetoprimom. Slednji niso antibiotiki prvega izbora in se jih za okužbe dihal uporablja takrat, ko zdravljenje z antibiotikom prvega izbora ni uspešno (Lejko-Zupanc in sod., 2006). V svetu je iz leta v leto opazen porast deleža bakterijskih sevov, odpornih proti omenjenim antibiotikom. Ugotavljanje razširjenosti izolatov odpornih proti pogosto uporabljenim antibiotikom bodo prispevale k njihovi ustrežnejši uporabi, saj je smiselno, da se v primeru porasta deleža izolatov, odpornih proti določenemu antibiotiku, njihova uporaba omeji. Zato smo v raziskavi, v katero je bilo vključenih 1643 izolatov *Streptococcus pneumoniae*, 1092 izolatov *Haemophilus influenzae*, 752 izolatov *Moraxella catarrhalis* in 669 izolatov *Streptococcus pyogenes*, preverjali odpornost proti izbranim antibiotikom. Podatke smo statistično in grafično ovrednotili.

#### 5.1.1 Občutljivost izolatov *Streptococcus pneumoniae* za antibiotike

Po pričakovanjih so bili vsi izolati *S. pneumoniae* občutljivi za vankomicin. Za zdaj tudi v svetu še niso našli proti vankomicinu odpornih izolatov pnevmokokov. Tudi odpornosti proti moksifloksacinu v tem triletnem obdobju na IMI MF nismo našli. Občutljivost za penicilin je od leta 2004 (74,4 %) do leta 2006 (78,5 %) počasi naraščala (preglednica 4), razlike med leti in izolati zgornjih ter spodnjih dihal statistično niso značilne (preglednica 6, priloga B3). V naši raziskavi med odpornimi izolati prevladujejo tisti z nizko odpornostjo. Visoko odpornih izolatov je malo, v povprečju manj kot 5 %. V primerjavi s podatki raziskave GRASP (Beekmann in sod., 2005) med letoma 2002 in 2003, ki je bila izvedena v državah Evrope, vzhodne Azije in južne Afrike, je to še zmerne občutljivost, saj je ta raziskava v povprečju zabeležila le 70 % občutljivost pnevmokokov za penicilin. V Sloveniji te vrednosti kažejo na manjši padec v občutljivosti za penicilin, saj je bilo leta 2003 še 82,9 % občutljivih izolatov (nizko odpornih 16,6 %, visoko odpornih pa le 0,5 %) (Štrumbelj in sod., 2005 (b)). Pri občutljivosti pnevmokokov za penicilin glede na

starostne skupine opazimo občutno višji delež odpornosti pri predšolskih otrocih. Predvidevamo, da je temu tako, ker so ti otroci odpornostno še ne izkušeni. Prav zato se v vrtcih in jaslih lažje okužijo. Zaradi pogostosti teh okužb in njihovega zdravljenja (penicilin je zdravilo prvega izbora) je selekcijski pritisk močnejši, kar omogoča razvoj odpornih sevov. Statistično pomembna razlika je nastala v primerjavi te skupine z šolarji ( $p=0,003$ ), odraslimi ( $p=0,028$ ) ter starostniki ( $p=0,004$ ). Pri šolarjih in mladostnikih je delež občutljivih izolatov najvišji (preglednica 5, priloga B2).

Občutljivost slovenskih izolatov *S. pneumoniae* iz dihal za eritromicin je leta 2003 v povprečju znašala 87,7 % (Štrumbelj in sod., 2005b), v okviru raziskave GRASP (2002-2003) pa 68,8 % (Beekmann in sod., 2005). Na IMI MF se je delež občutljivih izolatov povečeval iz 78,3 % leta 2004 na 84,6 % leta 2006, statistično značilna rast je potekla med letoma 2004 in 2005. Glede na evropsko, južno afriško in vzhodno azijsko povprečje je občutljivost pnevmokokov za eritromicin na IMI MF še vedno visoka. Glede na starostno skupino, so izolati povprečno enako občutljivi, 80,0 % (predšolski otroci) – 83,3 % (šolarji). Leta 2004 in 2005 je bil delež za eritromicin občutljivih izolatov iz zgornjih dihal nekoliko višji kot pri izolatih iz spodnjih dihal. Zasedili smo počasno večanje deleža občutljivih izolatov. Leta 2006 delež odpornih izolatov iz zgornjih dihal naraste, medtem ko pri izolatih spodnjih dihal še vedno pada.

Tudi pri občutljivosti pnevmokokov za klindamicin se deleži niso bistveno spreminjali, v povprečju so znašali 90,9 %, kar je primerljiv rezultat s slovenskim povprečjem iz leta 2003, ki je znašal 90,2 % (Štrumbelj, in sod., 2005b). Med starostnimi skupinami je najbolj izstopala populacija predšolskih otrok. Razlog je verjetno enak kot pri penicilinu. Statistično nižji delež občutljivih izolatov, v primerjavi z ostalimi skupinami, najdemo prav pri njih. Razliko, ki je statistično pomembna najdemo tudi med mestom osamitve leta 2004 in leta 2006. Pri izolatih zgornjih dihal je bilo v primerjavi z izolati spodnjih dihal več odpornih izolatov. Leta 2004 je ta razlika 4,8 % ( $p=0,012$ ), leta 2006 pa 7,8 % ( $p=0,006$ ).

Delež izolatov *S. pneumoniae* osamljenih med leti 2004 in 2006, iz dihal, ki so bili občutljivi za trimetoprim s sulfometoksazolom, je v povprečju znašal 73,2 % in je počasi

naraščal (preglednica 3). Leta 2004 je bil 68,5 %, leta 2006 pa že 77,9 %. Delež občutljivih izolatov iz leta 2006 je višji od slovenskega povprečja v letu 2003, ko je bil delež za trimetoprim s sulfometoksazolom občutljivih izolatov pnevmokokov 73 % (Štrumbelj in sod., 2005b) in precej višji od povprečja raziskave GRASP med leti 2002 in 2003, ki je znašal 69,0 % (Beekmann in sod., 2005). Slovenija, je v tej smeri naredila korak naprej. Verjeten razlog je bolj omejena uporaba tega antibiotika. Razlike med spodnjimi in zgornjimi dihali statistično niso značilne. Pri starostnih skupinah je razlika očitnejša predvsem med predšolskimi otroci, ki imajo najnižji delež občutljivosti (67,2 %) v primerjavi s starostniki (73,8 %) in odraslimi, ki imajo ta delež najvišji (75,6 %,  $p=0,007$ ).

Delež pnevmokoknih izolatov, občutljivih za tetraciklin je v tem triletnem obdobju pri izolatih osamljenih na IMI MF počasi naraščal. Leta 2004 je znašal 82,0 %, leta 2006 pa 86,2 % (preglednica 3). Razlike med zgornjimi in spodnjimi dihali niso očitne, delež odpornih sevov iz spodnjih dihal je po pričakovanju nekoliko višji (Jacobs, 2003). Razlike so večje med starostnimi skupinami. Pri predšolskih otrocih se v 7,5 % pojavljajo bolj odporni sevi kot pri šolarjih ( $p=0,016$ ), med katerimi krožijo najbolj občutljivi sevi. Prav tako je statistično pomembna razlika med šolarji in odraslim ( $p=0,026$ ), katerih izolati so v 6,8 % manj občutljivi za tetraciklin.

### **5.1.2 Občutljivost izolatov *Haemophilus influenzae* za antibiotike**

Pri vseh izolatih *H. influenzae* osamljenih iz dihal v triletnem obdobju, nismo našli odpornosti proti fluorokinolonom III. generacije (moksifloksacinu), leta 2005 pa se je pojavil en izolat *H. influenzae* odporen proti ciprofloksacinu (od 312 testiranih). Občutljivost izolatov *H. influenzae* za večino testiranih antibiotikov je višja od 90 % oz. 99 %. Nekoliko nižji delež občutljivosti se pojavlja pri trimetoprimu s sulfometoksazolom in ampicilinu, kljub temu pa sta tudi ta deleža višja od 85 % (preglednica 7).

Proti ampicilinu odporni izolati so se v povprečju pojavljali v 10,1 %. Po podatkih raziskave GRASP, je bilo v povprečju v evropskih, vzhodno azijskih in južno afriških državah med letoma 2002 in 2003, teh izolatov 13 % (Beekmann in sod., 2005). V Sloveniji so leta 2003 zabeležili 12,7 % proti ampicilinu odpornih sevov (Ribič in sod.,

2005). Po starostnih skupinah (preglednica 8) in izolatih iz zgornjih ter spodnjih dihal (preglednica 9) statistično značilne razlike nismo ugotovili. Pri *H. influenzae* smo iskali tudi razlike v občutljivosti na  $\beta$ -laktame v kombinaciji z zaviralci  $\beta$ -laktamaz (amoksicilin s klavulansko kislino) in izolate odporne na cefalosporine prve in druge generacije (cefaklor, cefuroksim). Ti lahko nakazujejo delež BLNAR sevov. Vsi naši izolati so imeli občutljivost za našete antibiotike višjo od 98 %. Tako sklepamo, da je bil delež BLNAR sevov na IMI MF, med letom 2004 in 2006, minimalen, prav tako kot v drugih državah (Beekmann in sod., 2005). Ti izolati se večinoma pojavljajo med vzorci spodnjih dihal. Razlike v občutljivosti med starostnimi skupinami so bile statistično pričakovane.

Proti makrolidoma (azitromicinu in klaritromicinu) so se pojavljali odporni sevi *H. influenzae* le posamično. Delež za azitromicin občutljivih izolatov je bil med leti 2004 in 2006 na IMI MF višji od 99,5 % (preglednica 7). Zanimivo so se vsi odporni izolati pojavili pri odraslih med 19 in 60 letom starosti (preglednica 8). Delež za klaritromicin občutljivih izolatov je od leta 2004 (99,0 %) do leta 2006 (95,9 %) začel padati. Najhitreje med letoma 2005 in 2006, ko je razlika v občutljivosti tudi statistično značilna ( $p=0,027$ ). Verjetno se pri zdravljenju ta antibiotik pogosteje uporablja, selekcijski pritisk je tako večji. Med starostnimi skupinami in izolati zgornjih ter spodnjih dihal so razlike majhne, in statistično pričakovane. Kot pričakovano je višji delež odpornih izolatov osamljenih iz spodnjih dihal (Jacobs, 2003).

Med izolati *H. influenzae*, osamljenimi leta 2004 smo opazili 99,7 % za tetraciklin občutljivih izolatov. Ta delež je leta 2005 padel na komaj 92,6 % ( $p=0,000$ ) in leta 2006 narasel na 95,4 % ( $p=0,114$ ). Opazili smo, da je leta 2005 močno padel delež občutljivih izolatov iz zgornjih dihal. Leta 2004 jih je bilo še 100 %, leta 2005 pa le 89,6 %. Deleži odpornih izolatov iz spodnjih dihal, skozi triletno obdobje, so naraščali počasneje.

Delež proti trimetoprimu s sulfometoksazolom odpornih izolatov *H. influenzae* je v povprečju znašal 14,2 %, kar je nekoliko višji delež od slovenskega povprečja v letu 2003 (13,3 %) (Ribič in sod., 2005). Med starostnimi skupinami in zgornjimi ter spodnjimi dihali razlike niso velike.



### 5.1.3 Občutljivost izolatov *Moraxella catarrhalis* za antibiotike

Vsi izolati bakterije *M. catarrhalis* osamljeni med letoma 2004 in 2006 na IMI MF, so občutljivi za amoksicilin s klavulansko kislino, makrolida azitromicin in klaritromicin, cefalosporina cefotaksim in cefuroksim ter za moksifloksacin. Proti ciprofloksacinu se je leta 2005 pojavil en odporen izolat (1/135) pri vzorcu iz spodnjih dihal. Prav tako smo leta 2004 zabeležili en izolat (1/182) iz spodnjih dihal, ki je odporen proti cefakloru. Občutljivost za večino testiranih antibiotikov je tako skoraj 100 % (preglednica 10). Pojavlja pa se manj kot 10 % delež za ampicilin občutljivih izolatov. Izolati *M. catarrhalis* imajo tako nizek delež občutljivosti za ampicilin, da se ta za zdravljenje ne uporablja več. Med izolati *M. catarrhalis*, ki so bili osamljeni iz dihal na IMI MF, jih je bilo v povprečju občutljivih za ampicilin le še 8,2 %. Pri tem delež iz leta v leto pada. Leta 2004 9,3 %, leta 2006 le 6,9 %. Po podatkih raziskave GRASP je tako nizek delež primerljiv mednarodnemu povprečju, ki je med letoma 2002 in 2003 znašal le 6 % (Beekmann in sod., 2005). Statistično pomembne razlike so se pojavile med starostimi skupinami. Pri izolatih predšolskih otrok in šolarjev opazimo povprečno le 5,8 % delež občutljivih sevov, medtem ko je pri odraslih in starostnikih ta delež v povprečju 14,4 %. Takšen rezultat je bil pričakovan (Jacobs, 2003). Med izolati zgornjih dihal, se leta 2004 pojavljajo 3x bolj odporni izolati, kot pri spodnjih dihalih.

Leta 2005 se je pojavil izolat *M. catarrhalis* z nizko odpornostjo proti tetraciklinu. Do leta 2006 pa smo zabeležili že 5,4 % ( $p=0,004$ ) proti tetraciklinu odpornih (I/ R) izolatov. Med starostnimi skupinami in izolati zgornjih ter spodnjih dihal so bile razlike majhne in statistično pričakovane.

Podobno kot pri izolatih *H. influenzae* smo med izolati *M. catarrhalis* ugotovili pomembno velik delež proti trimetoprimu s sulfometoksazolom odpornih izolatov. Ta je v povprečju znašal 28,3 %. Največja razlika je nastala med letoma 2004 in 2005, ko je ta delež narasel iz 14,8 % na 38,5 % ( $p=0,000$ ) (preglednica 10, priloga D1). Več odpornih izolatov se pojavlja med vzorci spodnjih dihal. Leta 2004, je bila ta razlika največja (8,9 %) in statistično pomembna ( $p=0,041$ ) (preglednica 12, priloga D3). Verjetno je razlog v

pogostejši uporabi trietoprima s sulfometoksazolom pri zdravljenju, predvsem okužb spodnjih dihal.

#### 5.1.4 Občutljivost izolatov *Streptococcus pyogenes* za antibiotike

Po pričakovanjih so bili vsi izolati *S. pyogenes* občutljivi na penicilin, cefotaksim in vankomicin (preglednica 13). Delež proti eritromicinu odpornih izolatov je v povprečju znašal 10,1 %, z zanemarljivimi razlikami med leti in starostnimi skupinami. Po rezultatih študije GRASP so ti podatki pod mednarodnim povprečjem, saj je ta med letoma 2002 in 2003 znašal 11 % (Beekmann in sod., 2005). Prav tako se je leta 2003 v Sloveniji pojavljal višji, 10,8 % delež (Štrumbelj in sod., 2003).

Delež na klindamicin občutljivih sevov je po podatkih raziskave GRASP (2002-2003) 97 %, v Sloveniji pa se v povprečju že leta 2003 pojavlja le 90,7 % teh izolatov (Beekmann in sod., 2005; Štrumbelj in sod., 2005a). Mi smo zabeležili občutljivost med 89,3 % in 92,2 %, ti podatki so zaskrbljujoči, saj je občutljivost izolatov *S. pyogenes* nižja od mednarodnega povprečja. Pri tem razlika med starostnimi skupinami ni statistično značilna.

## 5.2 SKLEPI

- Pri izolatih *S. pneumoniae* osamljenih iz dihal na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, se pojavlja odpornost proti vsem antibiotikom razen proti vankomicinu in moksifloksacinu.
- Bolj odporni izolati *S. pneumoniae* so bili osamljeni pri predšolskih otrocih, kot pri šolarjih, odraslih in starostnikih.
- Delež za klindamicin občutljivih izolatov *S. pneumoniae* je med izolati zgornjih dihal nižji kot med izolati spodnjih dihal.
- Pri izolatih *H. influenzae* osamljenih iz dihal se pojavlja odpornost proti vsem testiranim antibiotikom razen moksifloksacina, s tem da je občutljivost pri večini preseгла 90 % oziroma 99 %.

- Med izolati *H. influenzae* je v povprečju najnižji delež za trimetoprim s sulfometoksazolom občutljivih izolatov (85,8 %), sledijo za ampicilin občutljivi izolati (89,9 %).
- Deleži izolatov *H. influenzae* občutljivih za amoksicilin s klavulansko kislino, cefalosporine, makrolide in tetraciklin presegajo 90 %.
- Pri izolatih *M. catarrhalis* iz dihal se pojavlja odpornost samo proti ampicilinu, tetraciklinu in trimetoprimu s sulfometoksazolom.
- Med izolati *M. catarrhalis* je daleč najnižji delež za ampicilin občutljivih izolatov, ki je nižji od 10 %.
- Delež na tetraciklin odpornih sevov *M. catarrhalis* v naši raziskavi statistično značilno narašča, medtem ko delež na trimetoprim s sulfonamidom odpornih sevov značilno niha.
- Pri izolatih *S. pyogenes* osamljenih iz dihal se pojavlja odpornost proti eritromicinu in klindamicinu, občutljivost za cefotaksim, penicilin in vankomicin je 100 %.

## 6 POVZETEK

Okužbe dihal so med najpogostejšimi okužbami. Pri tem so *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* in *S. pyogenes* najpogostejši bakterijski povzročitelji le-teh. Te bakterije lahko živijo kot patogeni v dihalnem traktu, zato so razvile številne virulenčne dejavnike, kot tudi mehanizme odpornosti proti antibiotikom, ki omogočajo uspešno razmnoževanje v gostitelju in zagotavljajo, v primeru zdravljenja, kompetitivno prednost pred občutljivimi sevi. Antibiotiki, ki so danes v uporabi delujejo bodisi na celično steno, citoplazmatsko membrano, beljakovinsko biosintezo ali sintezo nukleinskih kislin in tako preprečujejo normalno delovanje bakterije. Bakterije pa so za neovirano rast in razmnoževanje v prisotnosti antibiotikov razvile številne mehanizme odpornosti proti antibiotikom, ki vključujejo spremenjeno tarčo, na katero antibiotik deluje ali spremenjeno prepustnost membrane, lahko mehanizem črpanja antibiotika iz celice, ali sintezo encimov, ti razgradijo oziroma inaktivirajo antibiotik. Zaradi povečane uporabe antibiotikov je vedno več bakterij odpornih proti njim. V tej diplomski nalogi smo se poglobili v raziskovanje deležev odpornih sevov *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* in *S. pyogenes* proti antibiotikom.

Pri tem smo uporabili vzorce iz rutine, ki so bili obdelani med leti 2004 in 2006 na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani. Namen je bil ugotoviti, ali se občutljivost teh bakterij še naprej spreminja in kakšen trend lahko opazimo.

Razlike v občutljivosti bakterij smo s pomočjo Pearsonove  $\chi^2$  statistike statistično ovrednotili. Pri tem smo primerjali izolate glede na leto osamitve, starostno skupino in pri *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ter *M. catarrhalis* še glede na mesto osamitve.

Pri *S. pneumoniae* smo primerjali razlike v občutljivost za eritromicin, klindamicin, moksifloksacin, penicilin, tetraciklin, trimetoprim s sulfometoksazolom in vankomicin. Deleži občutljivih izolatov so za vse testirane antibiotike nižji od slovenskega povprečje v letu 2003 in primerljivi z evropskim povprečjem med letoma 2002 in 2003. Leta 2005 je delež za eritromicin občutljivih izolatov statistično pomembno narasel. Delež za

trimetoprim s sulfometoksazolom in za tetraciklin občutljivih izolatov je skozi triletno obdobje počasi naraščal, delež za klindamicin občutljivih izolatov pa je ostajal konstanten. Opazimo lahko, da delež za penicilin občutljivih izolatov iz zgornjih dihal počasi narašča, pri tem je delež za penicilin občutljivih izolatov iz spodnjih dihal nekoliko višji od deleža za penicilin občutljivih izolatov iz zgornjih dihal. Proti penicilinu nizko odporni izolati so 3,5 x pogostejši kot visoko odporni izolati. Izolati predšolskih otrok so bolj odporni proti klindamicinu, penicilinu, tetraciklinu in trimetoprimu s sulfometoksazolom v primerjavi s šolarji, odraslimi oziroma starostniki. Med izolati zgornjih in spodnjih dihal so statistično pomembne razlike pri občutljivosti za klindamicin. Leta 2004 je več odpornih izolatov iz zgornjih dihal, leta 2006 pa iz spodnjih. Deleži občutljivih izolatov, glede na mesto osamitve, so pri drugih antibiotikih primerljivejši.

Izolati bakterij *H. influenzae* in *M. catarrhalis*, ki so bili testirani za amoksicilin s klavulansko kislino, ampicilin, azitromicin, cefaklor, cefotaksim, cefuroksim, ciprofloksacin, klaritromicin, moksifloksacin, tetraciklin in trimetoprim s sulfometoksazolom smo prav tako opazili višji delež odpornih izolatov glede na slovensko povprečje iz preteklih let. Pri izolatih *H. influenzae* se pojavlja odpornost proti vsem antibiotikom razen proti moksifloksacinu, vendar so deleži občutljivih izolatov višji od 90 % oz 99 %. Najnižja sta deleža za trimetoprim s sulfometoksazolom in za ampicilin občutljivih izolatov, vendar sta oba višja od 85 %. Statistično značilne razlike se pojavljajo pri občutljivosti za cefuroksim, klaritromicin in tetraciklin. Pri tem delež odpornih izolatov, od leta 2004 do 2006, narašča. Izolati *M. catarrhalis*, osamljeni iz dihal so popolno občutljivi za amoksicilin s klavulansko kislino, azitromicin, cefotaksim, cefuroksim, klaritromicin in moksifloksacin. Po en odporen izolat smo zabeležili pri cefakloru in ciprofloksacinu. Daleč najnižjo občutljivost imajo izolati *M. catarrhalis* za ampicilin. Ta je nižja od 10 %. V letu 2006 se tako pojavlja le še 6,9 % za ampicilin občutljivih izolatov. Občutljivost izolatov *M. catarrhalis* se je med leti 2004 in 2006 statistično značilna znižala za trimetoprim s sulfometoksazolom, ter za tetraciklin. Izolati *H. influenzae* se v občutljivosti za testirane antibiotike med starostnimi skupinami ne razlikujejo. Statistično značilno nižji delež občutljivih izolatov je pri odraslih v primerjavi s starostniki za azitromicin. Tudi izolati *M. catarrhalis* so po občutljivosti za testirane antibiotike med starostnimi skupinami primerljivi. Statistično značilno nižji delež

občutljivih izolatov je pri predšolskih otrocih in šolarjih za ampicilin. Prav tako je značilno nižji delež za ampicilin občutljivih izolatov osamljen iz zgornjih dihal leta 2004. Leta 2004 so izolati spodnjih dihal statistično značilno odpornejši proti trimetoprimu s sulfometoksazolom.

Izolati *S. pyogenes*, osamljeni iz dihal, so v celoti občutljivi za cefotaksim, penicilin in vankomicin. Delež za eritromicin občutljivih izolatov počasi pada. Delež za klindamicin občutljivih izolatov pa samo niha. Pri tem razlike statistično niso značilne. Deleži odpornih izolatov so nekoliko višji od slovenskega povprečja leta 2003.

Z diplomsko nalogo smo dokazali, da je pri *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* in *S. pyogenes*, občutljivost za testirane antibiotikov višja od slovenskega povprečja iz leta 2003. Med izolati zgornjih dihal v povprečju najdemo višjo občutljivost za testirane antibiotike kot med izolati spodnjih dihal. Izolati predšolskih otrok so običajno odpornejši za testirane antibiotike v primerjavi z ostalimi starostnimi skupinami, oziroma so številčno največje starostne skupine odpornejši od številčno manjših skupin.

## 7 VIRI

- Adrian P.V., Du Plessis M., Klugman K.P., Amyes S.G.B. 1998. New trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase cassette, *dhfrXV*, insertet in a class 1 integron. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42, 9: 2221-2224
- Arvand M., Hoeck M., Hahn H., Wagner J. 2000. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pyogenes* isolates in Berlin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46: 621-623
- Barry A.L., Fushs P.C., Brown S.D. 2001. Identification of  $\beta$ -lactamase-negative, ampicillin-resistant strains of *Haemophilus influenzae* with four methods and eight media. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 5: 1585-1588
- Beekmann S.E., Heilmann K.P., Richter S.S., Garcia-de-Lomas J., Doern G.V. 2005. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and group A  $\beta$ -haemolytic streptococci in 2002-2003. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25: 148-156
- Bergman M., Huikko S., Huovinen P., Paakkari P., Seppälä H. 2006. Macrolide and azitromycin use are linked to increased macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50, 11: 3646-3650
- Bergman M., Huikko S., Pihlajamäki M., Laippala P., Palva E., Huovinen P., Seppälä H. 2004. Effect of macrolide consumption on erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes* in Finland in 1997-2001. *Clinical Infection Diseases*, 38, 9:1251-1256
- Blondeau J.M., Suter M., Borsos S. 1999. Determination of antimicrobial susceptibilities of Canadian isolates of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44, Suppl A: 25-30
- Bootsma H.J., van Dijk H., Verhoef J., Fler A., Mooi F.R. 1996. Molecular characterization of the BRO  $\beta$ -lactamase of *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40, 4: 966-972
- Charpentier E., Tuomanen E. 2000. Mechanisms of antibiotic resistance and tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbes and Infection*, 2: 1855-1864
- Čižman M., Beovič B., Seme K., Paragi M., Štrumbelj I., Müller-Premru M., Čad-Pečar S., Pokorn M. 2006. Macrolide resistance rates in respiratory pathogens in Slovenia following reduced macrolide use. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28: 537-542
- Čižman M., Seme K. 2004. Povzročitelji okužb zgornjih dihal in diagnostika. *Krka v medicini in farmaciji*, 25, 37: 14-24

- Denver L.A., Dermody T.S. 1991. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Archives of Internal medicine*, 151, 5: 886-895
- Doern G.V., Jones R.N., Pfaller M.A., Kugler K. 1999. *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from patients with community-acquired respiratory tract infections: antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43, 2: 385-389
- Forbes B.A., Sohm D.F., Weissfeld A.S. 2002a. Laboratory methods for detection of antibacterial resistance. V: Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 11<sup>th</sup> ed. Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. (eds.). St. Louis, Mosby: 229-250
- Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. 2002b. Infections of the lower respiratory tract. V: Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 11<sup>th</sup> ed. Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. (eds.). St. Louis, Mosby: 884-898
- Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. 2002c. Upper respiratory tract infections and other infections of the oral cavity and neck. V: Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 11<sup>th</sup> ed. Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. (eds.). St. Louis, Mosby: 899-906
- Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. 2002d. Infections of the eyes, eares, and sinuses. V: Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 11<sup>th</sup> ed. Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. (eds.). St. Louis, Mosby: 917-926
- Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. 2002e. Principles of antimicrobial action and resistance. V: Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 11<sup>th</sup> ed. Forbes B.A, Sohm D.F., Weissfeld A.S. (eds.). St. Louis, Mosby: 214-228
- Grivea I.N., Al-Lahham A., Katopodis G.D., Syrogiannopoulos G.A., Reinert R.R. 2006. Resistance to erythromycin and telitromycin in *Streptococcus pyogenes* isolates obtained between 1999 and 2002 from Greek children with tonsillopharyngitis: phenotypic and genotypic analysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50, 1: 256-261
- Houvinen P., Sundström L., Swedberg G., Sköld O. 1995. Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47, 2: 559-562
- Hryniewicz W. 2005. Spremljanje odpornosti bakterij- ključne ugotovitve. *Zdravstveno varstvo*, 44, 2: 58-60
- Ihan A. 2002. Okužbe dihal. V: *Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo*. Gubina M., Ihan A. (ur). Ljubljana, Medicinski razgledi: 353-358
- Izdebski R., Sadowy E., Fielt J., Grzesiowski P., Gniadkowski M., Hryniewicz W. 2007. Clonal diversity and resistance mechanisms in tetracycline-nonsusceptible



*Streptococcus pneumoniae* isolates in Poland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 4: 1155-1163

Jacobs M.R. 2003. Worldwide trends in antimicrobial resistance among common respiratory track pathogens in children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 22, Suppl 8: S109-S118

Jones M.E., Karlowsky J.A., Blosser-Middletone R., Critchley I., Thornsberry C., Sahn D.F. 2002. Relationship between antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* and that in *Haemophilus influenzae*: Evidence for common selective pressure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, 9: 3106-3107

Kim I., Ki C., Kim S., Oh W.S., Peck K.R., Song J., Lee K., Lee N.Y. 2007. Diversity of ampicillin resistance genes and antimicrobial susceptibility patterns in *Haemophilus influenzae* strains isolated in Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 2: 453-460

Košmelj K. 2001. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 177-185

Kotnik V. 2001. Kje in kako delujejo antibiotiki v celici. V: Mikrobi in antibiotiki 2001. Mikrobiološki simpozij z mednarodno udeležbo (zbornik predavanj), Medicinska fakulteta v Ljubljani, Ljubljana 22.-23. jun. 2001. Sekcija za klinično mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani: 17-25

Kotnik V. 2002. Antibiotiki in kemoterapevtiki. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 427-438

LaPlante K.L., Rybak M.J., Tsuji B., Lodise T.P., Kaatz G.W. 2007. Fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*: Area under the concentration-time curve/MIC ratio and resistance development with gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 4: 1315-1320

Leclercq R., Courvaline P. 2002. Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, 9: 2727-2734

Lejko-Zupanc T., Beović B., Mušič E. 2006. Zdravljenje zunajbolnišnične pljučnice (ZBP) odraslih. V: Zbornik predavanj. Infektološki simpozij 2006. Ljubljana 2006. Beović B., Strle F., Čížman M. (ur.). Ljubljana, Sekcija za kemoterapijo SZD, Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja Klinični center Ljubljana, Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani: 129-142

Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2000. Brock biology of microorganisms. 9<sup>th</sup> ed. Upper Saddle River, Prentice-Hall International: 991 str

- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2003a. Industrial microbiology/ biocatalysis. V: Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. Brock biology of microorganisms. 10<sup>th</sup> ed. Upper Saddle River, Prentice-Hall International: 965-993
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2003b. Prokaryotic diversity: *Bacteria*. V: Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. Brock biology of microorganisms. 10<sup>th</sup> ed. Upper Saddle River, Prentice-Hall International: 351-444 (b)
- Martinez J.L., Baquero F. 2000. Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 7: 1771-1777
- Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Tenover F.C., Tenover P.C., Tenover J.C., Tenover M.C., Tenover K.C., Tenover L.C., Tenover R.C., Tenover S.C., Tenover T.C., Tenover U.C., Tenover V.C., Tenover W.C., Tenover X.C., Tenover Y.C., Tenover Z.C., Tenover AA.C., Tenover AB.C., Tenover AC.C., Tenover AD.C., Tenover AE.C., Tenover AF.C., Tenover AG.C., Tenover AH.C., Tenover AI.C., Tenover AJ.C., Tenover AK.C., Tenover AL.C., Tenover AM.C., Tenover AN.C., Tenover AO.C., Tenover AP.C., Tenover AQ.C., Tenover AR.C., Tenover AS.C., Tenover AT.C., Tenover AU.C., Tenover AV.C., Tenover AW.C., Tenover AX.C., Tenover AY.C., Tenover AZ.C., Tenover BA.C., Tenover BB.C., Tenover BC.C., Tenover BD.C., Tenover BE.C., Tenover BF.C., Tenover BG.C., Tenover BH.C., Tenover BI.C., Tenover BJ.C., Tenover BK.C., Tenover BL.C., Tenover BM.C., Tenover BN.C., Tenover BO.C., Tenover BP.C., Tenover BQ.C., Tenover BR.C., Tenover BS.C., Tenover BT.C., Tenover BU.C., Tenover BV.C., Tenover BW.C., Tenover BX.C., Tenover BY.C., Tenover BZ.C., Tenover CA.C., Tenover CB.C., Tenover CC.C., Tenover CD.C., Tenover CE.C., Tenover CF.C., Tenover CG.C., Tenover CH.C., Tenover CI.C., Tenover CJ.C., Tenover CK.C., Tenover CL.C., Tenover CM.C., Tenover CN.C., Tenover CO.C., Tenover CP.C., Tenover CQ.C., Tenover CR.C., Tenover CS.C., Tenover CT.C., Tenover CU.C., Tenover CV.C., Tenover CW.C., Tenover CX.C., Tenover CY.C., Tenover CZ.C., Tenover DA.C., Tenover DB.C., Tenover DC.C., Tenover DD.C., Tenover DE.C., Tenover DF.C., Tenover DG.C., Tenover DH.C., Tenover DI.C., Tenover DJ.C., Tenover DK.C., Tenover DL.C., Tenover DM.C., Tenover DN.C., Tenover DO.C., Tenover DP.C., Tenover DQ.C., Tenover DR.C., Tenover DS.C., Tenover DT.C., Tenover DU.C., Tenover DV.C., Tenover DW.C., Tenover DX.C., Tenover DY.C., Tenover DZ.C., Tenover EA.C., Tenover EB.C., Tenover EC.C., Tenover ED.C., Tenover EE.C., Tenover EF.C., Tenover EG.C., Tenover EH.C., Tenover EI.C., Tenover EJ.C., Tenover EK.C., Tenover EL.C., Tenover EM.C., Tenover EN.C., Tenover EO.C., Tenover EP.C., Tenover EQ.C., Tenover ER.C., Tenover ES.C., Tenover ET.C., Tenover EU.C., Tenover EV.C., Tenover EW.C., Tenover EX.C., Tenover EY.C., Tenover EZ.C., Tenover FA.C., Tenover FB.C., Tenover FC.C., Tenover FD.C., Tenover FE.C., Tenover FF.C., Tenover FG.C., Tenover FH.C., Tenover FI.C., Tenover FJ.C., Tenover FK.C., Tenover FL.C., Tenover FM.C., Tenover FN.C., Tenover FO.C., Tenover FP.C., Tenover FQ.C., Tenover FR.C., Tenover FS.C., Tenover FT.C., Tenover FU.C., Tenover FV.C., Tenover FW.C., Tenover FX.C., Tenover FY.C., Tenover FZ.C., Tenover GA.C., Tenover GB.C., Tenover GC.C., Tenover GD.C., Tenover GE.C., Tenover GF.C., Tenover GG.C., Tenover GH.C., Tenover GI.C., Tenover GJ.C., Tenover GK.C., Tenover GL.C., Tenover GM.C., Tenover GN.C., Tenover GO.C., Tenover GP.C., Tenover GQ.C., Tenover GR.C., Tenover GS.C., Tenover GT.C., Tenover GU.C., Tenover GV.C., Tenover GW.C., Tenover GX.C., Tenover GY.C., Tenover GZ.C., Tenover HA.C., Tenover HB.C., Tenover HC.C., Tenover HD.C., Tenover HE.C., Tenover HF.C., Tenover HG.C., Tenover HH.C., Tenover HI.C., Tenover HJ.C., Tenover HK.C., Tenover HL.C., Tenover HM.C., Tenover HN.C., Tenover HO.C., Tenover HP.C., Tenover HQ.C., Tenover HR.C., Tenover HS.C., Tenover HT.C., Tenover HU.C., Tenover HV.C., Tenover HW.C., Tenover HX.C., Tenover HY.C., Tenover HZ.C., Tenover IA.C., Tenover IB.C., Tenover IC.C., Tenover ID.C., Tenover IE.C., Tenover IF.C., Tenover IG.C., Tenover IH.C., Tenover II.C., Tenover IJ.C., Tenover IK.C., Tenover IL.C., Tenover IM.C., Tenover IN.C., Tenover IO.C., Tenover IP.C., Tenover IQ.C., Tenover IR.C., Tenover IS.C., Tenover IT.C., Tenover IU.C., Tenover IV.C., Tenover IW.C., Tenover IX.C., Tenover IY.C., Tenover IZ.C., Tenover JA.C., Tenover JB.C., Tenover JC.C., Tenover JD.C., Tenover JE.C., Tenover JF.C., Tenover JG.C., Tenover JH.C., Tenover JI.C., Tenover JJ.C., Tenover JK.C., Tenover JL.C., Tenover JM.C., Tenover JN.C., Tenover JO.C., Tenover JP.C., Tenover JQ.C., Tenover JR.C., Tenover JS.C., Tenover JT.C., Tenover JU.C., Tenover JV.C., Tenover JW.C., Tenover JX.C., Tenover JY.C., Tenover JZ.C., Tenover KA.C., Tenover KB.C., Tenover KC.C., Tenover KD.C., Tenover KE.C., Tenover KF.C., Tenover KG.C., Tenover KH.C., Tenover KI.C., Tenover KJ.C., Tenover KK.C., Tenover KL.C., Tenover KM.C., Tenover KN.C., Tenover KO.C., Tenover KP.C., Tenover KQ.C., Tenover KR.C., Tenover KS.C., Tenover KT.C., Tenover KU.C., Tenover KV.C., Tenover KW.C., Tenover KX.C., Tenover KY.C., Tenover KZ.C., Tenover LA.C., Tenover LB.C., Tenover LC.C., Tenover LD.C., Tenover LE.C., Tenover LF.C., Tenover LG.C., Tenover LH.C., Tenover LI.C., Tenover LJ.C., Tenover LK.C., Tenover LL.C., Tenover LM.C., Tenover LN.C., Tenover LO.C., Tenover LP.C., Tenover LQ.C., Tenover LR.C., Tenover LS.C., Tenover LT.C., Tenover LU.C., Tenover LV.C., Tenover LW.C., Tenover LX.C., Tenover LY.C., Tenover LZ.C., Tenover MA.C., Tenover MB.C., Tenover MC.C., Tenover MD.C., Tenover ME.C., Tenover MF.C., Tenover MG.C., Tenover MH.C., Tenover MI.C., Tenover MJ.C., Tenover MK.C., Tenover ML.C., Tenover MN.C., Tenover MO.C., Tenover MP.C., Tenover MQ.C., Tenover MR.C., Tenover MS.C., Tenover MT.C., Tenover MU.C., Tenover MV.C., Tenover MW.C., Tenover MX.C., Tenover MY.C., Tenover MZ.C., Tenover NA.C., Tenover NB.C., Tenover NC.C., Tenover ND.C., Tenover NE.C., Tenover NF.C., Tenover NG.C., Tenover NH.C., Tenover NI.C., Tenover NJ.C., Tenover NK.C., Tenover NL.C., Tenover NM.C., Tenover NO.C., Tenover NP.C., Tenover NQ.C., Tenover NR.C., Tenover NS.C., Tenover NT.C., Tenover NU.C., Tenover NV.C., Tenover NW.C., Tenover NX.C., Tenover NY.C., Tenover NZ.C., Tenover OA.C., Tenover OB.C., Tenover OC.C., Tenover OD.C., Tenover OE.C., Tenover OF.C., Tenover OG.C., Tenover OH.C., Tenover OI.C., Tenover OJ.C., Tenover OK.C., Tenover OL.C., Tenover OM.C., Tenover ON.C., Tenover OO.C., Tenover OP.C., Tenover OQ.C., Tenover OR.C., Tenover OS.C., Tenover OT.C., Tenover OU.C., Tenover OV.C., Tenover OW.C., Tenover OX.C., Tenover OY.C., Tenover OZ.C., Tenover PA.C., Tenover PB.C., Tenover PC.C., Tenover PD.C., Tenover PE.C., Tenover PF.C., Tenover PG.C., Tenover PH.C., Tenover PI.C., Tenover PJ.C., Tenover PK.C., Tenover PL.C., Tenover PM.C., Tenover PN.C., Tenover PO.C., Tenover PP.C., Tenover PQ.C., Tenover PR.C., Tenover PS.C., Tenover PT.C., Tenover PU.C., Tenover PV.C., Tenover PW.C., Tenover PX.C., Tenover PY.C., Tenover PZ.C., Tenover QA.C., Tenover QB.C., Tenover QC.C., Tenover QD.C., Tenover QE.C., Tenover QF.C., Tenover QG.C., Tenover QH.C., Tenover QI.C., Tenover QJ.C., Tenover QK.C., Tenover QL.C., Tenover QM.C., Tenover QN.C., Tenover QO.C., Tenover QP.C., Tenover QQ.C., Tenover QR.C., Tenover QS.C., Tenover QT.C., Tenover QU.C., Tenover QV.C., Tenover QW.C., Tenover QX.C., Tenover QY.C., Tenover QZ.C., Tenover RA.C., Tenover RB.C., Tenover RC.C., Tenover RD.C., Tenover RE.C., Tenover RF.C., Tenover RG.C., Tenover RH.C., Tenover RI.C., Tenover RJ.C., Tenover RK.C., Tenover RL.C., Tenover RM.C., Tenover RN.C., Tenover RO.C., Tenover RP.C., Tenover RQ.C., Tenover RR.C., Tenover RS.C., Tenover RT.C., Tenover RU.C., Tenover RV.C., Tenover RW.C., Tenover RX.C., Tenover RY.C., Tenover RZ.C., Tenover SA.C., Tenover SB.C., Tenover SC.C., Tenover SD.C., Tenover SE.C., Tenover SF.C., Tenover SG.C., Tenover SH.C., Tenover SI.C., Tenover SJ.C., Tenover SK.C., Tenover SL.C., Tenover SM.C., Tenover SN.C., Tenover SO.C., Tenover SP.C., Tenover SQ.C., Tenover SR.C., Tenover SS.C., Tenover ST.C., Tenover SU.C., Tenover SV.C., Tenover SW.C., Tenover SX.C., Tenover SY.C., Tenover SZ.C., Tenover TA.C., Tenover TB.C., Tenover TC.C., Tenover TD.C., Tenover TE.C., Tenover TF.C., Tenover TG.C., Tenover TH.C., Tenover TI.C., Tenover TJ.C., Tenover TK.C., Tenover TL.C., Tenover TM.C., Tenover TN.C., Tenover TO.C., Tenover TP.C., Tenover TQ.C., Tenover TR.C., Tenover TS.C., Tenover TT.C., Tenover TU.C., Tenover TV.C., Tenover TW.C., Tenover TX.C., Tenover TY.C., Tenover TZ.C., Tenover UA.C., Tenover UB.C., Tenover UC.C., Tenover UD.C., Tenover UE.C., Tenover UF.C., Tenover UG.C., Tenover UH.C., Tenover UI.C., Tenover UJ.C., Tenover UK.C., Tenover UL.C., Tenover UM.C., Tenover UN.C., Tenover UO.C., Tenover UP.C., Tenover UQ.C., Tenover UR.C., Tenover US.C., Tenover UT.C., Tenover UU.C., Tenover UV.C., Tenover UW.C., Tenover UX.C., Tenover UY.C., Tenover UZ.C., Tenover VA.C., Tenover VB.C., Tenover VC.C., Tenover VD.C., Tenover VE.C., Tenover VF.C., Tenover VG.C., Tenover VH.C., Tenover VI.C., Tenover VJ.C., Tenover VK.C., Tenover VL.C., Tenover VM.C., Tenover VN.C., Tenover VO.C., Tenover VP.C., Tenover VQ.C., Tenover VR.C., Tenover VS.C., Tenover VT.C., Tenover VU.C., Tenover VV.C., Tenover VW.C., Tenover VX.C., Tenover VY.C., Tenover VZ.C., Tenover WA.C., Tenover WB.C., Tenover WC.C., Tenover WD.C., Tenover WE.C., Tenover WF.C., Tenover WG.C., Tenover WH.C., Tenover WI.C., Tenover WJ.C., Tenover WK.C., Tenover WL.C., Tenover WM.C., Tenover WN.C., Tenover WO.C., Tenover WP.C., Tenover WQ.C., Tenover WR.C., Tenover WS.C., Tenover WT.C., Tenover WU.C., Tenover WV.C., Tenover WX.C., Tenover WY.C., Tenover WZ.C., Tenover XA.C., Tenover XB.C., Tenover XC.C., Tenover XD.C., Tenover XE.C., Tenover XF.C., Tenover XG.C., Tenover XH.C., Tenover XI.C., Tenover XJ.C., Tenover XK.C., Tenover XL.C., Tenover XM.C., Tenover XN.C., Tenover XO.C., Tenover XP.C., Tenover XQ.C., Tenover XR.C., Tenover XS.C., Tenover XT.C., Tenover XU.C., Tenover XV.C., Tenover XW.C., Tenover XX.C., Tenover XY.C., Tenover XZ.C., Tenover YA.C., Tenover YB.C., Tenover YC.C., Tenover YD.C., Tenover YE.C., Tenover YF.C., Tenover YG.C., Tenover YH.C., Tenover YI.C., Tenover YJ.C., Tenover YK.C., Tenover YL.C., Tenover YM.C., Tenover YN.C., Tenover YO.C., Tenover YP.C., Tenover YQ.C., Tenover YR.C., Tenover YS.C., Tenover YT.C., Tenover YU.C., Tenover YV.C., Tenover YW.C., Tenover YX.C., Tenover YY.C., Tenover YZ.C., Tenover ZA.C., Tenover ZB.C., Tenover ZC.C., Tenover ZD.C., Tenover ZE.C., Tenover ZF.C., Tenover ZG.C., Tenover ZH.C., Tenover ZI.C., Tenover ZJ.C., Tenover ZK.C., Tenover ZL.C., Tenover ZM.C., Tenover ZN.C., Tenover ZO.C., Tenover ZP.C., Tenover ZQ.C., Tenover ZR.C., Tenover ZS.C., Tenover ZT.C., Tenover ZU.C., Tenover ZV.C., Tenover ZW.C., Tenover ZX.C., Tenover ZY.C., Tenover ZZ.C.
- Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. 2002a. *Streptococcus*. V: Medical microbiology. 4<sup>th</sup> ed. Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. St. Louis, Mosby: 217-235
- Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. 2002b. Pasteurellaceae. V: Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. Medical microbiology. 4<sup>th</sup> ed.. St. Louis, Mosby: 317-324
- Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. 2002c. Antibacterial agents. V: Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. Medical microbiology. 4<sup>th</sup> ed. St. Louis, Mosby: 185-194
- Palavecino E.L., Riedel I., Berrios X., Bajaksouzian S., Johnson D., Kaplan E., Jacobs M.R. 2001. Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* in Santiago, Chile. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 1: 339-341
- Pokorn M., Gros A. 2004. Vnetje zunanjega in srednjega ušesa. Krka v medicini in farmaciji, 25, 37: 60-71
- Reynolds R., Shackcloth J., Felmingham D., MacGowan A. 2003. Antimicrobial susceptibility of lower respiratory tract pathogens in Great Britain and Ireland 1999-2001 related to demographic and geographical factors: the BSAC respiratory resistance surveillance programme. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52: 931-943
- Ribič H., Štrumbelj I., Franko-Kancler T., Čretnik T.Ž., Sarjanovič L., Košnik I.G., Kavčič M., Hartlander T. 2005. Nacionalno spremljanje odpornosti pri sevih *Haemophilus influenzae* iz dihal v Sloveniji v letu 2003. *Zdravstveno varstvo*, 44, 2: 74-79
- Richter S.S., Heilmann K.P., Beekmann S.E., Miller N.J., Miller A.L., Rice C.L., Doern C.D., Reid S.D., Doern G.V. 2005. Macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in the United States, 2002-2003. *Clinical Infectious Diseases*, 41: 599-608
- Sadowy E., Izdebski R., Skoczyńska A., Grzesiowski P., Gniadkowski M., Hryniewicz W. 2007. Phenotypic and molecular analysis of penicillin-nonsusceptible *Streptococcus*

*pneumoniae* isolates in Poland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 1: 40-47

Schito G.C. 2002. Is antimicrobial resistance also subject to globalization? *Clinical Microbiology and Infection: the official publication of the European society of clinical microbiology and infectious diseases*, 8, suppl 3: 1-8

Seme K., Mueller-Premru M. 2003. Spremljanje občutljivosti izolatov *Streptococcus pyogenes* in *Streptococcus pneumoniae*, osamljenih na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani od leta 1994 do 2002. *Medicinski razgledi*, 42, suppl 1: 11-21

Seme K., Štrumbelj I., Ribič H., Tomič V., Kancler T.F., Zdolšek B., Božanič V., Troha B.N., Dermota U., Sarjanovič L., Fišer J., Kavčič M., Harlander T., Vrabič V., Sodja E. 2006. Občutljivost povzročiteljev okužb dihal za antibiotike v Sloveniji. V: Zbornik predavanj, Infektološki simpozij 2006. Ljubljana 2006. Beović B., Strle F., Čižman M. (ur.). Ljubljana, Sekcija za kemoterapijo SZD, Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja Klinični center Ljubljana, Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani: 55-65

Spudič Š., Lotrič-Furlan S. 2004. Akutno in kronično vnetje obnosnih votlin. *Krka v medicini in farmaciji*, 25, 37: 48-59

Štrumbelj I., Ribič H., Franko-Kancler T., Božanič V., Dermota U., Sarjanovič L., Kavčič M., Harlander T. 2005a. *Streptococcus pyogenes* – porast odpornosti izolatov iz dihal leta 2003. *Zdravstveno varstvo*, 44, 2: 69-73

Štrumbelj I., Ribič H., Franko-Kancler T., Božanič V., Košnik I.G., Sarjanovič L., Kavčič M., Harlander T. 2003. *Streptococcus pyogenes* in *Streptococcus pneumoniae*-odpornost izolatov iz dihal v prvem tričetrtletju leta 2001 in 2002. Infektološki simpozij 2003. *Medicinski razgledi*, 42, suppl 1: 3-10

Štrumbelj I., Ribič H., Franko-Kancler T., Božanič V., Košnik I.G., Sarjanovič L., Kavčič M., Harlander T. 2005b. Odpornost izolatov *Streptococcus pneumoniae* iz dihal v letu 2003. *Zdravstveno varstvo*, 44, 2: 80-84

Uh Y., Jang I.H., Hwang G.Y., Lee M.K., Yoon K.J., Kim H.Y. 2004. Antimicrobial susceptibility patterns and macrolide resistance genes of  $\beta$ -hemolytic streptococci in Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 7: 2716-2718

Zhanel G.G., Palatnick L., Nichol K.A., Bellyou T., Low D.E., Hoban D.J. 2003. Antimicrobial resistance in respiratory tract *Streptococcus pneumoniae* isolates: results of the Canadian respiratory organism susceptibility study, 1997 to 2002. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47, 6: 1867-1874

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentorici, prof. dr. Katji Seme, ki mi je omogočila izdelavo diplomske naloge pod svojim mentorstvom, ter doc. dr. Evi Ružić Sabljic za korekten pregled diplomske naloge.

Zahvala tudi vsem sošolcem in sošolkam za zapiske tekom študija, Emini in Petri tudi za spodbudo.

Največja zahvala pa gre moji mami in bratu, za moralno in finančno pomoč skozi vsa leta študija.

Hvala tudi Aljoši, ter vsem dolgoletnim prijateljem, ki so verjeli vame, me podpirali in mi ves čas stali ob strani.

## PRILOGE

### Priloga A

#### $\chi^2$ -PORAZDELITVE

V tabeli je za verjetnost  $\alpha$  in za stopnje prostosti SP navedena vrednost  $\chi^2_\alpha$ , za katero velja

$P(\chi^2 \geq \chi^2_\alpha) = \alpha$ . Primer: za  $\alpha = 0,05$  in  $SP = 1$  odčitamo  $\chi^2_\alpha = 3,841$ . (Košmelj, 2001: 208)

SP	$\alpha$							
	0,995	0,99	0,975	0,95	0,05	0,025	0,01	0,005
1	0,000	0,000	0,001	0,004	3,841	5,024	6,635	7,879
2	0,010	0,020	0,051	0,103	5,991	7,378	9,210	10,597
3	0,072	0,115	0,216	0,352	7,815	9,348	11,345	12,838
4	0,207	0,297	0,484	0,711	9,488	11,143	13,277	14,860
5	0,412	0,554	0,831	1,145	11,070	12,832	15,086	16,750
6	0,676	0,872	1,237	1,635	12,592	14,449	16,812	18,548
7	0,989	1,239	1,690	2,167	14,067	16,013	18,475	20,278
8	1,344	1,647	2,180	2,733	15,507	17,535	20,090	21,955
9	1,735	2,088	2,700	3,325	16,919	19,023	21,666	23,589
10	2,156	2,558	3,246	3,940	18,307	20,483	23,209	25,188
11	2,603	3,053	3,816	4,575	19,675	21,920	24,725	26,757
12	3,074	3,571	4,404	5,226	21,026	23,337	26,217	28,300
13	3,565	4,107	5,009	5,892	22,362	24,736	27,688	29,819
14	4,075	4,660	5,629	6,571	23,685	26,119	29,141	31,319
15	4,601	5,229	6,262	7,261	24,996	27,488	30,578	32,801
16	5,142	5,812	6,908	7,962	26,296	28,845	32,000	34,267
17	5,697	6,408	7,564	8,672	27,587	30,191	33,409	35,718
18	6,265	7,015	8,231	9,390	28,869	31,526	34,805	37,156
19	6,844	7,633	8,907	10,117	30,144	32,852	36,191	38,582
20	7,434	8,260	9,591	10,851	31,410	34,170	37,566	39,997
21	8,034	8,897	10,283	11,591	32,671	35,479	38,932	41,401
22	8,643	9,542	10,982	12,338	33,924	36,781	40,289	42,796
23	9,260	10,196	11,689	13,091	35,172	38,076	41,638	44,181
24	9,886	10,856	12,401	13,848	36,415	39,364	42,980	45,558
25	10,520	11,524	13,120	14,611	37,652	40,646	44,314	46,928
26	11,160	12,198	13,844	15,379	38,885	41,923	45,642	48,290
27	11,808	12,878	14,573	16,151	40,113	43,195	46,963	49,645
28	12,461	13,565	15,308	16,928	41,337	44,461	48,278	50,994
29	13,121	14,256	16,047	17,708	42,557	45,722	49,588	52,335
30	13,787	14,953	16,791	18,493	43,773	46,979	50,892	53,672
40	20,707	22,164	24,433	26,509	55,758	59,342	63,691	66,766
60	35,534	37,485	40,482	43,188	79,082	83,298	88,379	91,952
80	51,172	53,540	57,153	60,391	101,879	106,629	112,329	116,321
100	67,328	70,065	74,222	77,929	124,342	129,561	135,807	140,170



### Priloga B3

Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Streptococcus pneumoniae* za posamezne antibiotike glede na področje izolacije na IMI

MF. Pri tem je SP = 1,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

antibiotik	statistična primerjava deleža občutljivih izolatov glede na področje izolacije, Pearsonova $\chi^2$ -statistika ( $p$ -vrednost)		
	2004	2005	2006
eritromicin	2,450 (0,118)	0,052 (0,819)	2,288 (0,130)
klindamicin	6,251 (0,012)	1,683 (0,195)	7,524 (0,006)
moksifloksacin	0 (1)	0 (1)	0 (1)
penicilin	0,113 (0,737)	2,198 (0,138)	0,628 (0,428)
tetraciklin	0,716 (0,398)	0,342 (0,559)	0,293 (0,588)
trimetoprim/ sulfometoksazol	0,607 (0,436)	2,019 (0,155)	0,011 (0,918)
vankomicin	0 (1)	0 (1)	0 (1)

## Priloga C1

Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Haemophilus influenzae* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.

Pri tem je SP = 1,  $\chi_{0,05}^2 = 3,841$ .

antibiotik	statistična primerjava deleža občutljivih izolatov, Pearsonova $\chi^2$ -statistika ( $p$ -vrednost)	
	med letoma 2004, 2005	med letoma 2005, 2006
amoksicilin/ klavulanska k.	1,494 (0,222)	0,147 (0,701)
ampicilin	0,201 (0,654)	0,810 (0,368)
azitromicin	0,157 (0,692)	0,027 (0,868)
cefaklor	1,037 (0,308)	0,139 (0,710)
cefotaksim	2,481 (0,115)	0,617 (0,432)
cefuroksim	4,977 (0,026)	0,481 (0,488)
ciprofloksacin	1,239 (0,266)	1,265 (0,261)
klaritromicin	0,092 (0,762)	4,885 (0,027)
moksifloksacin	0 (1)	0 (1)
tetraciklin	26,290 (0,000)	2,501 (0,114)
trimetoprim/sulfometoksazol	0,231 (0,631)	0,040 (0,842)



## Priloga C2

Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Haemophilus influenzae* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.

Pri tem je SP = 1,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

antibiotik	statistična primerjava deleža občutljivih izolatov med starostnimi skupinami, Pearsonova $\chi^2$ -statistika ( $p$ -vrednost)					
	0-5 let z 6-18 let	6-18 let z 19-60 let	19-60 let z nad 60 let	0-5 let z 19-60 let	0-5 let z nad 60 let	6-18 let z nad 60 let
	amoksicilin/ klavulanska k.	3,643 (0,056)	0,579 (0,447)	0,680 (0,410)	1,735 (0,188)	3,416 (0,065)
ampicilin	0,003 (0,955)	0,408 (0,523)	0,015 (0,902)	0,498 (0,480)	0,390 (0,532)	0,320 (0,572)
azitromicin	0 (1)	1,925 (0,165)	5,129 (0,024)	3,482 (0,062)	0 (1)	0 (1)
cefaklor	0,007 (0,936)	0,098 (0,754)	0,803 (0,370)	0,082 (0,775)	1,253 (0,263)	0,889 (0,346)
cefotaksim	0 (1)	0,478 (0,489)	0,138 (0,710)	0,866 (0,352)	1,360 (0,244)	0,751 (0,386)
cefuroksim	1,817 (0,178)	0,098 (0,754)	0,090 (0,765)	2,607 (0,106)	2,043 (0,153)	0,010 (0,920)
ciprofloksacin	0 (1)	0 (1)	0,786 (0,375)	0 (1)	0,679 (0,410)	0,375 (0,540)
klaritromicin	0,368 (0,544)	1,026 (0,311)	0,009 (0,924)	3,582 (0,058)	3,449 (0,063)	0,953 (0,332)
moksifloksacin	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
tetraciklin	0,134 (0,714)	0,073 (0,787)	0,118 (0,731)	0,015 (0,901)	0,209 (0,647)	0 (0,996)
trimetoprim/ sulfometoksazol	2,115 (0,146)	0,496 (0,481)	0,462 (0,497)	0,957 (0,328)	2,876 (0,090)	0,043 (0,836)

### Priloga C3

Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Haemophilus influenzae* za posamezne antibiotike glede na področje izolacije na IMI MF.

Pri tem je SP = 1,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

antibiotik	statistična primerjava deleža občutljivih izolatov glede na področje izolacije,		
	Pearsonova $\chi^2$ -statistika ( $p$ -vrednost)		
	2004	2005	2006
amoksicilin/ klavulanska k.	0,610 (0,435)	1,171 (0,279)	1,723 (0,189)
ampicilin	0,372 (0,542)	0,231 (0,631)	2,346 (0,126)
azitromicin	0,127 (0,722)	0,388 (0,533)	0,341 (0,559)
cefaklor	0,026 (0,872)	0,157 (0,692)	1,723 (0,189)
cefotaksim	0 (1)	0,778 (0,378)	0,341 (0,559)
cefuroksim	0 (1)	1,567 (0,211)	1,028 (0,311)
ciprofloksacin	0 (1)	0,388 (0,533)	0 (1)
klaritromicin	2,459 (0,117)	1,567 (0,211)	3,223 (0,073)
moksifloksacin	0 (1)	0 (1)	0 (1)
tetraciklin	0,610 (0,435)	1,562 (0,211)	2,028 (0,154)
trimetoprim/sulfometoksazol	1,049 (0,306)	0,599 (0,439)	1,135 (0,287)

## Priloga D1

Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Moraxella catarrhalis* za posamezne antibiotike glede na leto osamitve na IMI MF.

Pri tem je SP = 1,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

antibiotik	statistična primerjava deleža občutljivih izolatov, Pearsonova $\chi^2$ -statistika ( $p$ -vrednost)	
	med letoma 2004, 2005	med letoma 2005, 2006
amoksicilin / klavulanska k.	0 (1)	0 (1)
ampicilin	0,085 (0,771)	0,435 (0,509)
azitromicin	0 (1)	0 (1)
cefaklor	0,691 (0,406)	0 (1)
cefotaksim	0 (1)	0 (1)
cefuroksim	0 (1)	0 (1)
ciprofloksacin	1,453 (0,228)	1,313 (0,252)
klaritromicin	0 (1)	0 (1)
moksifloksacin	0 (1)	0 (1)
tetraciklin	1,453 (0,228)	8,470 (0,004)
trimetoprim /sulfometoksazol	35,870 (0,000)	2,331 (0,127)

## Priloga D2

Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Moraxella catarrhalis* za posamezne antibiotike glede na starostno skupino na IMI MF.

Pri tem je SP = 1,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

antibiotik	statistična primerjava deleža občutljivih izolatov med starostnimi skupinami, Pearsonova $\chi^2$ -statistika ( $p$ -vrednost)					
	0-5 let z 6-18 let	6-18 let z 19-60 let	19-60 let z nad 60 let	0-5 let z 19-60 let	0-5 let z nad 60 let	6-18 let z nad 60 let
amoksicilin/ klavulanska k.	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
ampicilin	0,330 (0,566)	7,977 (0,005)	2,909 (0,088)	16,503 (0,000)	4,783 (0,029)	1,616 (0,204)
azitromicin	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
cefaklor	0,446 (0,504)	0 (1)	0 (1)	0,274 (0,601)	0,469 (0,493)	0 (1)
cefotaksim	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
cefuroksim	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
ciprofloksacin	0,446 (0,504)	0 (1)	0 (1)	0,274 (0,601)	0,469 (0,493)	0 (1)
klaritromicin	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
moksifloksacin	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
tetraciklin	0,016 (0,898)	1,042 (0,307)	0,001 (0,970)	1,244 (0,265)	1,542 (0,214)	1,164 (0,281)
trimetoprim/ sulfometoksazol	0,004 (0,951)	0,542 (0,462)	0,024 (0,876)	0,597 (0,440)	1,330 (0,249)	1,081 (0,299)

### Priloga D3

Pearsonova  $\chi^2$ -statistika in  $p$ -vrednosti za deleže občutljivih izolatov bakterije *Moraxella catarrhalis* za posamezne antibiotike glede na področje izolacije na IMI MF.

Pri tem je SP = 1,  $\chi^2_{0,05} = 3,841$ .

antibiotik	statistična primerjava deleža občutljivih izolatov glede na področje izolacije, Pearsonova $\chi^2$ -statistika ( $p$ -vrednost)		
	2004	2005	2006
amoksicilin / klavulanska k.	0 (1)	0 (1)	0 (1)
ampicilin	8,428 (0,004)	0,089 (0,765)	0,242 (0,623)
azitromicin	0 (1)	0 (1)	0 (1)
cefaklor	1,691 (0,193)	0 (1)	0 (1)
cefotaksim	0 (1)	0 (1)	0 (1)
cefuroksim	0 (1)	0 (1)	0 (1)
ciprofloksacin	0 (1)	2,087 (0,149)	0 (1)
klaritromicin	0 (1)	0 (1)	0 (1)
moksifloksacin	0 (1)	0 (1)	0 (1)
tetraciklin	0 (1)	0,484 (0,487)	0,933 (0,334)
trimetoprim /sulfometoksazol	4,186 (0,041)	0,101 (0,750)	0,267 (0,605)

