

STUDIUL ASUPRA DISTRIBUȚIEI, IMPLICĂRII ETIOLOGICE ȘI FENOTIPURILOR DE REZISTENȚĂ LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR DE ENTEROCOCCUS DE LA PACIENȚI SPITALIZAȚI

STUDY ON THE DISTRIBUTION, ETIOLOGICAL IMPLICATION AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PHENOTYPES OF ENTEROCOCCUS STRAINS FROM HOSPITALIZED PATIENTS

Mihaela Elena Idomir, Alexandru Lăculeanu

Universitatea Transilvania din Brașov

Autor corespondent: Mihaela Elena Idomir, email midomir@yahoo.com

Abstract:

The purpose of the retrospective study was to evaluate the distribution of enterococci in the hospital departments, the infections produced by these germs and the phenotypes of resistance to antibiotics in the studied cases. The study group included 2369 *Enterococcus* spp. strains isolated between 2014 and 2018 in patients hospitalized in the Clinical Emergency Hospital of Brasov. Higher isolation frequencies were recorded in General Surgery (17.48%), Intensive Care Unit (15.49%), Plastic Surgery (14.61%), and Urology (14.39%). Enterococci were more commonly involved in urinary infections (34.11%) and wound infections (31.53%). Higher levels of acquired resistance were observed from fluoroquinolones (norfloxacin - 68.33%, ciprofloxacin - 46%, levofloxacin - 45.04%).

Rezumat:

Scopul studiului retrospectiv efectuat a fost evaluarea distribuției enterococilor în secțiile spitalicești, a infecțiilor produse de acești germeni și a fenotipurilor de rezistență la cazurile studiate. Lotul de studiu a inclus 2369 tulpini de *Enterococcus* spp. izolate în perioada 2014-2018 la pacienți spitalizați în Spitalul Clinic Județean de Urgență din Brașov. Frecvențe mai mari de izolare au fost înregistrate la Chirurgie generală (17,48%), Anestezie și Terapie intensivă (15,49%), Chirurgie plastică (14,61%) și Urologie (14,39%). Enterococii au fost mai frecvent implicați în infecții urinare (34,11%) și infecții de plagă (31,53%). Niveluri mai mari de rezistență dobândită au fost observate la fluorochinolone (norfloxacin – 68,33%, ciprofloxacin - 46%, levofloxacin – 45,04%)

Key-words: *Enterococcus, infections, antimicrobial resistance*

Cuvinte cheie: *Enterococcus, infecții, rezistență la antimicrobiene*

Introducere

Genul *Enterococcus* a fost constituit în 1984, prin separarea, pe baza diferențelor genetice, din genul *Streptococcus*, a speciilor *E. faecalis* și *E. faecium* care sunt și în prezent principalele specii de importanță medicală. În prezent, ca urmare a utilizării tehnicilor de hibridare ADN-ADN și de analiză a secvențelor ARN ribozomal 16S, sunt confirmate în cadrul genului 19 specii (Buiuc D, 2009).

Majoritatea speciilor din genul *Enterococcus* sunt habitanți normali ai tractului intestinal la om și numeroase specii de animale. Sunt de asemenea larg răspândiți pe plante, în sol, în ape, alimente de origine animală. Sunt germeni condiționat

patogeni ce pot provoca infecții severe. Rolul patogen s-a conturat mai pregnant în contextul medicinei moderne fiind agenți redutabili ai infecțiilor asociate asistenței medicale, mai ales la persoane cu imunodeficiențe de diferite cauze (vârstnici, transplantate de organ sau măduvă osoasă, malignități). Deși nu au echipament de patogenitate bogat ca alți patogeni, enterococii au rezistență naturală la multe antibiotice și capacitatea de a dobândi ușor determinanți ai rezistenței ceea ce le conferă avantaj mai ales în mediul spitalicesc, cu utilizare intensă a substanțelor antimicrobiene și a manevrelor invazive în scop diagnostic sau terapeutic. (Buiuc D, 2009; Garsin D.A., 2014; Lebreton F. 2014).

Fenotipurile sălbatice de *Enterococcus* au rezistență intrinsecă la oxaciline, cefalosporine și monobactame. Variabil în funcție de specie, poate fi prezentă rezistența joasă (low level) la alte β -lactamice care nu exclud însă utilizarea clinică. Folosirea ampicilinei în infecții cu enterococi sensibili este benefică, în schimb administrarea de cefalosporine poate constitui un factor major de risc pentru achiziționarea unei infecții cu acești germeni. Rezistența de nivel înalt (high level) este excepțională fiind depistată mai ales la *E. faecium*. Rezistența se datorează modificărilor la nivelul PLP (Proteina de Legare la Peniciline) și producerii unei beta-lactamaze (Jehl F., 2010; Kristich C.J., 2014).

Enterococii au rezistență intrinsecă la clindamicină. Macrolidele și lincosamidele nu se folosesc pentru terapia infecțiilor enterococice. Mecanismele rezistenței sunt modificarea țintei - subunitatea ribozomală 50S, inactivarea enzimatică și pompele de eflux (Jehl F., 2010; Kristich C.J., 2014; Muntean D., 2019).

Chinolonele au activitate moderată asupra enterococilor. Rezistența dobândită la aceste antibiotice se poate datora unor mutații la nivelul genelor ce codifică giraza și topoizomeraza IV. Acestea împiedică legarea eficientă a antibioticului la enzime permițând replicarea ADN-ului în prezența antibioticului. Este posibilă și intervenția unor pompe de eflux. (Jehl F., 2010; Kristich C.J., 2014).

Enterococii au nivel scăzut de rezistență intrinsecă la aminoglicozide, gentamicina fiind însă activă la fenotipurile sălbatice. Aminoglicozidele au acțiune sinergică cu β -lactaminele și glicopeptidele. Dobândirea rezistenței înalte (HLAR = High Level of Gentamicin Resistance) prin achiziția de material genetic (prin transpozoni sau plasmide) elimină activitatea sinergică bactericidă a aminoglicozidelor în combinații cu antibioticele cu acțiune pe peretele bacterian, importantă în terapia infecțiilor enterococice severe (Jehl F., 2010; Kristich C.J., 2014; Muntean D., 2019).

Rezistența dobândită la glicopeptide a enterococilor (mai frecventă la *E. faecium*) se datorează sintezei unui precursor al peptidoglicanului cu afinitate mică față de aceste antibiotice (tipurile *vanA* și *vanB*). Speciile rezistente natural la vancomicină (*E. gallinarum*, *E. flavescens*, *E. casseliflavus*) sunt sensibile la teico-

planină. Rezistența la linezolid se datorează unor mutații care afectează sinteza rRNA (substituția G2576U) (Jehl F., 2010; Kristich C.J., 2014)

Studiile asupra factorilor de patogenitate relevă faptul că enterococii au adevărate Ace = adhesin to collagen of *Enterococcus faecalis*; MSCRAMM = microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules; EfaA) care facilitează aderența lor la diverse proteine matriceale (colagen, laminină, fibronectină, lactoferină), produc bacteriocine (depistate des la tulpinile VRE, mai ales Bac32 și Bac41) și pot forma biofilme mai ales pe dispozitive medicale. Enterococii sunt considerați a doua cauză ca frecvență a infecțiilor urinare asociate cateterizării și a treia cauză ca frecvență a endocarditelor la pacienți protezați valvular. Mai pot fi implicați în infecții pelvine sau intraabdominale, infecții ale plăgilor, mai rar în meningite sau în infecții stomatologice (Ike Y.; 2017; Kristich C.J., 2014; Ness I.F., 2014; Winn W., 2006).

Încă din 2008, *E. faecium* a fost introdus de Rice în categoria ESKAPE, a germeilor ce vor scăpa de sub controlul antibioticelor ca și *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Enterobacter* spp. (Rice L, 2008). Datele colectate de rețeaua europeană de supraveghere a rezistenței la antibiotice (EARS - Net) în perioada 2011-2017 arată tendința de creștere a numărului de VRE în multe țări (ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2016; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2017)

Material și metodă

Studiul desfășurat în Spitalul Clinic Județean de Urgență din Brașov a fost retrospectiv și a avut drept scop evaluarea în dinamică a implicării patologice și a pattern-ului de rezistență a *Enterococcus* species la pacienți spitalizați.

Lotul studiat a inclus 2.369 tulpini de *Enterococcus* izolate din produse patologice ale pacienților internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență Brașov în perioada 2014-2018.

Probele pacienților au fost prelucrate bacteriologic în vederea stabilirii unui diagnostic etiologic al infecțiilor. Examinările macroscopice (aspect purulent) și microscopice (frecvente polimorfonucleare neutrofile) au contribuit la diferențierea colonizărilor de infecții. Culturile s-au dezvoltat pe geloză-sânge și mediul cromogen UTI (Oxoid). Identificarea genului s-a bazat pe testul bilă-esculină. S-a făcut antibiograma difuzimetrică, interpretată conform CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) 2014-2018. Sistemul VITEK 2 COMPACT a permis stabilirea speciilor în anumite situații clinice și pentru confirmarea fenotipurilor de rezistență la antibiotice.

Rezultate și discuții

Obiectivele studiului retrospectiv efectuat au constat în analiza distribuției tulpinilor enterococice pe secții spitalicești, în raport cu produsele biologice din care au putut fi izolate în vederea evaluării implicării în patologie și a profilului de rezistență la antibioticele utilizate în terapia acestor infecții.

Figura 1 ilustrează dinamica numărului de tulpini de Enterococcus în perioada studiată.

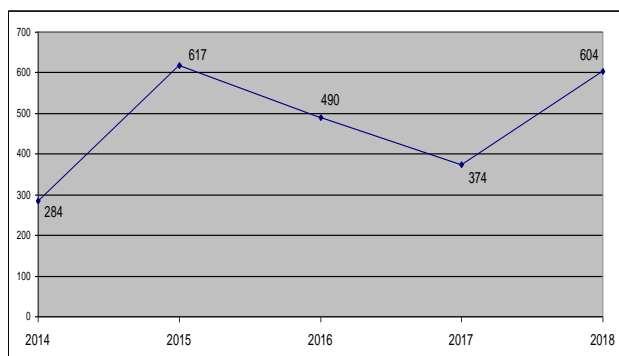


Figura 1 – Dinamica numărului de tulpini enterococice izolate în perioada studiată

Se poate constata că numărul de tulpini de Enterococcus izolate a fost variabil de la un an de studiu la altul dar acești germeni au fost constant implicați în infecții la pacienți spitalizați.

Figurile 2 și 3 ilustrează distribuția tulpinilor enterococice în secțiile cu profil medical și respectiv chirurgical în perioada studiată.

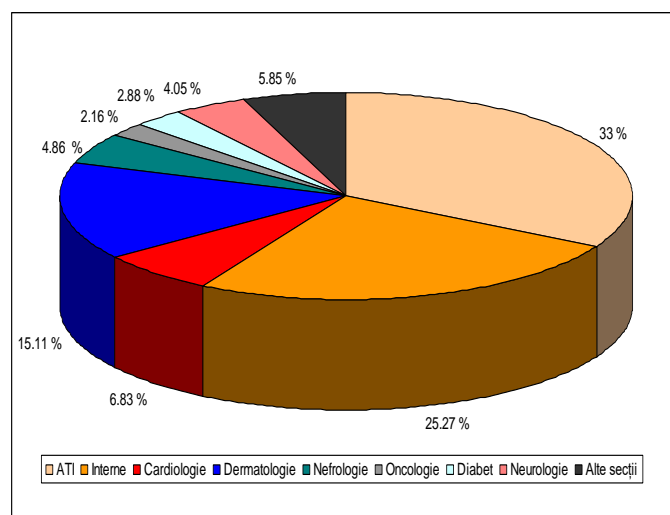


Figura 2 – Distribuția tulpinilor enterococice pe secțiile medicale

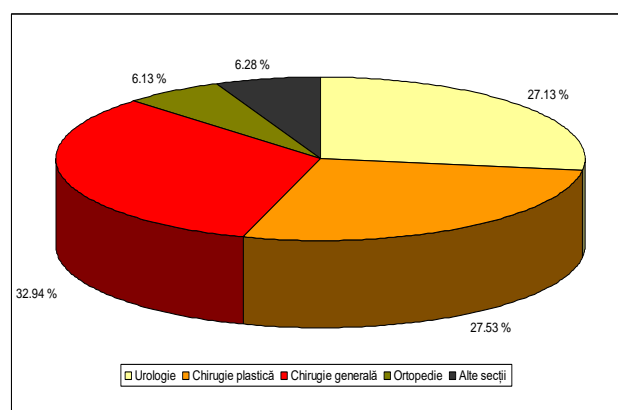


Figura 3 – Distribuția tulpinilor enterococice pe secțiile chirurgicale

Se poate constata faptul că, în cazul secțiilor cu profil medical, departamentele Anestezie și Terapie Intensivă (33%), Boli Interne (25,27%) și Dermatologie (15,11%) s-au aflat pe primele locuri ca frecvență de izolare a acestor germeni. În cazul secțiilor chirurgicale, distribuția a fost relativ egală la Chirurgie generală (32,94%), Chirurgie plastică (27,53%) și Urologie (23,13%) în contextul în care numărul cazurilor internate în secțiile de Chirurgie generală este mai mare.

Figura 4 ilustrează ponderea tulpinilor de Enterococcus spp. în raport cu secțiile unității medicale în perioada de 5 ani studiată.

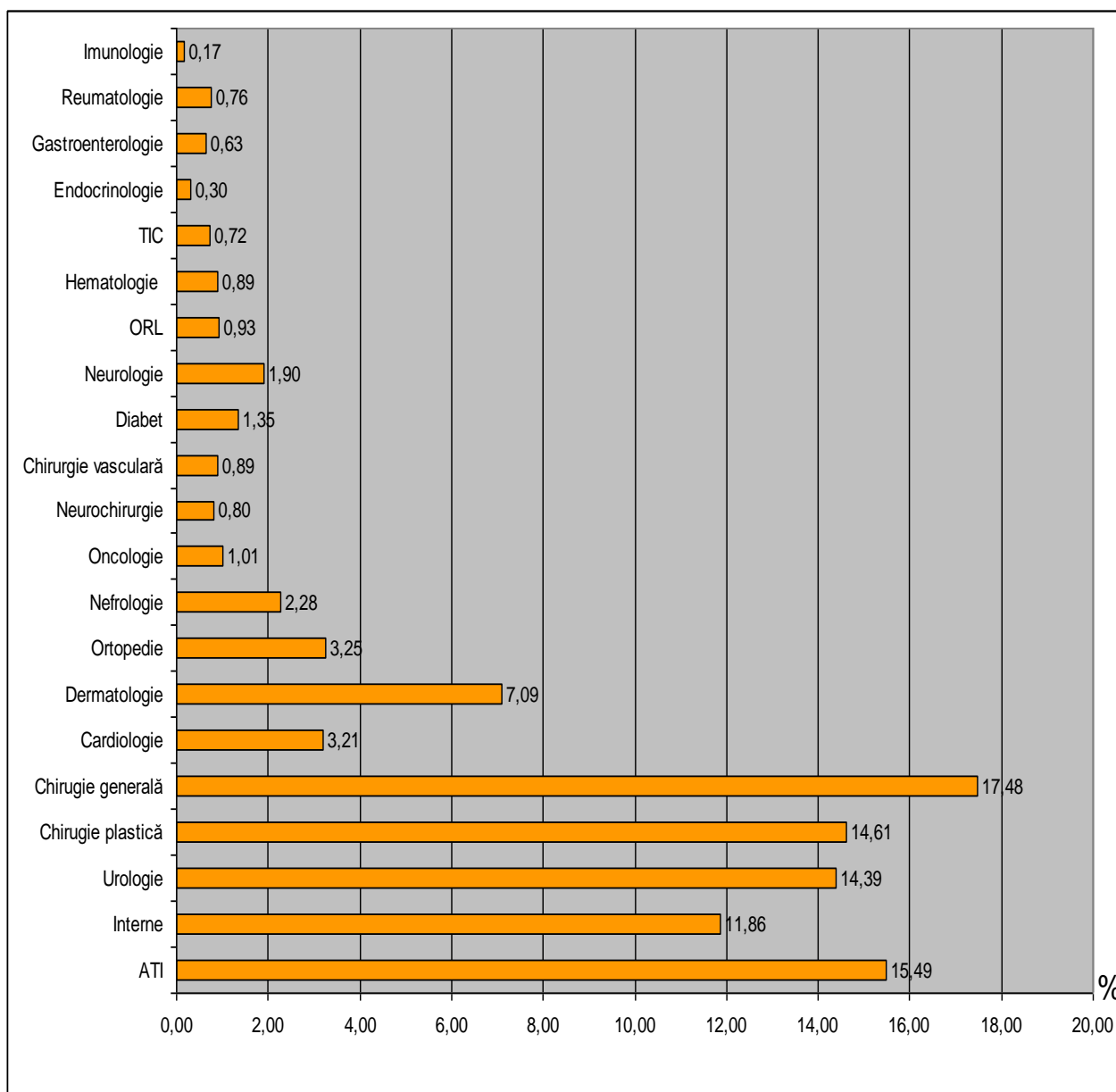


Figura 4 – Distribuția tulpinilor enterococice pe secțiile spitalicești în perioada studiului

Se poate constata că frecvența de izolare a tulpinilor de Enterococcus a fost mai crescută în cazul pacienților internați la Chirurgie generală (17,48%), ATI (15,49%), Chirurgie plastică (14,61%), Urologie (14,39%).

Un alt obiectiv al studiului a constat în evaluarea spectrului de infecții cu acești germeni condiționat patogeni. Rezultatele sunt prezentate în Figura 5.

Datele obținute relevă faptul că enterococii au fost izolați dintr-o gamă largă de produse, mai frecvent din urină (34,11%), secreții de plagă (31,53%) și puroi (15,75%). Cu frecvențe mai mici au fost izolați de la nivelul ulcerelor varicoase, sondelor de intubație oro-traheală, din lichid peritoneal, sânge, secreții genitale, otice, conjunctivale.

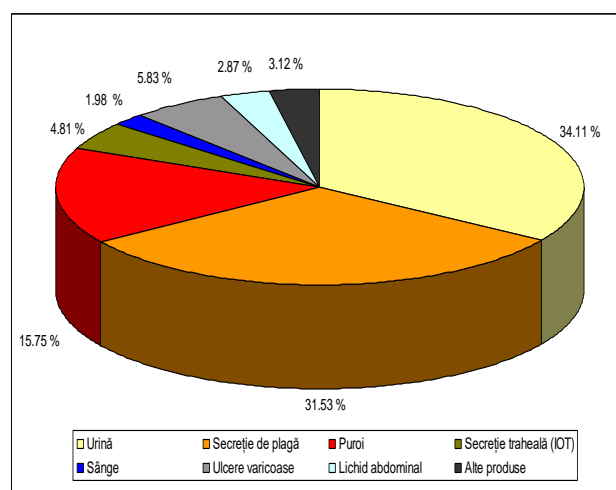


Figura 5 – Distribuția tulpinilor enterococice în raport cu produsele patologice

A fost analizată și sensibilitatea la antibiotice a enterococilor din produsele pacienților, așa cum rezultă din Figura 6. Figurile 7-8 relevă ponderea tulpinilor HLAR (High Level Aminoglycozid Resistance) și VRE (Vancomycin Resistant Enterococci) în lotul studiat iar în Figurile 9 și 10 este prezentată dinamica

numărului de HLAR și VRE de la un an la altul.

Se poate constata că nivelul de rezistență a fost mai crescut la fluorochinolonele testate (norfloxacin – 68,33%; ciprofloxacin – 46%; levofloxacin – 45,04%), la eritromicină (50,69%) și la rifampicină (37,28%).

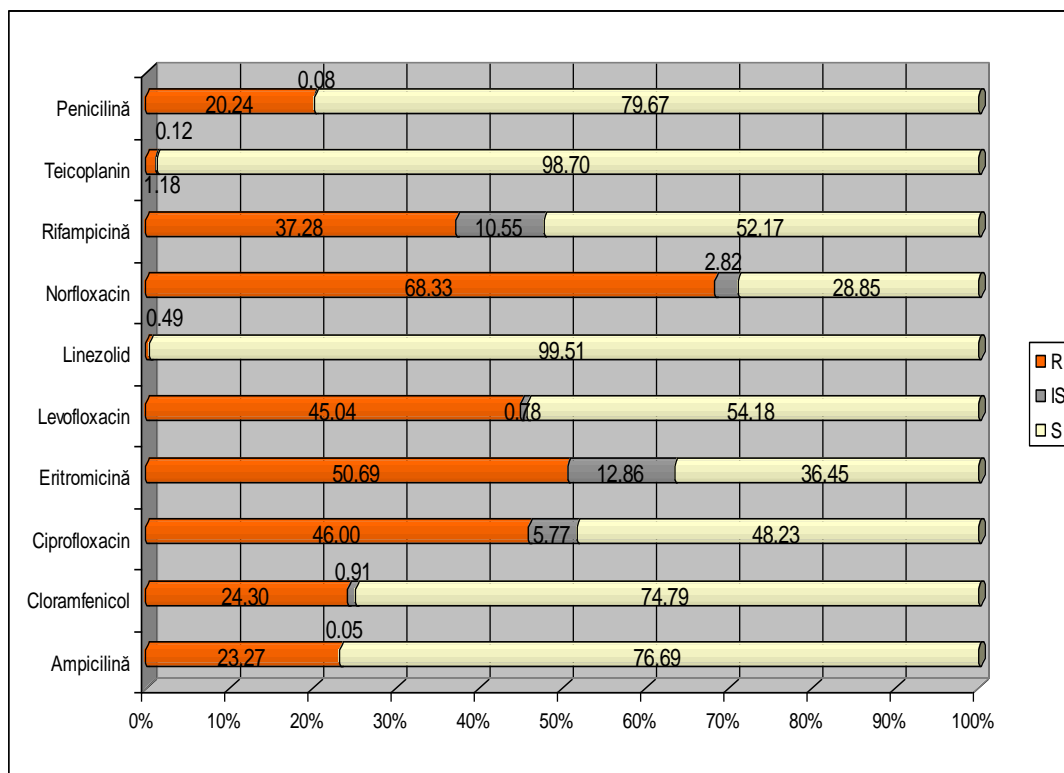


Figura 6 – Rezistența la antibiotice a tulpinilor de Enterococcus

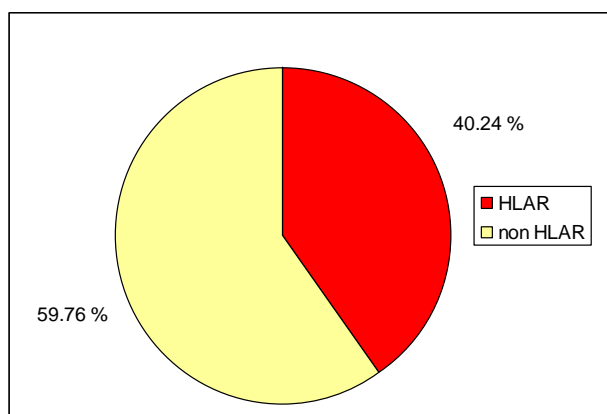


Figura 7 – Ponderea tulpinilor HLAR în perioada studiată

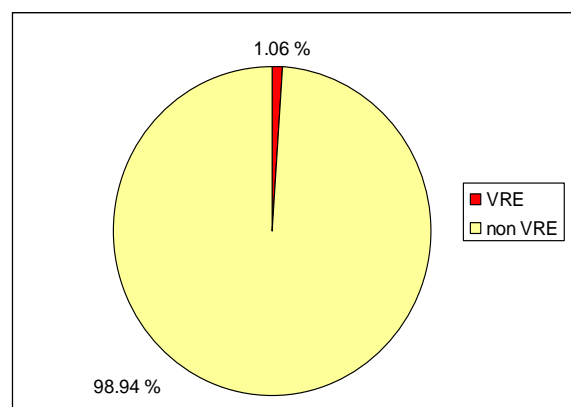


Figura 8 – Ponderea tulpinilor VRE în perioada studiată

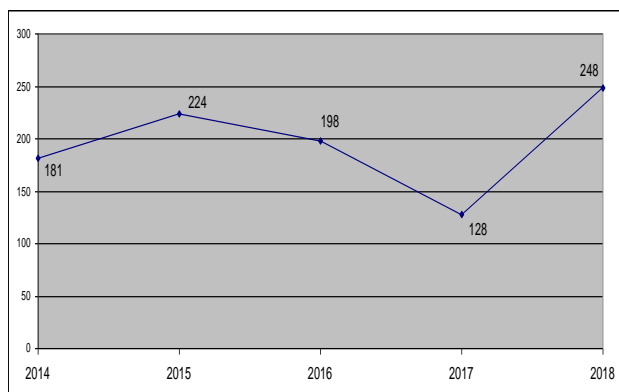


Figura 9 – Dinamica numărului tulpinilor HLAR în perioada studiată

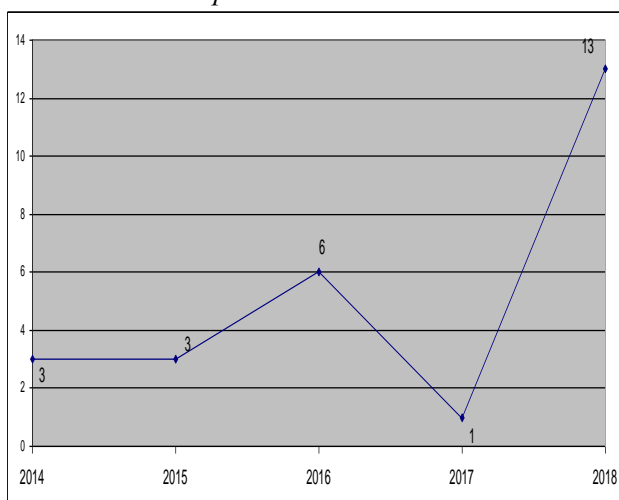


Figura 10 – Dinamica numărului tulpinilor VRE în perioada studiată

Ponderea tulpinilor HLAR a fost ridicată în lotul de studiu, prezența acestui fenotip de rezistență fiind constantă în perioada 2014-2018.

Ponderea tulpinilor VRE în lotul studiat a fost mică însă creșterea numărului de cazuri în ultimul an al studiului ar justifica monitorizarea acestui tip de tulpini cu potențial nosocomial mai ales în secțiile cu risc.

Valorile obținute pentru HLAR și VRE din lotul de studiu sunt mai mici comparativ cu valorile raportate de România la EARS-Net în perioada studiată (ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2016; ECDC- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2017).

Concluzii

1. Numărul de tulpini de *Enterococcus* species a fost variabil de la un an de studiu la altul, acești germeni fiind constant implicați în infecții la pacienți spitalizați.
2. Au fost izolați mai frecvent din probele pacienților internați în secțiile Chirurgie generală (17,48%), ATI (15,49%), Chirurgie plastică (14,61%) și Urologie (14,39%).
3. Enterococii au fost mai des implicați în infecții urinare (34,11%) și de plagă (31,53%).
4. Nivele mai înalte de rezistență au fost obținute la fluorochinolone (norfloxacin – 68,33%, ciprofloxacina – 46%, levofloxacin – 45,04%).
5. Ponderea HLAR a fost ridicată în lotul de studiu (40,24%).
6. Ponderea tulpinilor VRE în lotul studiat a fost mică (1,06%) însă creșterea numărului de cazuri în ultimul an al studiat este îngrijorătoare și susține monitorizarea acestor tulpini.

Bibliografie

- [1] Buiuc D., Neaguț M. (2009), *Tratat de Microbiologie clinică – ediția a III-a*, Ed. Medicală, București, pg. 600-603.
- [2] Garsin D.A., Frank K.L., Silanpää J. et al (2014) Pathogenesis and models of enterococcal infection. In: *From commensals to leading causes of drug resistant infection*, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston
- [3] Ike Y. (2017); Pathogenicity of Enterococci, *Nihon Saikingaku Zasshi*; 72(2): 189-211.
- [4] Jehl F., Chomarar M., Weber M., Gerard A. (2010), *De la antibiogramă la prescripție – ediția a III-a*, Ed. Orizonturi, p. 86-88
- [5] Kristich C.J., Rice L.B., Arias C.A. (2014), Enterococcal infection - Treatment and antibiotic resistance enterococci. In: *From commensals to leading causes of drug resistant infection*, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24649512>
- [6] Lebreton F., Wilems R.J., Gilmore M.S. (2014), Enterococcus diversity, origins in nature, and gut colonization, In: *From commensals to leading causes of drug resistant infection*, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427>
- [7] Muntean D. (2019), *Antibiograma interpretativă și fenotipurile de rezistență – Cursuri pentru medicina de laborator*, Ed. Victor Babeș, Timișoara.

- [8] Ness I.F., Diep D., Ike Y. (2014), Enterococcal bacteriocins and antimicrobial proteins that contribute to niche control, In: From commensals to leading causes of drug resistant infection, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston.
- [9] Rice L. (2008): Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. In: Journal of Infectious Diseases, 197, p. 1079–1081. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190428/>
- [10] Winn, W.; Allen, S.; Janda, W. et al. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of diagnostic microbiology – sixth edition, Lippincott Williams&Wilkins, 2006.
- [11] European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. In: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2012.
- [12] European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. In: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2013.
- [13] European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. In: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2014.
- [14] European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. In: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2015.
- [15] European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. In: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2016.
- [16] European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016. In: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2017.
- [17] European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2017. In: Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2018.