

STUDIUL ASUPRA SPECTRULUI DE INFECTII SI PATTERN-ULUI DE REZISTENTA LA ANTIMICROBIENE LA ENTEROBACTERIACEAE

STUDY ON THE SPECTRUM OF INFECTIONS AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE PATTERN IN ENTEROBACTERIACEAE

Mihaela Elena Idomir

Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania din Braşov

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

Abstract:

The aim of this retrospective study was to analyze the spectrum of infections and the antibiotic resistance of the Enterobacteriaceae isolated from hospitalized patients. The most often isolated were *E. coli* (59%), *Klebsiella* sp. (24.7%) and *Proteus* sp. (12.3%). Enterobacteriaceae have been implicated in a wide range of infections, more often in urinary and wound infections. *E. coli* have presented higher levels of resistance to ampicillin (64%) and trimetoprim-sulfametoxazol (38.3%). In *Klebsiella* sp. and *Proteus* sp. there have been registered relatively high levels of resistance to the majority of the tested antimicrobials, except to imipenem and amikacin. The share of ESBL strains for the studied group was of 19.1%, being more present in *E. coli* (47.8%) and *Klebsiella* sp. (40.7%).

Key-words: Enterobacteriaceae, infections, antimicrobial resistance

Introducere

Familia Enterobacteriaceae include bacili gram negativi ce au fost încadrați taxonomic în 28 de genuri bacteriene dintre care 23 includ specii de importanță medicală (peste 100 specii). Sunt germeni aerobi facultativ anaerobi, glucozofermentativi, mobili sau imobili, nepretențioși nutritiv, prezenți în microbiota intestinală la om și animale și larg răspândiți în mediu [1].

Enterobacteriile reprezintă bacteriile cele mai frecvent izolate din speciile clinice, mai des implicate în patologia umană fiind specii din genurile *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Serratia*. Acești germeni pot fi izolați din prelevate foarte diverse și implicați etiologic în infecții cu orice localizare în organism care pot evolua cu grade variabile de severitate, până la șocul endotoxinic. Pacienții imunodeprimați, tratați sau supuși unor proceduri medicale invazive în scop diagnostic sau prognostic au susceptibilitate crescută la infecții cu acești germeni. Foarte îngrijorătoare este în prezent creșterea selecției și răspândirii tulpinilor rezistente la antibiotice [11,14].

Escherichia coli este cauza cea mai frecventă a infecțiilor sistemice și a infecțiilor urinare comunitare și nosocomiale [5]. Acești

germeni pot fi implicați în infecții cutanate și ale țesuturilor moi, peritonite, meningite. *Klebsiella pneumoniae* se asociază mai frecvent cu infecții urinare, respiratorii sau sistemice, mai ales la pacienți imunodeficienți, intubați sau sondați, putând fi cauza unor izbucniri epidemice în spitale [6, 15].

În cazul Enterobacteriaceaelor, rezistența la antibiotice poate fi intrinsecă sau dobândită fiind datorată unor mecanisme diferite: impermeabilitate a structurilor bacteriene (deficit de porine membranare), apariția de sisteme de eflux, modificarea țintei, inactivarea antibioticelor prin penicilinaze, cefalosporinaze, β -lactamaze cu spectru extins (ESBL = Extended Spectrum Beta-Lactamases) sau AmpC, carbapemenaze (metalo-betalactamaze IMP, VIM, NDM, serin-betalactamaze KPC și oxacilinaze tip OXA-48). [8, 11]

Emergența și răspândirea tulpinilor producătoare de ESBL ridică serioase dificultăți în terapia infecțiilor nosocomiale datorită rezistenței la antibiotice. Mai frecvent, acest mecanism a fost depistat la *E. coli*, *Klebsiella* spp. și *Enterobacter* spp. [3]

Carbapenemele constituie antimicrobienele de rezervă și terapia empirică de preferat în infecțiile severe cu Enterobacteriaceae. Rata deceselor în infecțiile sistemice cu

enterobacterii producătoare de carbapemenaze este de 40-50% [10, 11].

Ca o consecință a utilizării cefalosporinelor cu spectru larg și carbapenemelor, mai ales în secțiile de Terapie intensivă, se pot selecta tulpini panrezistente de Enterobacteriaceae (care sunt rezistente chiar la antibioticele de salvare, de ultimă linie – carbapeneme și colistin) ceea ce constituie o serioasă îngrijorare deoarece în aceste cazuri nu mai există opțiuni terapeutice valabile [2].

Klebsiella species sunt germeni potențial patogeni izolați cel mai frecvent de la acești pacienți iar Klebsiella pneumoniae constituie specia de Enterobacteriaceae ce poate deveni mai des producătoare de carbapemenaze, aceste tulpini fiind responsabile de creșterea morbidității și mortalității în aceste departamente [13].

Conform datelor European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), în 2012 ponderea E. coli din infecții invazive rezistente la cefalosporinele de generația 3 a fost de 11,9% în Europa și 25-50% în România. În cazul carbapenemelor, ponderea a fost sub 0,1%. La Klebsiella spp. din infecții invazive, ponderea tulpinilor rezistente la cefalosporinele de generația 3 a fost de 25,6% în Europa și 25-50% în România. În cazul carbapenemelor, ponderea tulpinilor rezistente a variat în Europa, în România fiind 10-25% [15].

Conform datelor EARS-Net publicate în anul 2014, ponderea E. coli din infecții invazive rezistente a fost 31,3% la fluorochinolone, 29,4% la cefalosporine, 17,2% la aminoglicozide și 0,7% la carbapeneme. Ponderea Klebsiella species a fost 66% la fluorochinolone, 73,3% la cefalosporine, 67,3% la aminoglicozide și 31,5% la carbapeneme. [16]

Scopul studiului a constat în analiza spectrului de infecții și pattern-ului de rezistență pentru tulpinile din fiecare gen din familia Enterobacteriaceae izolate de la pacienții spitalizați în perioada studiată în vederea evaluării gradului de implicare în patologie a acestor germeni condiționat patogeni și a dificultăților terapiei etiologice.

Material și metodă

Studiul realizat a fost retrospectiv, descriptiv fiind analizate 2451 tulpini bacteriene din familia Enterobacteriaceae izolate din diverse prelevate ale pacienților internați în

Spitalul Clinic Județean de Urgență Brașov în perioada 1.01.2015-31.12.2015. Au fost prelucrate bacteriologic și considerate ca având semnificație etiopatogenică prelevatele normale sterile sau cu un caracter inflamator (aspect macroscopic purulent / mucopurulent, frecvente leucocite polimorfonucleare neutrofile la examinarea microscopică, bacterioscopie pozitivă).

Pentru izolarea germenilor din familia Enterobacteriaceae din prelevatele recoltate de la pacienți au fost utilizate medii de cultură solide (Oxoid: Columbia Blood Agar Base cu adăus de 5% sânge de berbec, Brilliance UTI Agar, Mac Conkey Agar).

Identificarea de gen s-a bazat pe testele biochimice clasice (Oxoid: Triple Sugar Iron, Agar Urea Agar Base; Simmons Citrate Agar; SIM Medium), confirmate, în anumite situații clinice, pe sistemul automat VITEK 2 COMPACT.

Pentru testarea sensibilității la antibiotice a tulpinilor de Enterobacteriaceae izolate a fost folosită de rutină tehnica antibiogrammei difuzimetrice, interpretată conform CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) din anul 2015. Pentru confirmarea rezultatelor antibiogrammei și detecția mecanismelor de rezistență în cazul unor tulpini multirezistente a fost realizată tot pe sistemul automat VITEK 2 COMPACT.

Pentru interpretarea antibiogramelor difuzimetrice, au fost utilizate calificativele sensibil (S), intermediar sensibil (IS), rezistent (R).

Pentru detecția tulpinilor de Enterobacteriaceae producătoare de ESBL s-a practicat testul de sinergie folosind biodiscuri Oxoid (ceftazidime - 30 μg, amoxicilină - clavulanat - 20+30 μg, ceftazidime - 30 μg).

Rezultate și discuții

În figura 1 sunt prezentate genurile bacteriene din familia Enterobacteriaceae izolate în perioada studiată și gradul de implicare în patologie al acestora la pacienți spitalizați.

Se poate constata că pe primul loc ca frecvență de izolare în perioada studiată s-a situat Escherichia coli (59%), urmată de Klebsiella species (24,7%) și Proteus species (12,3%). Acest rezultat este influențat de faptul că majoritatea produselor biologice de la pacienții spitalizați, prelucrate bacteriologic, din care au fost izolați germeni din familia

Enterobacteriaceae, au fost urini. Deși frecvența patogen crescând la pacienții spitalizați a izolării a fost redusă, este de menționat rolul Serratia species.

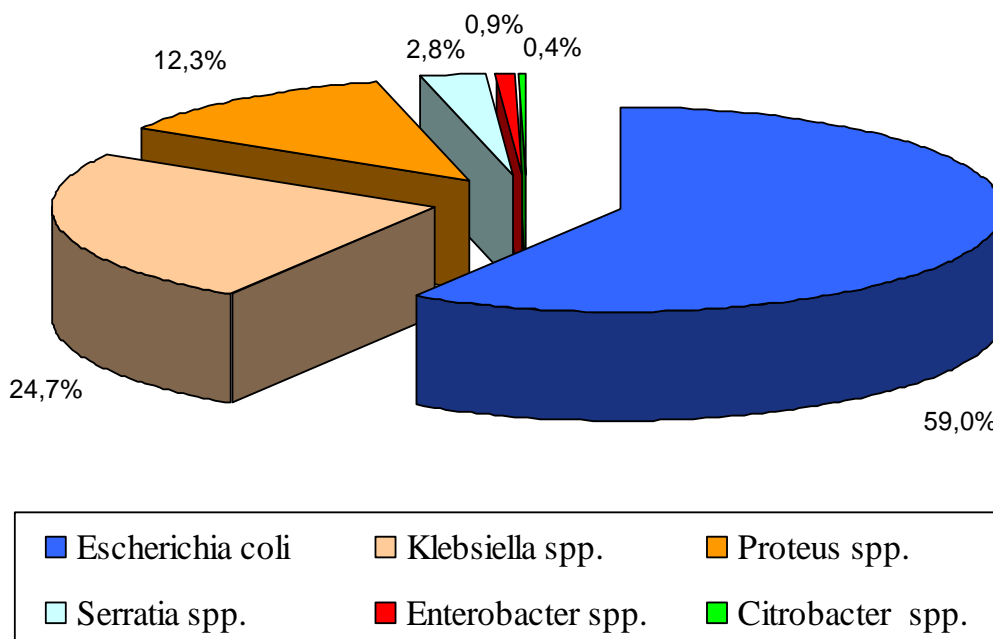


Figura 1 – Genuri de Enterobacteriaceae izolate în perioada studiului

Primul obiectiv al studiului retrospectiv asupra familiei Enterobacteriaceae a constat în evaluarea spectrului de infecții produse de fiecare dintre genurile izolate, așa cum rezultă din figurile 2-5.

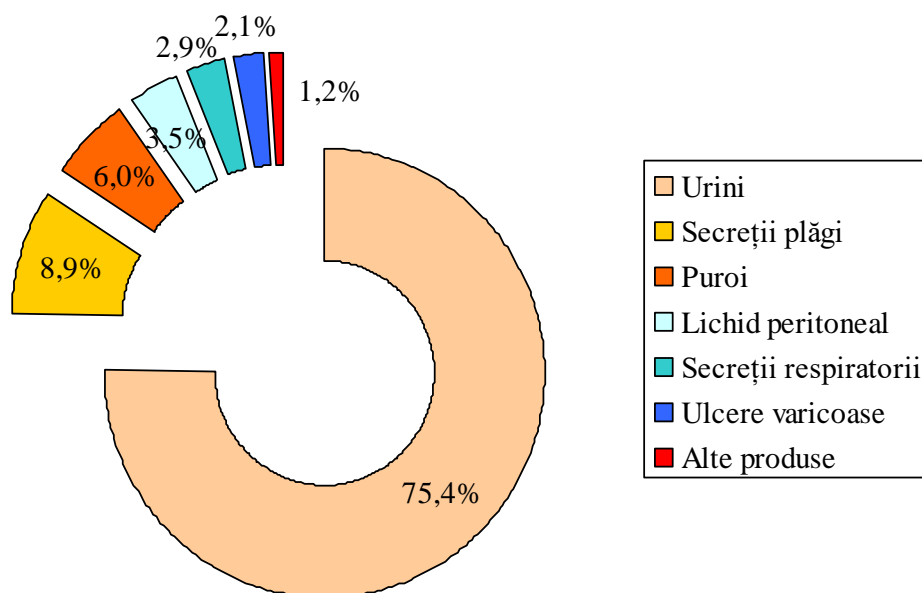


Figura 2 – Spectrul infecțiilor produse de Escherichia coli

În perioada studiată, spectrul infecțiilor determinate de E. coli a fost larg fiind dominat de infecțiile urinare (75,4%), urmate de infecții ale plăgilor și țesuturilor moi. 16 dintre cele 42 secreții respiratorii infectate au provenit de la pacienți intubați.

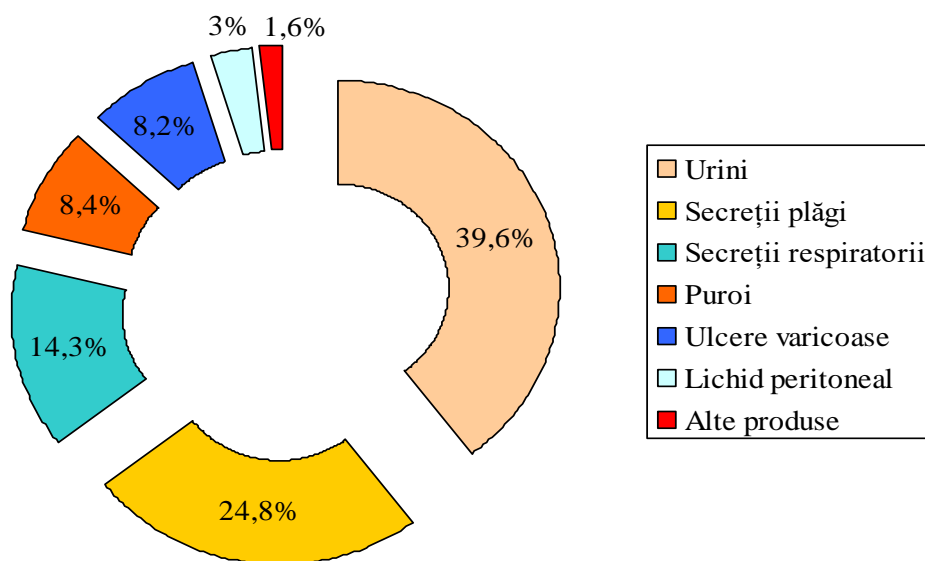


Figura 3 – Spectrul infecțiilor produse de *Klebsiella* spp.

De asemenea, tulpinile de *Klebsiella* species izolate în timpul studiului au fost implicate etiologic mai frecvent tot în infecții urinare (39,6%) și infecții ale plăgilor (14,3%)

dar și în infecții respiratorii inferioare (8,4%), mai ales ale unor pacienți intubați (47 din cele 87 de secreții respiratorii analizate).

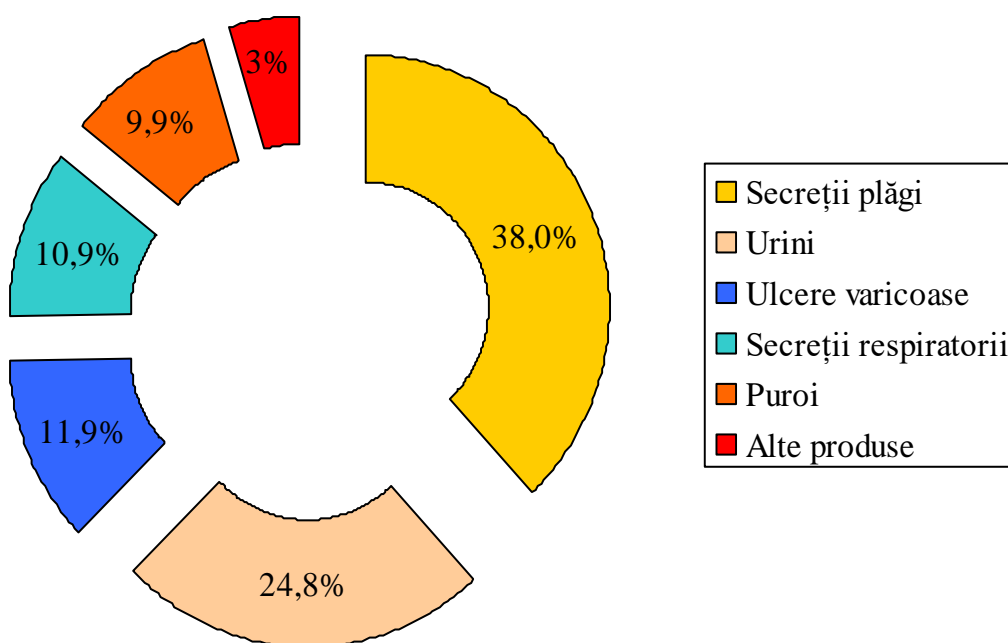


Figura 4 – Spectrul infecțiilor produse de *Proteus* spp.

În perioada studiată, spectrul infecțiilor determinate de *Proteus* species a fost larg fiind dominat de infecțiile de plagă (38%), urmate de infecții urinare, ale ulcerelor varicoase și ale

tractului respirator (toate secrețiile infectate de la nivelul căilor respiratorii au provenit de la pacienți intubați).

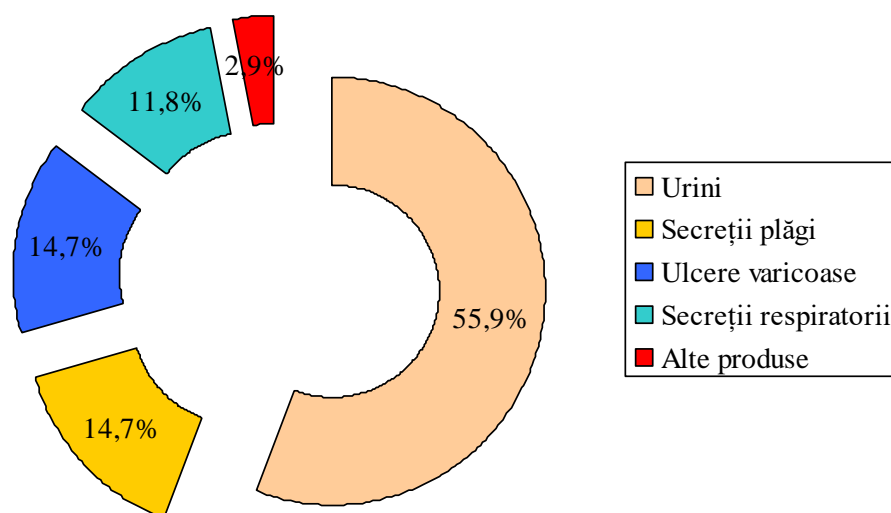


Figura 5 – Spectrul infecțiilor produse de *Serratia* spp.

Serratia spp. a fost implicată cu precădere în infecții urinare (55,9%) dar și în infecția plăgilor, a ulcerelor varicoase și a tractului respirator la pacienți intubați.

Spectrul infecțiilor produse de *Enterobacter* și *Citrobacter* spp. a fost similar în

perioada studiului dar numărul de tulpini izolate a fost redus (*Enterobacter* – 21, *Citrobacter* - 9).

Al doilea obiectiv al studiului a constat în analizarea rezistenței la antibiotice a tulpinilor de *Enterobacteriaceae* izolate, pentru fiecare gen antibacterian, așa cum rezultă din figurile 6-9.

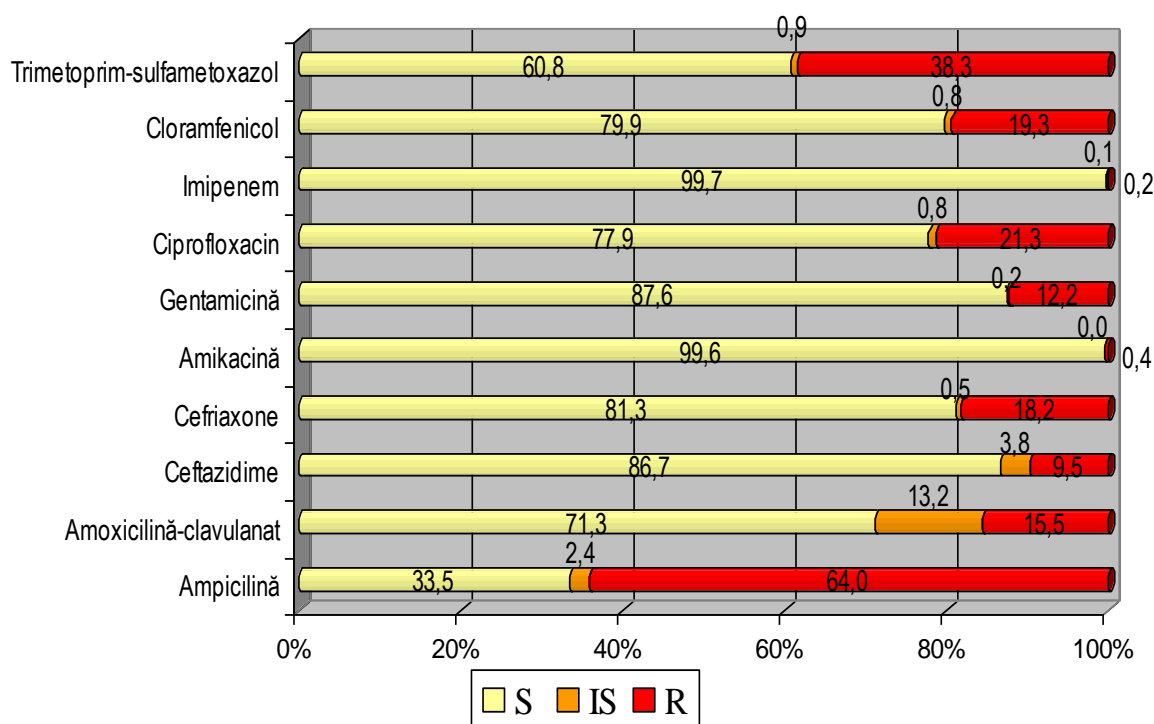


Figura 6 – Rezistența la antibiotice a *Escherichia coli* în perioada studiului

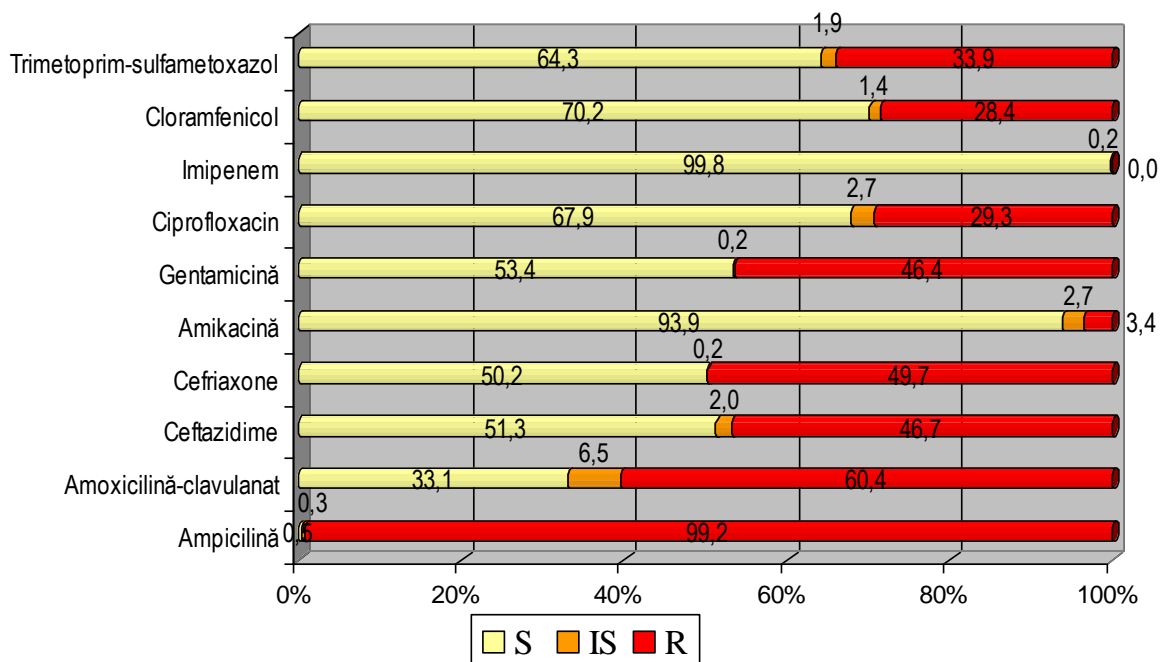


Figura 7 – Rezistența la antibiotice a Klebsiella spp. în perioada studiului

Tulpinile de E. coli au prezentat nivele mai ridicate de rezistență la ampicilină (64%) și trimetoprim-sulfametoxazol (38,3%), antibiotice

ce au fost mai mult utilizate pentru terapia infecțiilor urinare. Nu au fost identificate tulpini rezistente la carbapeneme (imipenem).

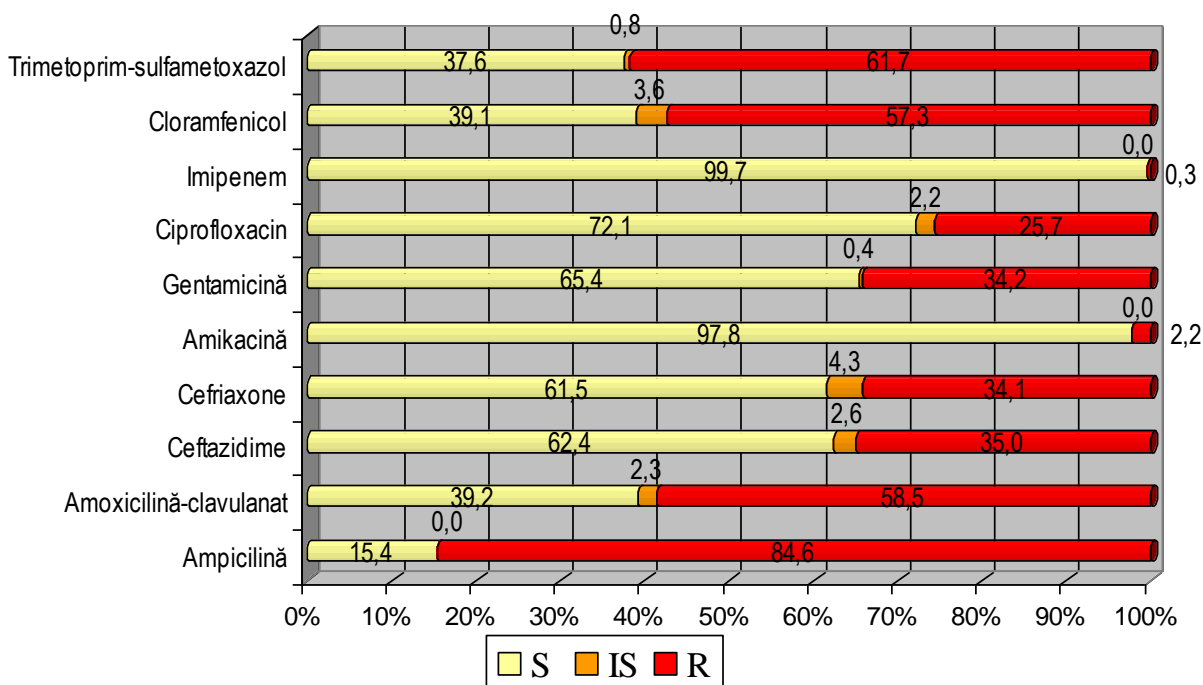


Figura 8 – Rezistența la antibiotice a Proteus spp. în perioada studiului

Tulpinile de Klebsiella spp. și Proteus spp. izolate au prezentat nivele relativ ridicate de rezistență la majoritatea antibioticelor testate, cu

excepția imipenemului și a amikacinei. La ampicilină, rezistența Klebsiella spp. este naturală.

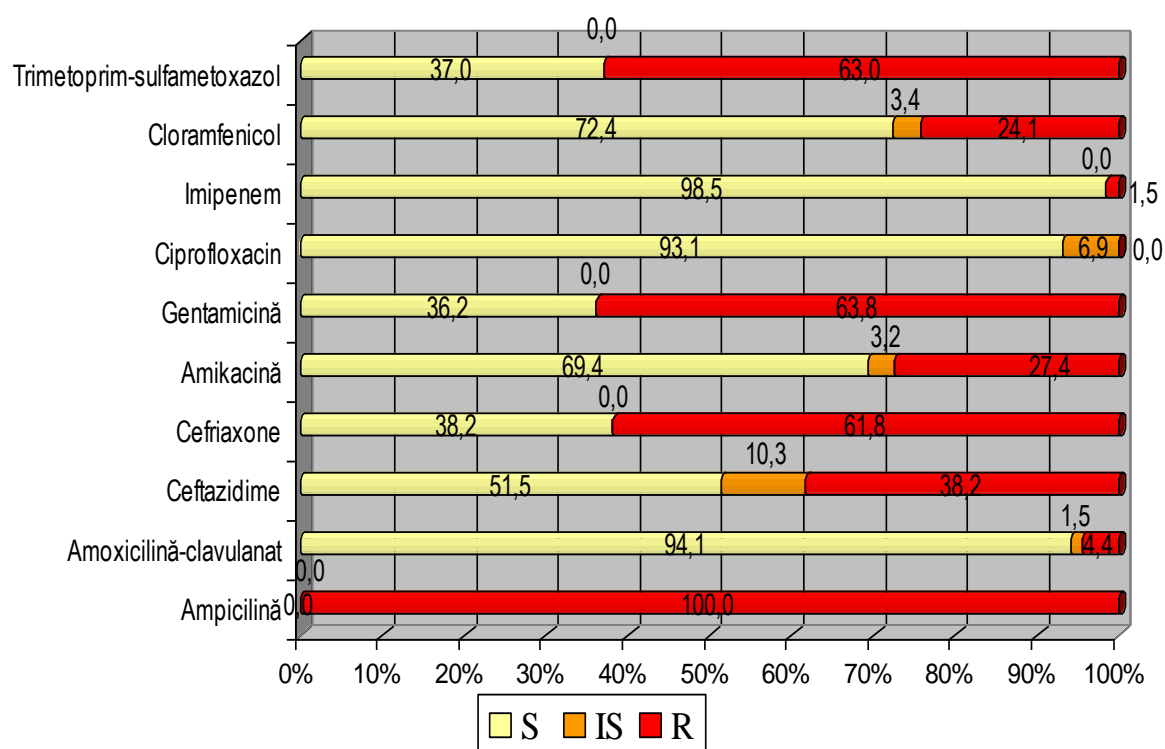


Figura 9 – Rezistența la antibiotice a *Serratia* spp. în perioada studiului

În cazul *Serratia* spp., sensibilitatea tulpinilor testate a fost a mai ridicată la imipenem (98,5%), amoxicilina-clavulanat (94,1%) și ciprofloxacina (93,1%).

Numărul tulpinilor de *Enterobacter* spp. și *Citrobacter* spp. izolate fiind redus, nu au fost analizate rezultatele antibiografei.

Un alt obiectiv al studiului asupra

germenilor din familia Enterobacteriaceae a constat în evaluarea ponderii tulpinilor producătoare de β-lactamaze cu spectru extins (ESBL = Extended Spectrum Beta-Lactamases) din totalul tulpinilor izolate precum și distribuția acestora în raport cu genurile bacteriene, așa cum rezultă din figurile 10 și 11.

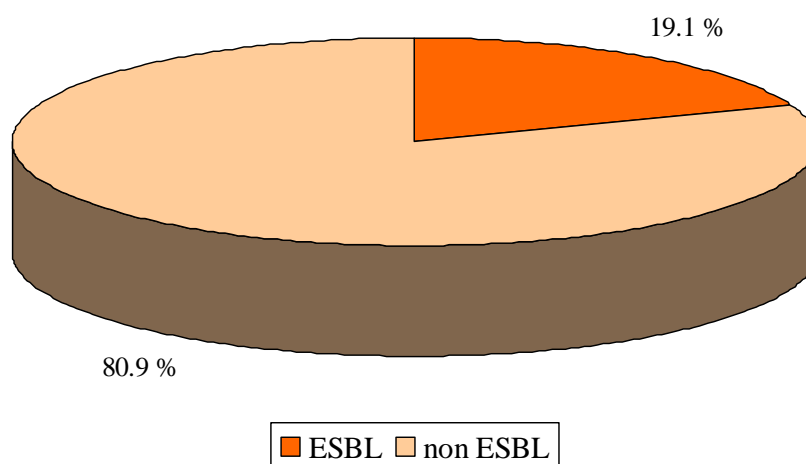


Figura 10 – Pondereea tulpinilor ESBL din totalul tulpinilor de Enterobacteriaceae

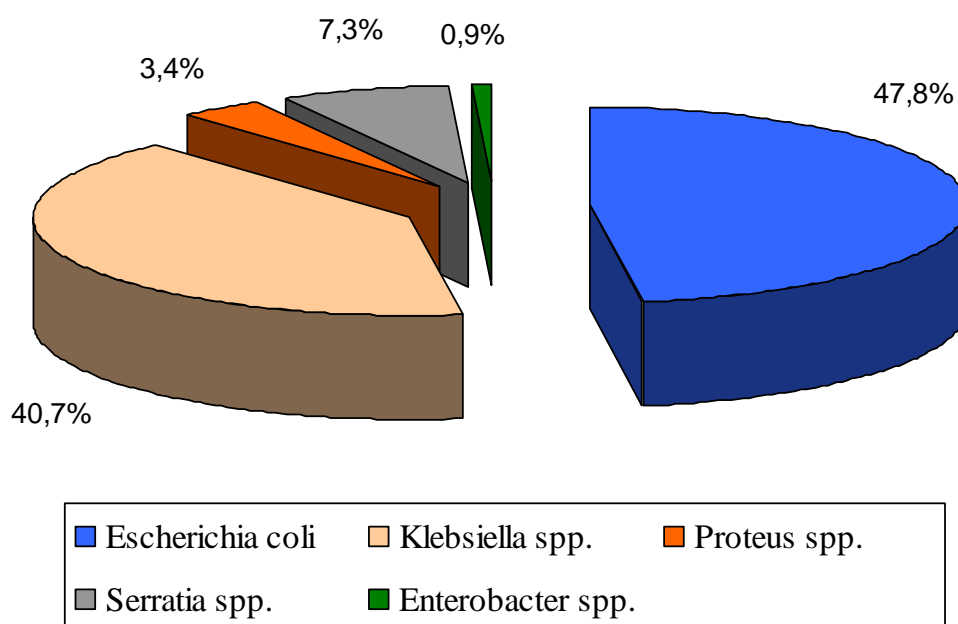


Figura 11 – Distribuția pe genuri a tulpinilor ESBL

Analizând rezultatele studiului de față comparativ cu cele obținute în studii anterioare desfășurate în aceeași unitate medicală, se poate constata că implicarea în patologie a acestor germeni a fost relativ constantă la pacienții spitalizați, mai frecvent fiind izolați în infecțiile urinare, urmate de infecțiile de plagă. [5, 6, 12]

Ponderea tulpinilor ESBL a fost mai ridicată în perioada studiată comparativ cu alte studii (2015 – 19,1%; 2008 – 8,9%; 2009 – 15,5%), procente mai ridicate înregistrându-se tot la *E. coli* și *Klebsiella spp.* (2015 – 40,7%; 2009 – 23,2%). [3,4,6]

În concordanță cu rezultatele studiilor desfășurate în alte unități medicale sau anterior în același spital, au fost înregistrate grade diferite de rezistență la antibioticele testate, mai ridicate în cazul *Klebsiella spp.* Imipenemul rămâne încă antibioticul de salvare pentru infecții severe cu acești germeni, procentele de rezistență fiind foarte reduse. [6, 7, 9, 13]

Nivelele rezistenței la antibiotice obținute ca urmare a studiului retrospectiv efectuat se încadrează în intervalul raportat sistemului de supraveghere europeană EARS-NET 2012 pentru România. Comparativ cu datele publicate de EARS-Net în anul 2014, ponderea tulpinilor rezistente a fost mai redusă. [15,16]

Concluzii

1. Numărul germeilor din familia Enterobacteriaceae izolați a fost ridicat în perioada de un an studiată (2451), studiul relevând implicarea frecventă a acestor germeni condiționat patogeni în infecții la pacienții spitalizați.
2. Din punct de vedere al frecvenței de izolare, pe primele locuri s-au situat *Escherichia coli* (59%), *Klebsiella spp.* (24,7%) și *Proteus spp.* (12,3%).
3. Spectrul infecțiilor cu *Escherichia coli* a fost larg în perioada studiată, mai frecvent acești germeni fiind izolați din urină (75,4%), secreții de plagă (8,9%) și puroi (6%).
4. *Klebsiella species* au fost mai frecvent implicate în infecții urinare (39,6%), ale plăgilor (14,3%) și ale tractului respirator inferior (8,4%), mai ales în cazul pacienților intubați.
5. *Proteus species* a fost izolat din diverse prelevate ale pacienților spitalizați, mai frecvent din secreții de plagă (38%), urină (24,8%), secreții din ulcere varicoase (11,9%) și tractul respirator inferior la pacienți intubați (10,9%).
6. Tulpinile de *E. coli* au prezentat nivele mai ridicate de rezistență la ampicilină (64%) și trimetoprim-sulfametoxazol (38,3%). La *Klebsiella spp.* și *Proteus spp.* au fost înregistrate nivele relativ crescute de

rezistență la majoritatea antimicrobienele testate, cu excepția amikacinei și a imipenemului care rămâne antibioticul de rezervă în cazul infecțiilor produse de Enterobacteriaceae multirezistente.

7. Ponderea tulpinilor ESBL a fost de 19,1%, mai frecvent fiind observate la *E. coli* (47,8%) și *Klebsiella* spp. (40,7%).

Studiul relevă rolul tot mai important ocupat de Enterobacteriaceae în patologie, diversitatea genurilor implicate, variabilitatea infecțiilor în care pot fi implicați etiologic și rezistența la antibiotice din diverse clase care reprezintă o amenințare continuă în mediul spitalicesc necesitând o monitorizare permanentă, optimizarea raportării rezultatelor antibiogramelor, a achizițiilor și a prescripției de antimicrobiene.

Bibliografie:

- [1] Buiuc D., Neguț M. – Tratat de microbiologie clinică, Editura Medicală, București, 1999, pg. 699-701.
- [2] Davin-Regli A., Pages J.M. – Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment, *Frontiers in microbiology*, 2015, vol. 6, pg. 392.
- [3] Dima L., Idomir M., Indrea A., Manafu E. – Infecții cu Enterobacteriaceae producătoare de ESBL – prevalență și aspecte terapeutice, *Jurnal Medical Brașovean*, 2010, nr. 3, pg. 66-72.
- [4] Gales A.C., Castanheira M., Jones R.N., Sader H.S - Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010), *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases.*, 2012, 73(4):354-60.
- [5] Idomir M., Gavrilă G., Nemet C., Chichernea N., Manafu E. – Infecțiile urinare cu enterobacteriaceae – dificultăți terapeutice, *Jurnal Medical Brașovean*, 2010, nr. 3, pg. 62-65.
- [6] Idomir M., Nemet C., Badea M. – Antimicrobial resistance of *Klebsiella* strains isolated from hospitalized patients, *Bulletin of the Transilvania University of Brașov, Series VI, Vol. 4(53), No 2, 2011*, pg. 133-138.
- [7] Idomir M., Nemet C., Pascu A., Moleavin I. - Imipenem resistance among Gram negative bacilli, *Bulletin of Transilvania University of Brașov, "Transilvania" University Press Brașov*, vol.15(50), 2008, pg. 43-46.
- [8] Jehl F., Chomarar M., Weber M., Gerard A. – De la antibiogramă la prescripție – ediția a III-a, Editura Orizonturi, 2010, pg. 66-70.
- [9] Khorshidi A., Sharif A. - Imipenem resistance among Gram-negative and Gram-positive Bacteria in Hospitalized Patients, *Iran Journal of Public Health*, 2010, 39(2): 110–113.
- [10] Paterson D.L. - Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae, *American Journal of medicine*, 2006 Jun;119(6 Suppl 1):S20-8; discussion S62-70.
- [11] Popescu G.A., Codiță I., et al - Ghid privind Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemaze: diagnosticul, prevenirea transmiterii interumane și tratamentul infecțiilor produse, http://www.srm.ro/pdf/ghid%20carbapenemaze_final_23.09.2015.pdf
- [12] Radu G., Ștefan M., Idomir M. – The spectrum of infections and the resistance to antibiotics of Enterobacter species, *Bulletin of Transilvania University of Brașov – Series VI: Medical Sciences, Vol. 5(54), No. 2, 2012*, pg. 51-56
- [13] Sanchez G.V., Master R., et al – *Klebsiella pneumoniae* antimicrobial drug resistance, United States, 1998-2010, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 19, No. 1, 2013.
- [14] Winn W. Jr., Allen Stephen, Janda W., Koneman E., Procop G., Schreckenberger P., Woods G. - Koneman's Color Atlas and Textbook of diagnostic microbiology – sixth edition, Chapter 6 – The Enterobacteriaceae, Lippincott Williams&Wilkins, 2006, pg. 212.
- [15] Annual epidemiological report Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections 2014 ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-annual-epidemiological-report.pdf
- [16] Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2014.pdf