

REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE A UNOR TULPINI BACTERIENE IZOLATE PRIN HEMOCULTURĂ

Anca Ungureanu*, Lucreția Ungureanu**, Isabela Siloși***, Elena Buteică****

REZUMAT

În lucrarea de față am luat în studiu 824 hemoculturi provenite de la pacienți internați în secțiile Spitalului Județean Târgu-Jiu cu suspiciunea de septicemie sau bacteriemie în perioada 2001-2005.

Pentru testarea sensibilității și rezistenței tulpinilor microbiene la antibiotice am utilizat antibiograma prin metoda difuzimetrică.

Rezultatele obținute au fost următoarele:

- *Escherichia coli* a fost rezistentă la Kanamicină (100%), Streptomycină (88,9%), Ampicilină (85,7%);
- *Pneumococul* a fost rezistent în procent de 100% la Cloramfenicol, Tetraciclină și Kanamicină;
- *Streptococul* a fost rezistent în procent de 100% la Ampicilină, Kanamicină, Cefotaxim, Norfloxacin;
- *Stafilococul* a avut o rezistență de 100% la Penicilină și de 75% la Cotrimoxazol și Cefotaxim.

Cuvinte cheie: hemocultură, rezistență, antibiotice.

ABSTRACT

The antibiotics resistance of some isolated bacterial strains through hemoculture

In the present paper we have studied 824 hemocultures from in-patients at Tg.-Jiu's General Hospital, with the presumption of being infected with septicemia or bacteriemia, between 2001 and 2005.

In order to test the sensibility and resistance of the strains to antibiotics, we have used the antibiogram through diffusimetric method.

There are the following results:

- *Escherichia coli* was resistant to Kanamycin (100%), to Streptomycin (88,9%), to Ampicillin (85,7%);
- *Pneumococcus* was resistant to Chloramphenicol, to Tetracycline and Kanamycin (100%);
- *Streptococcus* has resisted 100% to Ampicillin, Kanamycin, Cefotaxim, Norfloxacin;
- *Staphylococcus* has resisted 100% to Penicillin and 75% to Cotrimoxazol and Cefotaxim.

Key words: hemoculture, resistance, antibiotics.

Introducere

Hemocultura reprezintă însămânțarea și incubarea unei probe de sânge într-un mediu de cultură adecvat și urmărește izolarea și identificarea bacteriilor sau fungilor antrenați de curentul circulator în anumite condiții patologice.

De-a lungul timpului s-au căutat metode cât mai rapide de izolare a agenților infecțioși, concomitent cu realizarea unor recipiente cu mediu selectiv strict aseptice pentru prelevarea sângelui în scopul prevenirii suprainfecției, toate acestea efectuându-se în ideea stabilirii cât mai rapid a unui tratament antiinfecțios specific. (1, 2).

Mediul de cultură din recipientele respective trebuie să conțină substanțe ce favorizează dezvoltarea germeului microbial ce ar putea fi prezent în sângele recoltat pentru hemocultură, aceasta devenind o importantă metodă de diagnostic ce poate orienta terapia antimicrobiană a unor boli infecțioase grave.

Studiul de față a avut drept obiective izolarea și identificarea unor germeni microbieni prin hemocultură, precum și studiul rezistenței acestora la diferiți agenți antimicrobieni.

Material și metode

În lucrarea de față am luat în studiu 824 hemoculturi

provenite de la pacienți internați în secțiile Spitalului Județean Târgu-Jiu cu suspiciunea de septicemie sau bacteriemie în perioada 2001-2005.

Momentul optim al recoltării sângelui pentru hemocultură este în timpul unui frison deoarece bacteriemia maximă precede de obicei simptomatologia clinică. Recoltarea a fost făcută la nivelul unei vene a plicii cotului, realizându-se anterior antiseptizarea regiunii și folosindu-se un balon de hemocultură cu circuit închis. Am recoltat 3 hemoculturi în decurs de 24 de ore în septicemii și în decurs de 48 de ore în bacteriemii.

Mediul de cultură utilizat a fost mediul 1 al Institutului Cantacuzino cu rezazurină, realizând un raport între sânge și mediu de 1/10. Incubarea s-a realizat la 37°C timp de 7 zile.

Am efectuat examinarea macroscopică zilnic în primele 5 zile și la sfârșitul perioadei de incubare. În cazul apariției turbidității, hemolizei, producerii de gaz, peliculă sau sediment, am efectuat examinări microscopice prin frotiuri colorate Gram și subculturi pe mediile geloză-sânge, geloză-chocolat, agar albastru de brom timol lactozat și geloză înclinată, incubarea realizându-se aerob și anaerob. În cazul subculturilor pozitive am efectuat identificarea germeilor microbieni pe baza caracterelor de cultură, morfologice și biochimice.

*Anca Ungureanu - Conf. univ. dr., Disciplina Microbiologie, UMF Craiova

**Lucreția Ungureanu - Medic primar Medicină de Laborator, Spitalul Județean Tg.-Jiu

***Isabela Siloși - Asist. univ. dr., Disciplina Imunologie, UMF Craiova

****Elena Buteică - Conf. univ. dr., Disciplina Biologie moleculară - Genetică, UMF Craiova.

Pentru testarea sensibilității germeilor la agenți antiinfecțioși am utilizat antibiograma prin metoda difuziv-metrică. Mediul de cultură utilizat a fost geloză Muller-Hinton, fiind însământat cu cultura bacteriană peste care au fost depuse microcomprimate cu antibiotice, substanța antimicrobiană difuzând în mediu și realizând un gradient de concentrație din ce în ce mai mic. Citirea diametrelor zonelor de inhibiție a creșterii germeilor a fost făcută în concordanță cu normele NCCLS (National Clinical Committee for Laboratory Standard).

Rezultate și discuții

Rezultatele obținute sunt redată în tabelele I-VII și figurile 1-7.

Tabelul I Rezistența E. coli la antibiotice

Antibiotice	Rezistent (%)	Sensibil (%)
Ampicilină	85,7	14,3
Kanamicină	100	-
Gentamicină	33,3	66,7
Cloramfenicol	20	80
Tetracilină	16,7	83,3
Cotrimoxazol	44,4	55,6
Amoxicilină	25	75
Trimetoprim	100	-
Ceftazidim	40	60
Ciprofloxacina	50	50
Colistin	11,1	88,9
Furazolidon	40	60
Nitrofurantoin	66,6	33,3
Acid nalidixic	33,3	66,7
Streptomycină	88,9	11,1
Cefuroxim	75	25

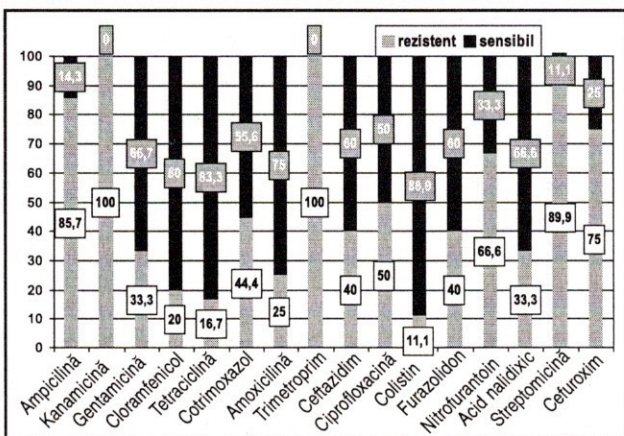


Figura 1. Rezistența E. coli la antibiotice

Rezistența E. coli la antibiotice este în majoritatea cazurilor peste 50% din tulpini. O sensibilitate relativă se păstrează pentru colistin (sensibilitatea 88,9%), tetracilină (83,3%) și cloramfenicol (80%). Este de reținut rezistența mare la ampicilină (85,7%) și trimetoprim (100%). Aproximativ 1/3 din tulpinile de E. coli sunt rezistente la acid nalidixic.

Tabelul II Rezistența Pneumococului la antibiotice

Antibiotice	Rezistent (%)	Sensibil (%)
Penicilină	16,7	83,3
Oxacilină	33,4	66,7
Ampicilină	40	60
Kanamicină	100	-
Gentamicină	33,3	66,7
Cloramfenicol	100	-
Tetracilină	100	-
Eritromicină	33,4	66,7
Novobiocină	83,4	16,7
Lincomicină	16,7	83,3
Rifampicină	16,7	83,3
Cotrimoxazol	50	50

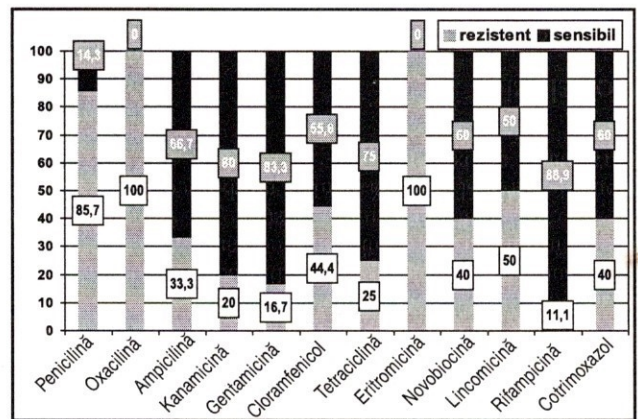


Figura 2. Rezistența Pneumococului la antibiotice

Pneumococul este relativ sensibil la penicilină (83,3%) și rifampicină (83,3%). Sensibilitatea este mai mică pentru ampicilină (60%) și eritromicină (66,7%). Este rezistent la tetracilină (100%) și cloramfenicol (100%).

Tabelul III Rezistența Enterobacterului la antibiotice

Antibiotice	Rezistent (%)	Sensibil (%)
Ampicilină	-	100
Gentamicină	-	100
Cloramfenicol	-	100
Tetracilină	-	100
Cotrimoxazol	100	-
Amoxicilină	100	-
Ceftazolin	-	100
Ciclofloxacina	-	100
Colistin	-	100
Furazolidon	66,6	33,3
Nitrofurantoin	-	100
Acid nalidixic	-	100
Streptomycină	-	100

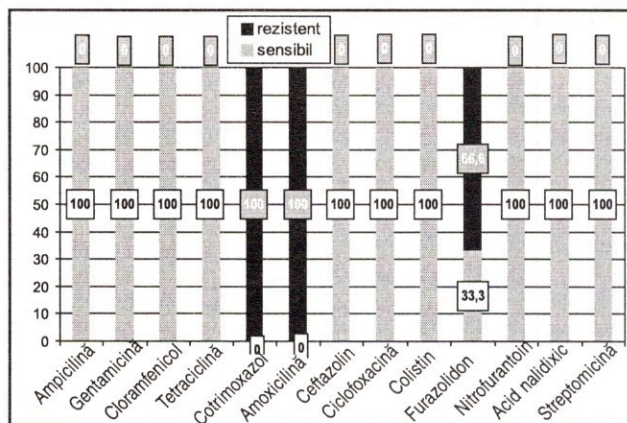


Figura 3. Rezistența Enterobacterului la antibiotice

Numărul de tulpini de enterobacter izolate prin hemocultură a fost mic și deci nu se pot trage concluzii foarte valide. Este de reținut păstrarea sensibilității pentru toate antibioticele testate (cu excepția furazolidonului 66,6%).

Tabelul IV Rezistența Salmonellei la antibiotice

Antibiotice	Rezistent (%)	Sensibil(%)
Ampicilină	-	100
Gentamicină	-	100
Cloramfenicol	-	100
Tetracilină	-	100
Cotrimoxazol	100	-
Amoxicilină	100	-
Ceftazolin	-	100
Ciprofloxacină	-	100
Colistin	-	100
Furazolidon	67	33
Nitrofurantoin	-	100
Acid nalidixic	-	100
Streptomycin	-	100

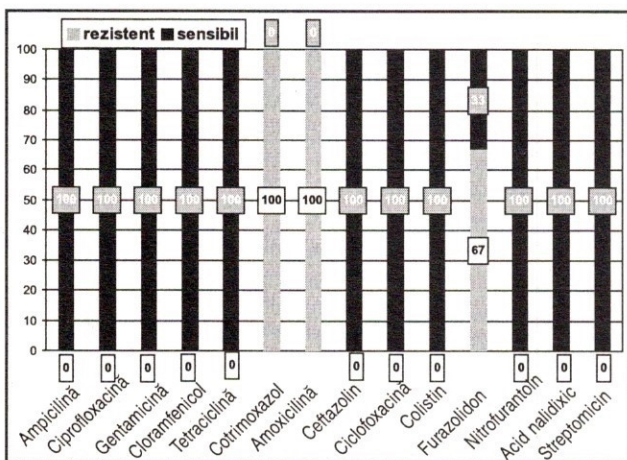


Figura 4. Rezistența Salmonellei la antibiotice

Salmonella a avut o rezistență de 100% pentru Cotrimoxazol și Amoxicilină și de 67% pentru Furazolidon.

Tabelul V Rezistența Streptococului la antibiotice

Antibiotice	Rezistent (%)	Sensibil (%)
Penicilină	80	20
Oxacilină	60	40
Ampicilină	100	-
Kanamicină	100	-
Gentamicină	40	60
Cloramfenicol	100	-
Tetracilină	80	20
Eritromicină	20	80
Novobiocină	80	20
Lincomicină	60	40
Rifampicină	80	20
Cotrimoxazol	100	-
Ceftriaxon	100	-
Cefobid	-	100
Amoxicilină	-	100
Trimetoprim	-	100
Ceftazidim	100	-
Ciprofloxacină	-	100
Norfloxacină	100	-
Cloramfenicol	-	100

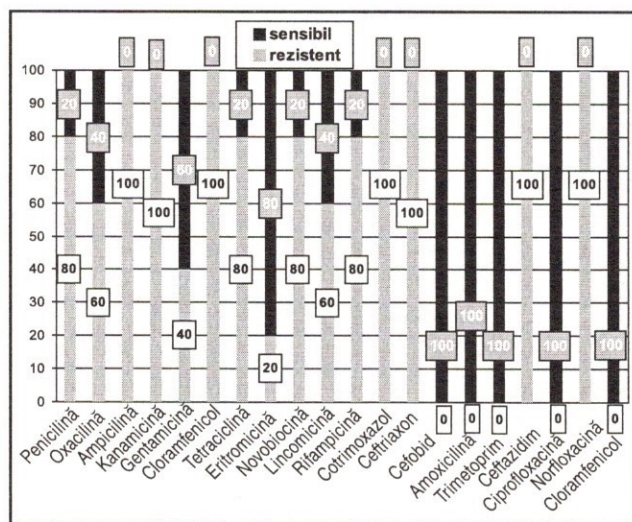


Figura 5 Rezistența Streptococului la antibiotice

Streptococul are o sensibilitate relativă pentru eritromicină (80%). Este rezistent la cloramfenicol (100%) și ampicilină (100%). Pentru restul antibioticelor testate numărul de tulpini a fost mic și deci greu de evaluat.

Tabelul VI Rezistența Stafilococului la antibiotice

Antibiotice	Rezistent (%)	Sensibil (%)
Penicilină	100	-
Oxacilină	25	75
Ampicilină	50	50
Kanamicină	50	50
Gentamicină	50	50
Cloramfenicol	50	50
Tetracilină	25	75
Eritromicină	50	50
Novobiocină	25	25
Rifampicină	50	50
Cotrimoxazol	75	25
Ceftazidim	75	25
Ciprofloxacină	50	50
Norfloxacină	-	100
Cloramfenicol	25	75

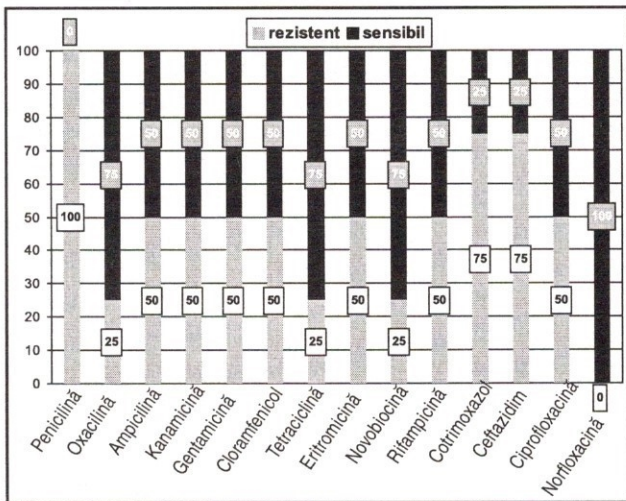


Figura 6 Rezistența Stafilococului la antibiotice

Stafilococul auriu este cu sensibilitate diminuată pentru toate antibioticele testate, cu excepția norfloxacinei (100%). Este 100% rezistent la penicilină și 75% la cotrimoxazol, ceftazidim. Tulpinile rezistente la cloramfenicol sunt în proporție de 25%.

Klebsiella este sensibilă la kanamicină, cloramfenicol, tetracilină, ceftazidim, ciprofloxacină, norfloxacină, acid nalidixic, cefuroxim. Este rezistentă la gentamicină (33%).

Escherichia coli a fost germele cel mai frecvent izolat. Rezistența E. coli la fluorochinolone testată, a relevat o rezistență de 50%. Nivelul acestei rezistențe este dublu de cel de citat de unii autori. Rezistența Escherichiei coli la ampicilină a fost remarcabilă (85,7%) și de asemenea a fost mare pentru cotrimoxazol (44,4%) și cefuroxim (75%). Antibioticele care și-au păstrat activitatea față de Escherichia coli sunt cloramfenicol (80%), tetracilină (83,3%), colistin (88,9%), amoxicilina (75%). Sensibilitatea E. coli la amoxicilina, este mai mare decât datele din literatură. (4, 5)

Tabelul VII Rezistența Klebsiellei la antibiotice

Antibiotice	Rezistent (%)	Sensibil (%)
Ampicilină	50	50
Kanamicină	-	100
Gentamicină	33,3	67,7
Cloramfenicol	-	100
Tetracilină	-	100
Cotrimoxazol	75	25
Cefobil	-	100
Trimetoprim	100	-
Ceftazidim	-	100
Ciprofloxacină	-	100
Norfloxacină	-	100
Colistin	25	75
Furazolidon	33,3	66,7
Acid nalidixic	-	100
Streptomicină	25	75
Cefuroxim	-	100

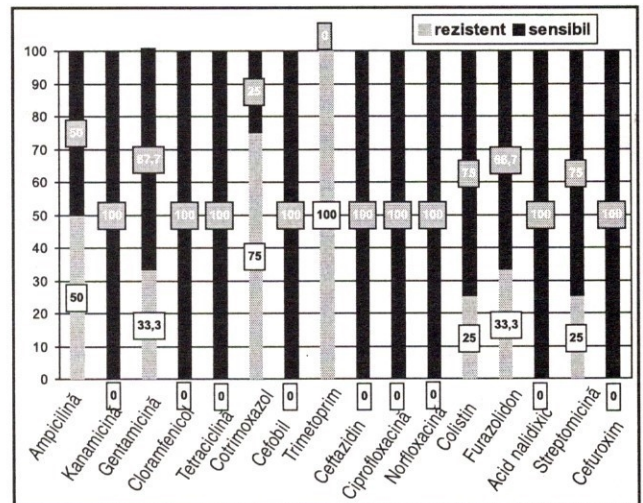


Figura 7 Rezistența Klebsiellei la antibiotice

Rezistența pneumococului la penicilină, a fost de 16,7%. În Bulgaria rezistența la penicilină (medie pe toate produsele patologice) este de 24,3%; pentru tulpinile nazofaringiene, procentul este de 40%. (6)

În Portugalia s-a constatat creșterea rezistenței pneumococului la penicilină și pentru tulpinile invazive (dar la procentele de 10%).

Într-un studiu românesc pe 77 de tulpini de pneumococ izolate din diverse produse patologice, s-a constatat că doar 44,7% sunt sensibile la penicilină. Rezistențe mari s-au relevat și la tetracilină și eritromicină (așa cum am constatat și noi). Această diferență între rezultatele noastre și cele citate în literatură pot fi explicate prin faptul că cifra comunicată se referă la pneumococii izolați din toate produsele patologice. Ei au constatat însă că pneumococii invazivi au o rezistență de 2-3 ori mai mică.

Pentru streptococi, stafilococi și alți gram negativi este

greu de făcut o apreciere a sensibilității la antibiotice dat fiind numărul mic de tulpini cercetate.

Este de semnalat totuși că stafilococul auriu este rezistent în proporție de 50% la ciprofloxacina. De curând a fost descrisă o nouă genă responsabilă de rezistența la chinolone.

Pe studiul nostru nu putem comenta posibilitatea existenței rezistenței stafilococului la vancomicina (așa cum a fost semnalată deja).

La oxacilina au fost sensibili 75% din stafilococi. Tulpinile meticilin-rezistente sunt greu de tratat deoarece ele sunt de fapt multirezistente. Existența tulpinilor multirezistente de stafilococ este întâlnită mai ales în infecțiile nosocomiale (într-o proporție de până la 75%). Implicarea acestei tulpini și în infecțiile comunitive sunt un semnal de alarmă al medicației excesive și moderate cu antibiotice în ambulatoriu.

O soluție terapeutică pentru stafilococii meticilin-rezistenți constă în asocierea de imipenem cu vancomicina. (3)

Pe cele două hemoculturi pozitive cu Salmonella, sensibilitatea a fost de 50% pentru antibiotice clasice active: tetraciclina, amoxicilina.

Concluzii

1. Escherichia coli a fost rezistentă la Ampicilina (85,7%), Kanamicina (100%), Streptomycină (88,9%), Nitrofurantoin (66,6%) și Ciprofloxacina (50%).

2. Pneumococul a fost rezistent în procent de 100% la Cloramfenicol, Tetraciclina și Kanamicina și de 83,4% la Novobiocina.

3. Salmonella a avut o rezistență de 100% pentru Cotrimoxazol și Amoxicilina și de 67% pentru Furazolidon.

4. Streptococul a fost rezistent în procent de 100% la Ampicilina, Kanamicina, Cotrimoxazol, Ceftazidim și Norfloxacin.

5. Stafilococul a avut o rezistență de 100% la Penicilina și de 75% pentru Cotrimoxazol și Ceftazidim.

BIBLIOGRAFIE

1. **Alario A. J., Nelson E. W., Shapiro E. D.** – Bloom cultures in the management of febrile outpatients later found to have bacteremia. *J. Pediat.* 1999, 15:195.

2. **Collington P., Chan R., Munro R.** – Rapid diagnosis of intravascular catheter-related sepsis. *Arch. Intern. Med.* 1997, 147:1609.

3. **Fukuoka T. et al.** – Combination effect between imipenem and vancomycin on highly methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Ipn-J-Antibiot.* 1997 Apr, 50(4):411-419.

4. **Lelievre H., Gimenez M., Vandenesch F., Reinhardt A., Lenhardt D., Just H. M. Pau M., Ausina V., Etienne J.** – Multicenter clinical comparison of resin-containing bottles with standard aerobic and anaerobic bottles for culture of microorganisms from blood. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1997 Sep; 16(9):669-684.

5. **Murray P. R., Hollick G. E., Jerris R. C., Wilson M. L.** – Multicenter comparison of BACTER 9050 and BACTER 9240 Microbiol. 1998 Jun, 36(6):1601-1610.

6. **Setchanova L.** – Clinical isolated and nosopharyngeal carriage of antibiotic-resistant Streptococcus pneumoniae in Hospital for Infectious Diseases, Sofia, Bulgaria, 1991-1993. *Microbiol. Drug. Resist.* 1995. Spring; 1(1):79-84.