

## STUDIUL ASUPRA REZISTENȚEI LA CARBAPENEME A BACILILOR GRAM NEGATIVI IMPLICAȚI ÎN PATOLOGIE LA PACIENȚI SPITALIZAȚI

### STUDY ON THE RESISTANCE TO CARBAPENEMES OF NEGATIVE GRAM BACILIES INVOLVED IN PATHOLOGY IN HOSPITAL PATIENTS

*Mihaela Elena Idomir,*

Universitatea Transilvania din Brașov

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

#### **Abstract:**

The studied group included 6020 gram negative bacilli isolated from various biological products from patients admitted to the County Clinical Emergency Hospital of Brasov between 1.01.2017 and 31.12.2018. The study was retrospective and aimed to dynamically evaluate the sensitivity to carbapenems of germs involved in infections with various locations. Most from isolated *Escherichia coli* strains were sensitive to antibiotics from various classes tested and the sensitivity to carbapenems was 100%. Other Enterobacteriaceae had variable resistance levels to antibiotics in various classes, which supports the need for antibiogram to optimize the therapy with antibiotics. During the study, there were isolated carbapenem-resistant strains of *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp., and *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **Rezumat**

Lotul de studiu a inclus 6020 bacili gram negativi izolați din diverse produse patologice ale pacienților internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență Brașov între 1.01.2017 și 31.12.2018. Studiul a fost retrospectiv și și-a propus să evalueze în dinamică sensibilitatea la carbapeneme a germenilor implicați în infecții cu diferite localizări. Majoritatea tulpinilor de *Escherichia coli* au fost sensibile la antibioticele din diferite clase testate iar sensibilitatea la carbapeneme a fost 100%. Alte Enterobacteriaceae au avut niveluri variabile de rezistență la antibiotice din diferite clase ceea ce susține nevoia antibiografei pentru optimizarea terapiei cu antibiotice. Pe durata studiului, au fost izolate tulpini rezistente la carbapeneme de *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. și *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key-words:** *carbapenems, antimicrobial resistance, nosocomial infections*

**Cuvinte cheie:** *carbapeneme, rezistență la antibiotice, infecții nosocomiale*

#### **Introducere**

În ultimele decenii, problema rezistenței la antibiotice a devenit din ce în ce mai acută fiind una dintre cele mai serioase amenințări la adresa sănătății publice globale, așa cum rezultă din rapoartele WHO (World Health Organization) și CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ce avertizează că în absența unui sistem mondial unitar capabil să monitorizeze situația, acest fenomen a atins deja cote absolut alarmante, se asociază cu cifre înalte de mortalitate (în 2017: 25.000 decese/an în Uniunea Europeană și 23.000 decese/an în S.U.A) și impactul său în viitor este practic necontrolabil (CDC, 2018; Codjoe F.S., 2018; WHO, 2014; WHO, 2017; WHO, 2018).

Cea mai alarmantă dintre problemele legate de rezistența la antibiotice este în prezent

rezistența bacililor gram negativi la carbapeneme datorită existenței unor opțiuni foarte limitate de tratare a acestor infecții și a numărului foarte redus de antibiotice active pe acești germeni aflate în testare. Principala categorie de bacterii care pot dobândi rezistență la carbapeneme sunt din familia Enterobacteriaceae, germeni implicați într-o gamă largă de infecții asociate asistenței medicale sau comunitare, cu diverse localizări (infecții de plagă, urinare, pneumonii, septicemii, etc.). Factorii de risc pentru infecțiile cu germeni CRE (Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae) sunt proceduri medicale ca ventilația mecanică, cateterizările urinare sau venoase, intervențiile la nivel digestiv, urinar, etc. (Nakano R. , 2016; Popescu G., 2016; Suay-Garcia B., 2019; Van Duin D., 2017).

Carbapenemele sunt antimicrobiene  $\beta$ -

lactamice cu spectru larg (ertapenem, imipenem, meropenem, doripenem, panipenem, biapenem) și cu eficacitate dovedită în infecțiile severe cu bacterii producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins. Aceste substanțe sunt antibioticele de rezervă pentru terapia infecțiilor cu germeni ESBL (Codjoe F.S., 2018).

Mecanismele prin care germenii din familia Enterobacteriaceae au devenit rezistenți la carbapeneme sunt producerea de enzime, pompele de eflux și mutații la nivelul porinelor de la nivelul membranelor celulare. Din cele 4 clase din clasificarea enzimatică Ambler (A, B, C, D), cele mai larg răspândite sunt KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, din clasa A), MBL (Metallo- $\beta$ -Lactamases, din clasa B) și OXA-48-like (din clasa D). Codificarea plasmidică a acestor enzime favorizează transferul pe orizontală, între bacterii din specii diferite, a genelor de rezistență implicate și răspândirea rapidă pe glob a rezistenței la carbapeneme (Lyman M., 2015; Santajit S., 2016; Suay-Garcia B., 2019; Van Duin D., 2017).

Alte categorii de bacili gram negativi care pot dobândi rezistență la carbapeneme fiind motive serioase de preocupare în viitor sunt *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, și recent, *Stenotrophomonas maltophilia*. Nivelurile de rezistență la carbapenemele utilizate a acestor bacili nefermentativi sunt foarte înalte în multe zone ale globului și în România (Labarca J.A., 2016; Nordmann P., 2019).

Încă din anul 2008, Louis Rice atrăgea atenția asupra germenilor pe care i-a grupat sub acronimul ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*) afirmând că aceștia ar putea scăpa de sub controlul antibioticelor. Bacilii Gram negativi apar și pe lista WHO, publicată în ianuarie 2017, care include și nivelele de prioritate pentru descoperirea și introducerea de noi antimicrobiene (nivel critic – *A. baumannii*, *P. aeruginosa* rezistent la carbapeneme, Entero-bacteriaceae rezistente la cefalosporine de generația III, carbapeneme; nivel înalt (*E. faecium* rezistent la vancomicină, *S. aureus* MRSA, VRSA și VISA, *H. pylori* rezistent la claritromicină, *Campylobacter*/*Salmonella* rezistente la fluoroquinolone, *Neisseria gonorrhoeae* rezistent la cefalosporine

de generația III și la fluoroquinolone; nivel mediu (*Streptococcus pneumoniae* rezistent la penicilină, *Haemophilus influenzae* rezistent la ampicilină, *Shigella* rezistent la fluoroquinolone). Datele colectate de EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) anual relevă nivelurile înalte de rezistență la antibiotice în sudul și în estul Europei, inclusiv în România. Fenomenul este îngrijorător mai ales la bacilii gram negativi (ECDC, 2016; ECDC, 2017; Rice L., 2008).

În prezent, colistina și tigeciclina sunt utilizate pentru tratamentul infecțiilor cauzate de bacilii gram negativi rezistenți la carbapeneme dar uneori nu au efectul scontat. Mai recent, mai mulți agenți noi care au activitate pe aceste tulpini au fost aprobate pentru uz clinic sau sunt în diverse stadii de cercetare în clinică (ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, meropenem-vaborbactam, imipenem-relebactam, etc.). S-a constatat că aceste combinații au activitate contra majorității speciilor de Enterobacteriaceae dar într-o mai mică măsură contra *A. baumannii*, *P. aeruginosa* și *S. maltophilia*. De asemenea fosfomicina pentru administrare intravenoasă poate fi o opțiune terapeutică pentru unele cazuri (Doi Y., 2019; Zhanel G., 2018).

Studiul realizat în Spitalul Clinic Județean de Urgență din Brașov a fost retrospectiv și a avut drept scop evaluarea în dinamică a sensibilității la carbapeneme a germenilor implicați în infecții cu diverse localizări ale pacienților spitalizați în această unitate medicală în perioada 1.01.2017-31.12.2018.

### Material și metodă

Lotul studiat a inclus 6.020 bacili gram negativi izolați din diverse produse biologice de la pacienții internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență din Brașov în perioada 1.01.2017-31.12.2018.

Prelucrarea prelevatelor în vederea izolării în culturi pure a bacililor gram negativi s-a efectuat în conformitate cu protocolul standard al diagnosticului bacteriologic. La recepționarea probelor biologice în laborator a fost analizată calitatea specimenelor recoltate. Examinările macroscopice și microscopice practicate în cazul prelevatelor pentru care se pot obține informații au permis observarea caracterului purulent sau mucopurulent al specimenului ca și a prezenței

leucocitelor polimorfonucleare neutrofile în număr sugestiv contribuind astfel la diferențierea, pe criterii de laborator, a colonizărilor bacteriene de infecții. Culturile in vitro pentru bacili gram negativi s-au dezvoltat pe geloză Columbia cu adaus de 5% sânge, mediul selectivo-diferențial MacConkey și mediul cromogen UTI (Oxoid). Identificarea genului s-a bazat de rutină pe teste biochimice (TSI, Urea Agar, Simmons Citrate Agar, testul oxidazei) iar identificarea de specie, practică în anumite situații clinice, pe sistemul automat VITEK 2 COMPACT. Antibiograma s-a efectuat de rutină prin metoda difuzimetrică, interpretată conform CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) 2017 și respectiv 2018.

Sistemul VITEK 2 COMPACT a permis confirmarea unor specii bacteriene, unor profiluri

și fenotipuri de rezistență la antibiotice.

### Rezultate și discuții

Scopul studiului retrospectiv, descriptiv, a fost analizarea în dinamică a sensibilității la carbapeneme a bacililor gram negativi, fermentativi sau non-fermentativi ai glucozei, aparținând unor genuri bacteriene diferite, izolați din produsele patologice ale pacienților spitalizați, această categorie de antimicrobiene fiind considerate antibiotice de rezervă sau de salvare pentru terapia infecțiilor cu acești germeni.

Au fost inițial analizate profilurile de rezistență la antibiotice ale bacililor gram negativi din familia Enterobacteriaceae izolați în perioada studiată, așa cum rezultă din Figurile 1-7.

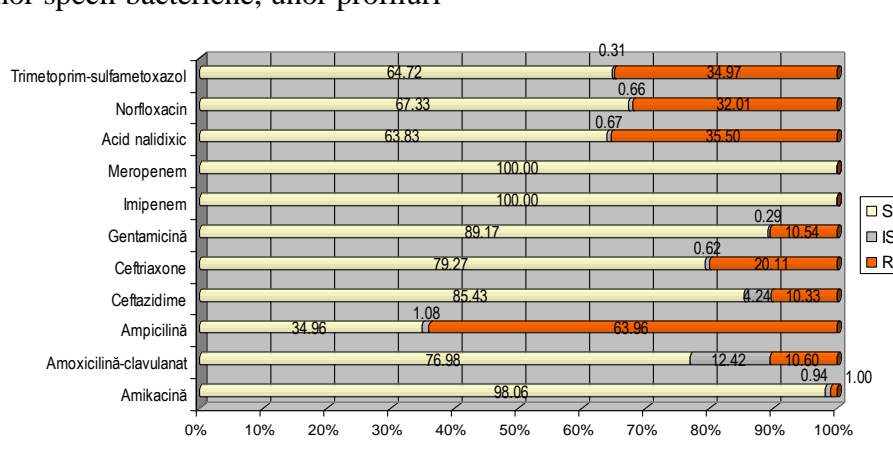


Figura 1 – Sensibilitatea la antibiotice a Escherichia coli izolate în perioada 2017-2018

În cazul tulpinilor de Escherichia coli, niveluri mai înalte de rezistență au fost înregistrate la ampicilină (63,96%) și antibioticele active la nivelul tractului urinar (acid nalidixic - 35,50%, trimetoprim-sulfametoxazol - 34,97%, norfloxacin - 32,01%. Rezultatele obținute sunt influențate de faptul că

Escherichia coli a fost izolată mai frecvent din urină, acest germen fiind principalul agent al infecțiilor de tract urinar. La restul antibioticelor analizate nivelurile de rezistență au fost relativ scăzute, cu excepția tulpinilor ESBP care au reprezentat 15,85%. În lotul studiat nu au existat tulpini de E. coli rezistente la carbapeneme.

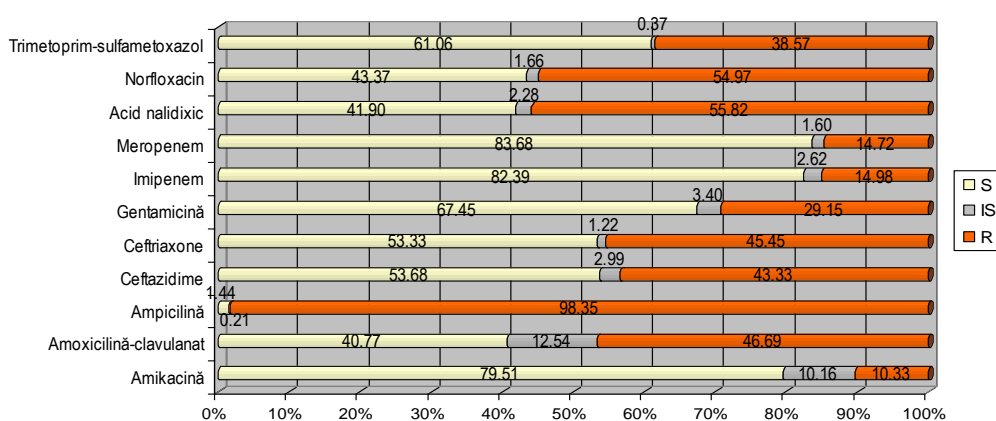


Figura 2 – Sensibilitatea la antibiotice a Klebsiella species izolate în perioada 2017-2018

Tulpinile de *Klebsiella* species izolate au prezentat nivele relativ înalte de rezistență la diverse antibiotice. Sensibilitatea a fost înaltă la carbapeneme (meropenem - 83,68%, imipenem - 82,39%) și aminoglicozide (amikacină - 79,51%, gentamicină - 67,45%). Existența

tulpinilor rezistente la carbapeneme (imipenem - 14,98%, meropenem - 14,72%), în procente semnificative, este însă îngrijorătoare. Ponderea tulpinilor producătoare de ESBL la acest gen a fost de 24,44%, din această categorie fiind și cele KRE.

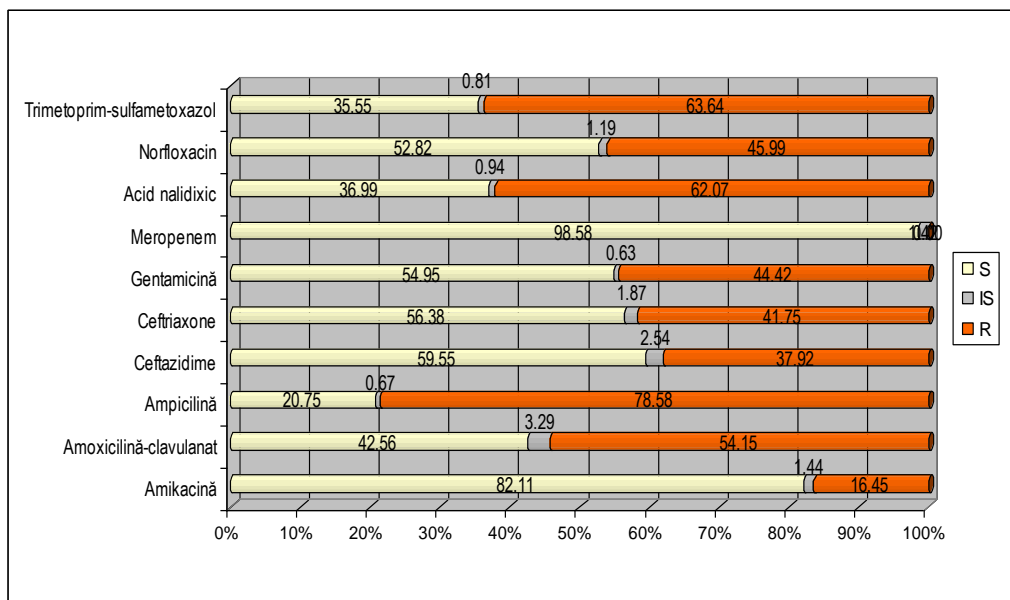


Figura 3 – Sensibilitatea la antibiotice a *Proteus* species izolate în perioada 2017-2018

Tulpinile de *Proteus* spp. izolate au prezentat grade variabile de rezistență la antibioticele din diverse clase testate, mai ridicată fiind ponderea celor rezistente la

ampicilină (78,58%). Nu au existat tulpini de *Proteus* rezistente la meropenem. Ponderea tulpinilor ESBL de *Proteus* spp. a fost 3,26%.

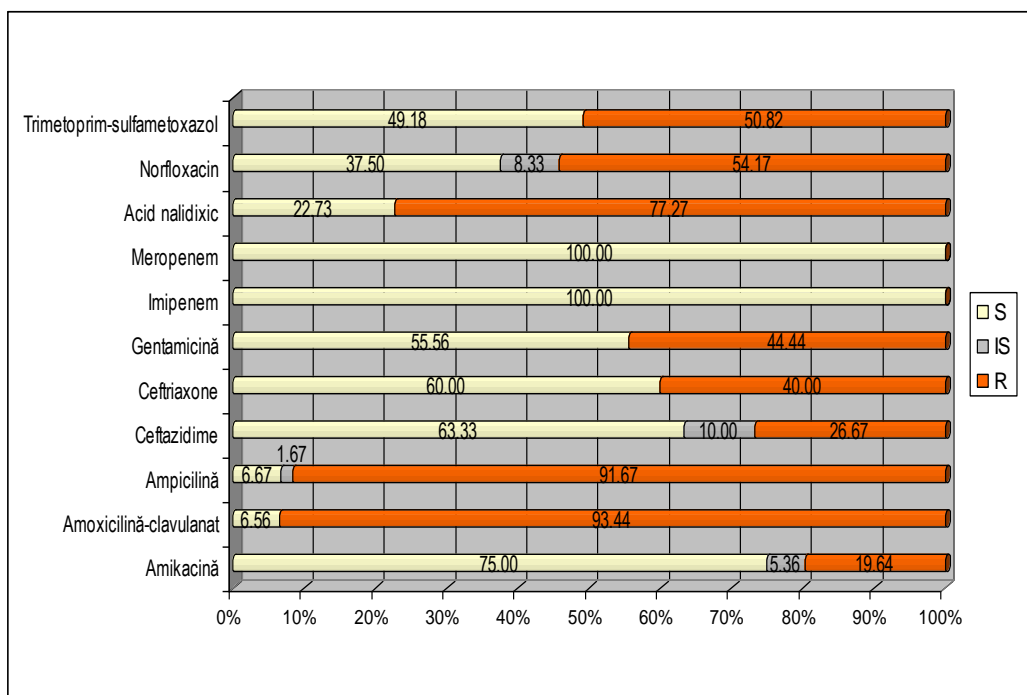


Figura 4 – Sensibilitatea la antibiotice a *Serratia* species izolate în perioada 2017-2018

Tulpinile de *Serratia* species au avut diferite procente de rezistență la antibioticele testate cu excepția carbapenemelor la care sensibilitatea a fost 100%. Ponderea ESBL a fost 20,63% la acest gen bacterian.

La tulpinile de *Providencia* spp. au fost înregistrate procente foarte ridicate de rezistență la toate antibioticele testate ceea ce indică

opțiuni foarte limitate de terapie a acestor infecții. Se poate observa că un procent redus de tulpini de *Providencia* species au fost sensibile in vitro la amikacină (17,48%) și meropenem (8,57%). Ponderea tulpinilor ESBL a fost redusă în lotul de studiu (0,82%) dar detecția acestora a ridicat dificultăți în cazul acestui gen.

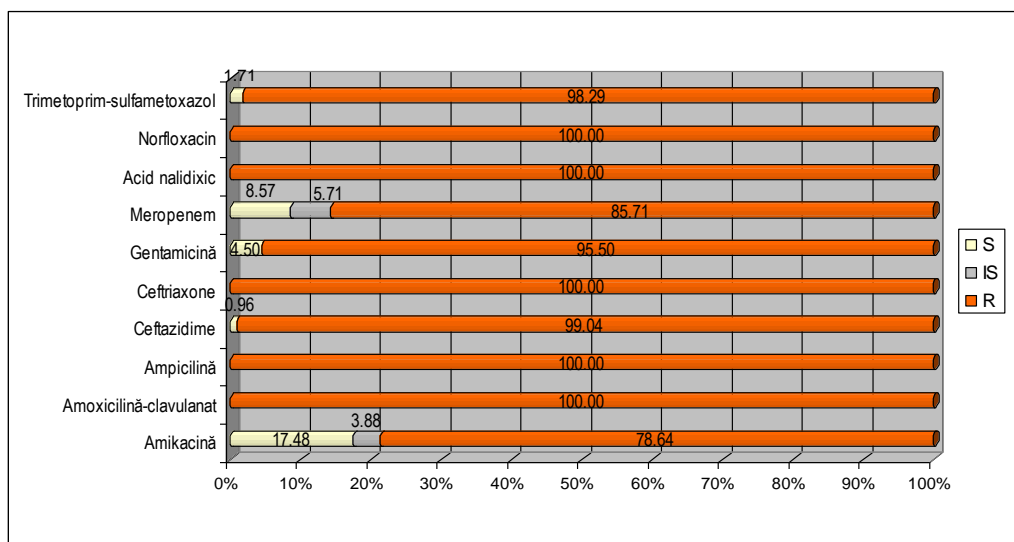


Figura 5 – Sensibilitatea la antibiotice a *Providencia* species izolate în perioada 2017-2018

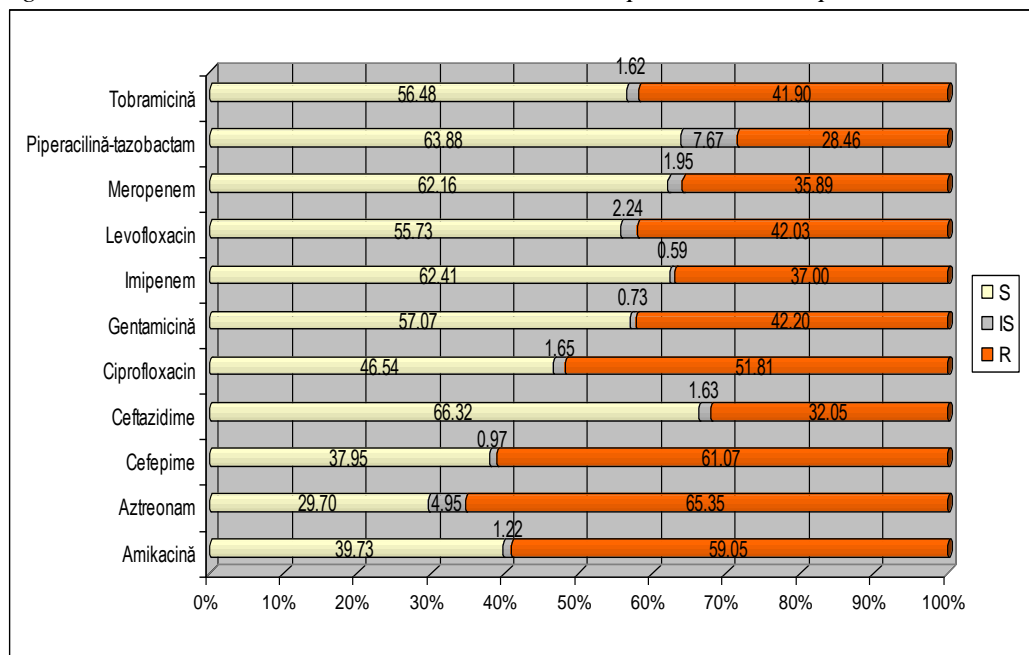


Figura 6 – Sensibilitatea la antibiotice a *Pseudomonas aeruginosa* izolate în perioada 2017-2018

Tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa* au avut grade variate de rezistență la antibioticele din diferite clase care au fost testate. Este de remarcă procentul, mult mai înalt la *Pseudomonas* față de Enterobacteriaceae, de tulpini rezistente la carbapeneme (imipenem – 37%, meropenem – 35,89%).

O situație și mai îngrijorătoare relevă rezultatele obținute în perioada studiată în cazul tulpinilor de *Acinetobacter* spp. izolate. Ponderea tulpinilor rezistente la carbapeneme din acest gen bacterian implicate în infecții ale pacienților spitalizați a fost foarte ridicată (imipenem – 82,97%, meropenem – 84,95%).

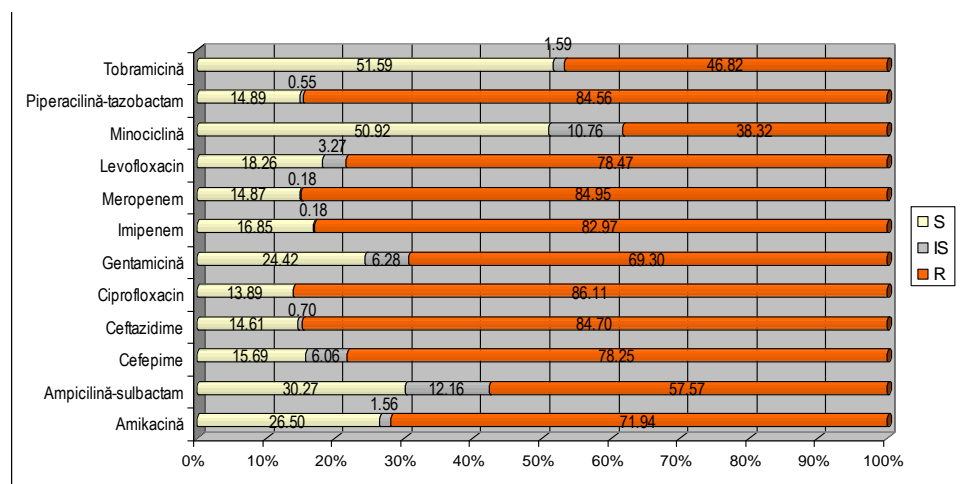


Figura 7 – Sensibilitatea la antibiotice a Acinetobacter species izolate în perioada 2017-2018

În contextul datelor generale privind rezistența bacililor gram negativi la diverse clase de antimicrobiene, am analizat ponderea tulpinilor rezistente la carbapeneme în perioada studiată.

Inițial a fost analizată ponderea CRE la fiecare gen din familia Enterobacteriaceae ca și dinamica acestora de la un an de studiu la altul, așa cum rezultă din Tabelul 1.

Germeni	Imipenem		Meropenem	
	2017	2018	2017	2018
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38.39 %	37.54 %	36.16 %	34.80 %
<i>Acinetobacter spp.</i>	78.54 %	85.59 %	83.25 %	85.96 %

Tabelul 1 – Ponderea CRE la genurile de Enterobacteriaceae izolate în perioada 2017-2018

În același mod a fost analizată ponderea tulpinilor de bacili gram negativi nefermentativi rezistenți la carbapeneme (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter species*), așa cum rezultă din Tabelul 2.

Germeni	Imipenem		Meropenem	
	2017	2018	2017	2018
<i>E. coli</i>	0	0	0	0
<i>Klebsiella spp.</i>	10.87 %	18.16 %	10.72 %	18.62 %
<i>Proteus spp.</i>	-	-	0	0
<i>Serratia spp.</i>	0	0	0	0
<i>Providencia spp.</i>	-	-	-	85.71 %

Tabelul 2 – Ponderea tulpinilor de bacili gram negativi nefermentativi rezistenți la carbapeneme în perioada 2017-2018

Rezultatele obținute relevă faptul că cefalosporinele de generație a 3-a ar putea fi

utilizate cu rezultate bune pentru terapia empirică a infecțiilor cu *E. coli* non-ESBL dar în cazul acestor tulpini ca și în infecții cu celelalte Enterobacteriaceae sau bacilii nonfermentativi, este importantă cunoașterea situației rezistenței la antibiotice din spitalul sau departamentul de unde provine pacientul pentru o prescripție cât mai adecvată. Activitatea in vitro a aminoglicozidelor, mai ales a amikacinei, a fost mai bună in vitro în cazul germeilor studiați dar sunt bine cunoscute limitele utilizării acestora datorate nefrotoxicității. Și în cazul fluorochinolonei, terapia empirică poate fi riscantă datorită nivelurilor înalte de rezistență (cu excepția *E. coli*) dar pot constitui alternative de tratament după testarea prin antibiogramă.

Datele obținute sunt în concordanță cu cele comunicate de România și cu cele publicate de rețeaua europeană EARS-Net, bacilii gram negativi având uneori rezistență combinată la cefalosporine de generație a 3-a, aminoglicozide și fluorochinolone. Carbapenemele sunt drogurile de rezervă încă în terapia multor infecții produse de acești germeni. Creșterea procentului de tulpini rezistente de carbapeneme de *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter spp.* este o serioasă amenințare și necesită prescripție responsabilă, măsuri ferme de izolare a pacienților și optimizarea strategiilor de evitare a răspândirii în mediul spitalicesc și în comunitate.

### Concluzii

În cazul *E. coli*, majoritatea tulpinilor izolate au fost sensibile la antibioticele din diverse clase testate iar sensibilitatea la

carbapeneme a fost 100%.

Celelalte tulpini de Enterobacteriaceae au avut rezistență variabilă la antibioticele din diverse clase ceea ce susține necesitatea antibiogrammei pentru optimizarea terapiei.

Au fost izolate tulpini rezistente la carbapeneme de *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. și *Pseudomonas* spp., la ultimii doi germeni în proporții relativ ridicate, aspect alarmant în contextul în care aceste antimicrobiene sunt antibiotice de rezervă pentru infecțiile cu acești germeni.

Studiul susține importanța prescripției raționale, pe baze științifice, a carbapenemelor, monitorizarea selecției și răspândirii mecanismelor de rezistență și adoptarea de strategii solide, bine documentate, pentru utilizarea judicioasă, de la început, a noilor alternative terapeutice.

### Bibliografie

- [1] CDC Global Health Report - Antibiotic resistance: a global threat. 19 septembrie 2018. <https://www.cdc.gov/features/antibiotic-resistance-global/index.html>
- [2] Codjoe F.S., Donkor E.S. – Carbapenem resistance: a review, *Medical Sciences (Basel)*, 2018, 6(1): 1.
- [3] Doi Y. - Treatment Options for Carbapenem-resistant Gram-negative Bacterial Infections, *Clinical Infectious Diseases*, 2019, vol. 13;69(Supplement\_7): S565-S575.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] Labarca J.A., Salles M.J., Seas C., Guzman-Blanco M. - Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America, *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(2):276-92.
- [7] Lyman M., Walters M., Lonsway D. et al – Notes from the field: carbapenem resistant Enterobacteriaceae producing Oxa-48-like carbapenemases, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2015, vol. 64, nr. 47, pg. 1315-1316.
- [8] Nakano R. – Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE): a menace to the public and the mechanisms of antimicrobial resistance, *The Japanese Journal of Antibiotics*, 2016, 69(2):81-89.
- [9] Nordmann P., Poirel L. – Epidemiology and diagnostics of carbapenem resistance in gram-negative bacteria, *Clinical Infectious Disease*, 2019, 13;69(Supplement\_7):S521-S528.
- [10] Popescu G., Codiță I., Szekely E. et al – Ghid privind Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemaze: diagnostic, prevenirea transmiterii interumane și tratamentul infecțiilor produse, 2016. <https://cnscbt.ro/index.php/ghiduri-si-protocoale/ghiduri/522-ghid-privind-enterobacteriaceae-producatoare-de-carbapenemaze-diagnosticul-prevenirea-transmiterii-interumane-si-tratamentul-infecțiilor-produse/file>
- [11] Rice L. - Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. In: *Journal of Infectious Diseases*, 2008, 197, p. 1079–1081.
- [12] Santajit S., Indrawattana N. - Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens, *Biomed Res Internat*, 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871955/>
- [13] Suay-Garcia B., Perez-Garcia M.T - Present and Future of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) Infections, *Antibiotics (Basel)*, 2019, 8(3): 122.
- [14] Van Duin D., Doi Y. - The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Virulence*. 2017, 19;8(4):460-469.
- [15] WHO - Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. Geneva, 2014. <https://www.who.int/drugresistance/documents/surveillance-report/en>
- [16] WHO - Antibiotic resistance is one of the biggest threats to global health, food security and development today, 2018. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- [17] WHO - Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics., 2017. [https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short\\_Summary\\_25Feb-ET\\_NM\\_WHO.pdf](https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf)
- [18] Zhanel G., Lawrence C., Adam H. - Imipenem-Relebactam and Meropenem-Vaborbactam: Two Novel Carbapenem-β-Lactamase Inhibitor Combinations, *Drugs*, 2018 78(1):65-98.

Contribuția autorilor: conceptualizare: MI; culegerea datelor MI, scriere-pregătirea textului inițial MI; revizuire și editare: MI

Conflict de interese: Nu există conflict de interese