

# INVESTIGAREA ETIOLOGICĂ A INFECȚIILOR BACTERIENE SISTEMICE LA PACIENȚII INTERNAȚI ÎN INSTITUTUL NAȚIONAL DE BOLI INFECȚIOASE „PROF. DR.MATEI BALȘ”

Ioana Bădicuț, Smaranda Botea, Cristina Țenea, Monica Popoiu, Marcela Furtună

Institutul Național de Boli Infecțioase "Prof. Dr. Matei Balș" București

## Cuvinte cheie

bacteriemie, rezistența la antibiotice, ESBL, CoNS

Condiția de risc bacteriemic și septicemic s-a amplificat în ultimele decade. Spectrul etiologic al acestor entități nosologice s-a diversificat mult, a scăzut incidența patogenilor clasici și a crescut cea a microorganismelor oportuniste, foarte variate, habitante normale ale tegumentului, tractusului digestiv, saprofite ale aeromicroflorei. Spectrul de sensibilitate la antibiotice a devenit mult mai restrâns, cu implicațiile corespunzătoare asupra deciziei terapeutice.

**Obiectiv:** Caracterizarea spectrului microbiologic al infecțiilor sistemice; aprecierea rezistenței izolatelor la agenții antimicrobieni.

**Material și metodă:** În perioada ianuarie-decembrie 2005 au fost preluate 3234 hemoculturi în sistem BacT/Alert. Probele pozitive au fost identificate în sistem MICROSCAN și MiniApi. Testarea sensibilității la agenții antimicrobieni s-a efectuat semicantitativ și/sau cantitativ conform CLSI. Analiza statistică a datelor am realizat-o cu ajutorul programelor WHONET 5.3 și EXCEL.

**Rezultate:** au fost identificate 197 hemoculturi real pozitive (6.09%) din care 2 fungice și 195 bacteriene din care: coci Gram-pozitivi (67%) și bacili Gram-negativi (31.97%).

**Concluzii:** se constată reemergența cocilor Gram-pozitivi ca agenți cauzali ai infecțiilor sanguine iar din aceștia: incidența crescută a *S.aureus* (20,40%) și incidența egală a stafilococilor coagulazo-negativi cu *E.coli* (18.87%); creșterea ratei de rezistență la agenții antimicrobieni: MRSE (54,1%), MRSA (50%), *E.coli* (18%) și *K.pneumoniae* (64%) secretoare de ESBL.

## Keywords

bacteriemia, antibiotic resistance, BLSE, CoNS

## Etiological study of bloodstream infections in INBI patients

The bacteremic and septicemic risk conditions have increased over the last decades. The etiological spectrum of these nosological entities has greatly diversified, the classic pathogen occurrences have decreased and those of opportunistic microorganisms have increased; these microorganisms are very diversified and are a normal presence of the tegument, in the digestive system, saprophyte of air-microflora. The sensitivity spectrum to antibiotics has narrowed significantly with corresponding adjustments over the therapeutic decisions.

**Objective:** characterization of microbiological spectrum of systemic infections, interpreting of isolate resistance to microbial agents

**Method and material:** during January-December 2005, 3234 blood cultures have been processed using the BacT/Alert system. The positive samples have been identified using the MicroScan and MiniApi systems. Sensitivity testing has been conducted using semi-quantitative and/or quantitative techniques as per CLSI guidelines. The statistical interpretation of data has been done using the Whonet5.3 and Excel programs.

**Results:** a total of 197 real positive blood cultures have been identified (6.09%) of which 2 were fungi and 195 bacterial from which Gram-positive cocci (67%) and Gram-negative bacilli (31,97%).

**Conclusions:** re-emergence of Gram-positive cocci as a cause of blood infections with high incidence of *S. aureus* (20,40%) and equal incidence of coagulase-negative staphylococci with *E. coli* (18,87%).

Increased resistance to antibiotics for MRSE (54,1% ), MRSA (50%), *E. coli* (18%) and *K. pneumoniae* (64%) ESBL producing.

Infecțiile bacteriene sistemice sunt o cauză majoră de morbiditate și mortalitate. În prezent condițiile de risc bacteremic și septicemic s-au amplificat și diversificat. Spectrul etiologic al acestor entități nosologice s-a diversificat mult, incidența patogenilor clasici a scăzut și dominante au devenit microorganisme oportuniste, deosebit de variate, habitante normale ale tegumentului și tractusului digestiv, saprofite ale ambientului. Tot mai restrâns, dar mult mai variat, a devenit și spectrul de sensibilitate la antibiotice, cu implicațiile corespunzătoare asupra deciziei terapeutice (2).

### Obiectiv

Caracterizarea spectrului etiologic al bacteremiilor și septicemiilor.

Investigarea originii bacteremiilor sau fungemiilor.

Diferențierea de contaminarea cutanată, translocarea digestivă, contaminarea ambientală.

Determinarea rezistenței la antibiotice a izolatelor.

### Material și metodă

În perioada ianuarie-decembrie 2005 am examinat 3234 hemoculturi, de la pacienți cu sindrom febril, în sistem automat BacT /Alert. Din probele pozitive s-au efectuat frotiuri Gram și subculturi pentru identificare și testarea sensibilității.

Semnificația clinică a izolatelor a fost stabilită după următoarele criterii: identitatea izolatului, numărul seturilor de hemoculturi pozitive, timpul de pozitivare al hemoculturilor, izolarea aceluiași microorganism și din alt situs, caracteristici clinice (factori predispozanți, proba terapeutică) (1).

Identificarea izolatelor s-a efectuat folosind sistemele MicroScan și/sau Mini Api iar antibiograma prin metoda automată MicroScan sau difuzimetrică pentru discuri și/sau benzi Etest conform normelor NSSLS (2005).

Prelucrarea statistică a datelor s-a efectuat folosind programele WHONET 5.3 și Excel.

### Rezultate

Din totalul de 3234 hemoculturi, 197 probe au fost real pozitive în proporție de 13,94% (Tabel I).

HEMOCULTURI (2005)	NUMĂR	RATĂ POZITIVARE (%)
POZITIVE	451	13.94
REAL POZITIVE	197	6.09
FALS POZITIVE	254	7.85
NEGATIVE	2783	86.06
TOTAL	3234	

Tabel I Repartiția hemoculturilor

Repartiția patogenilor izolați din infecțiile sistemice monomicrobiene este prezentată în Tabelul II.

MICROORGANISM	NUMĂR	(%)
<i>S. aureus</i>	40	20.30
Stafilococi coagulază negativi	37	18.78
Enterococi	6	3.04
<i>S. pneumoniae</i>	8	4.06
<i>S. viridans</i>	41	20.81
<i>E. coli</i>	37	18.78
<i>K. pneumoniae</i>	12	6.09
Alte enterobacterii	9	4.57
Bacili Gram-negativi nonfermentativi	5	2.53
<i>Candida spp.</i>	2	1.01
TOTAL	197	6.09

Tabel II Microorganisme cu semnificație clinică izolate din hemoculturi

*Staphylococcus aureus* a fost izolat în 20,30% din cazuri iar stafilococii coagulază - negativi au reprezentat 18,78% (Tabel III).

STAFILOCOCI	NUMĂR	(%)
<i>S. aureus</i>	40	20.30
<i>S. epidermidis</i>	14	7.13
<i>S. haemolyticus</i>	6	3.04
<i>S. hominis</i>	11	5.58
<i>S. intermedius</i>	2	1.01
<i>S. capitis</i>	2	1.01
<i>S. simulans</i>	2	1.01

Tabel III- Specii de stafilococi izolate din hemoculturi

Rezistența *S. aureus* la oxacilină a fost de 50% și 47,5% au fost producători de  $\beta$ -lactamază, 45% au fost rezistenți la macrolide, 25% la fluoroquinolone și 25% la aminoglicozide (Fig. 1).

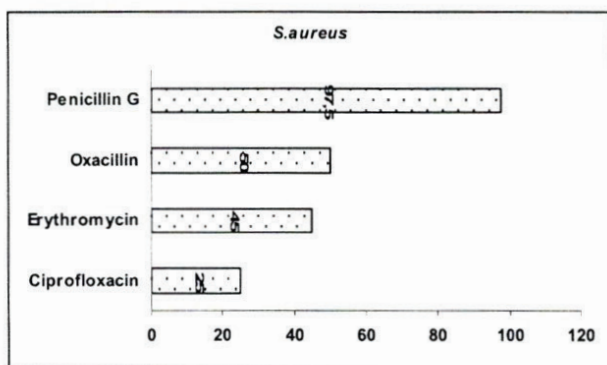


Figura 1 Rezistența *S. aureus* la agenți antimicrobieni

Stafilococii coagulază negativi au fost rezistenți la oxacilină în proporție de 54,1% și 32,4% au fost producători de  $\beta$ -lactamază; 64,9% au prezentat rezistență la macrolide și 38,9% la aminoglicozide (Fig. 2).

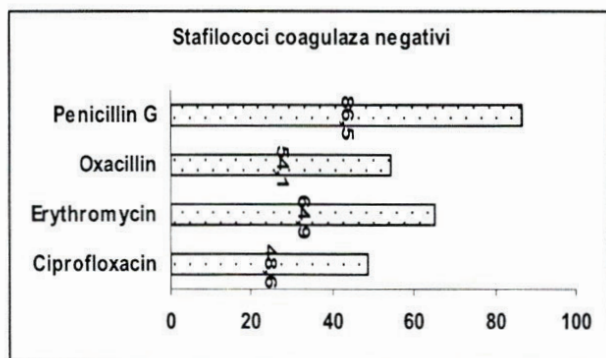


Figura 2 Rezistența speciilor de stafilococi coagulază negativi la agenți antimicrobieni

Izolatele pozitive cu enterococi au reprezentat 3,04% din totalul probelor pozitive și au fost reprezentate de *E. faecalis* (2,04%), *E. faecium* și *E. durans* (Tabel II). În cadrul acestor specii 60% au avut nivel înalt de rezistență la streptomycină și 33,3% la gentamicină în combinație cu 80% rezistență la ciprofloxacin și 66,7% la levofloxacin; 20% au fost rezistenți la ampicilină și 16,7% la penicilină (Fig. 3).

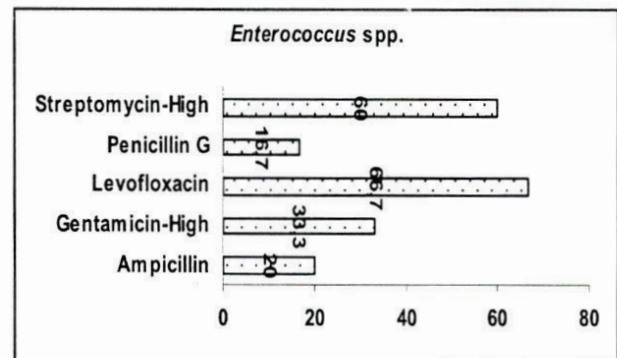


Figura 3 Rezistența speciilor *Enterococcus spp.* la agenți antimicrobieni

*S. pneumoniae* a fost izolat în proporție de 4,08% și în proporție de 20,81% s-au izolat streptococci viridans (Tabel II). Au fost rezistente la penicilină 12,5% din tulpinile de *S. pneumoniae*, 12,5% la macrolide și lincosamide cu păstrarea sensibilității la fluoroquinolone (Fig. 4).

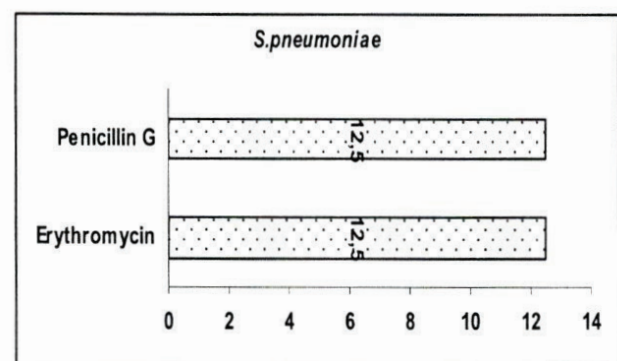


Figura 4 Rezistența *S. pneumoniae* la agenți antimicrobieni

Streptococci viridans au prezentat 21.1% rezistență la penicilină și 36,8% la macrolide (Fig. 5).

Enterobacteriile au reprezentat 29,44% din probele pozitive din care *E. coli* 18,78%, *K. pneumoniae* 6,09% și non-typhoid *Salmonella* 2,53% (Tabel IV).

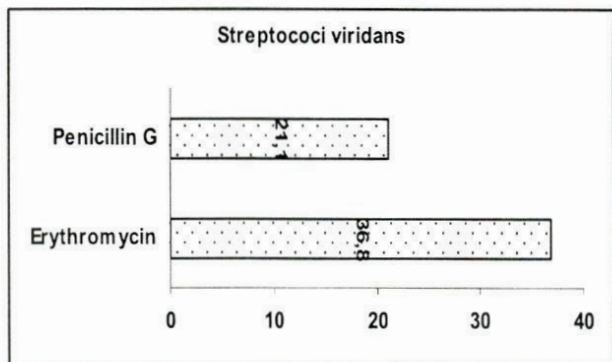


Figura 5 Rezistența speciilor de streptococi viridans la agenți antimicrobieni

BACILI GRAM-NEGATIVI	NUMĂR	%
<i>E. coli</i>	37	18,78
<i>K. pneumoniae</i>	12	6,09
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1,01
<i>Proteus mirabilis</i>	2	1,01
<i>Non-tiphoid-Salmonella</i>	5	2,53
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,50
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	2,03

Tabel IV Bacili Gram-negativi izolați din hemoculturi

Izolatele de *E. coli* au prezentat rezistență la ampicilină în proporție de 31%, la carboxi și ureidopeniciline de 31%, respectiv 29%, o rezistență diminuată la combinațiile cu inhibitori de 9% iar 18% au fost producătoare de ESBL (Fig.6).

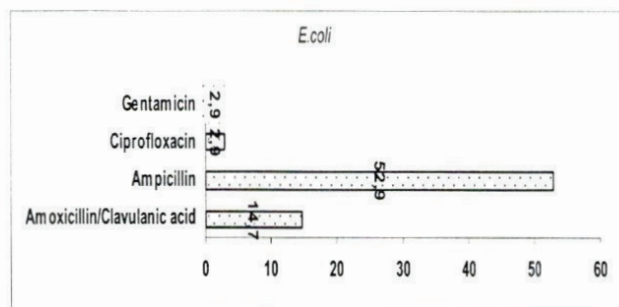


Figura 6 Rezistența *E. coli* la agenți antimicrobieni

*K. pneumoniae* a fost rezistentă în proporție de 100% la ampicilină, de 45,5% la combinația amoxicilină cu acid clavulanic și producătoare de ESBL în proporție de 64% (Fig. 7).

Din grupul bacililor Gram-negativi nonfermentativi 2,55% din izolate au fost reprezentate de speciile *Acinetobacter baumannii* (figura 8) multirezistenți,

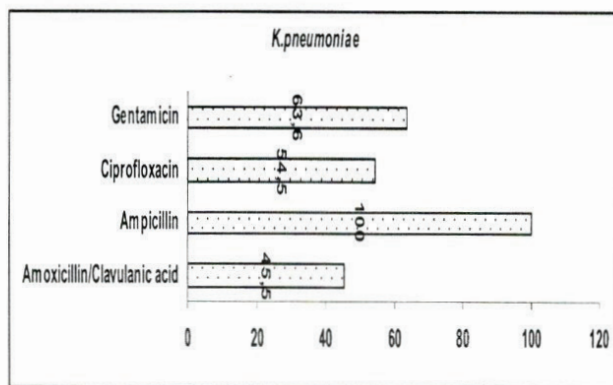


Figura 7 Rezistența *K. pneumoniae* la agenți antimicrobieni

100% rezistenți la amikacină, amoxicilină cu acid clavulanic și aztreonam, 80% rezistenți la gentamicină și ciprofloxacin, 75% la meropenem și 60% la imipenem (Fig. 8).

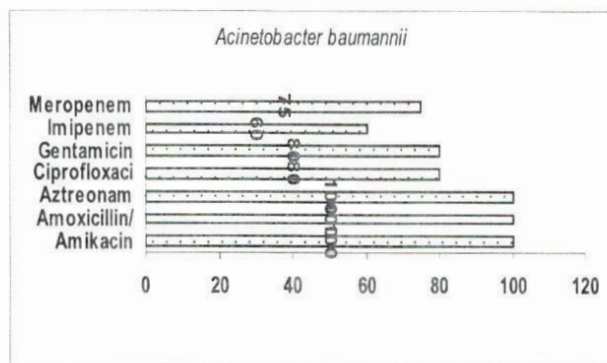


Figura 8 Rezistența *Acinetobacter baumannii* la agenți antimicrobieni

## Discuții

*S. aureus* este o cauză majoră de morbiditate și mortalitate. Infecțiile localizate au tendința de extindere la țesuturile adiacente și frecvent, pe cale sanguină, la situsuri la distanță. În studiul nostru s-a izolat *S. aureus* în 20,30% din cazuri. Din acestea 34% sunt infecții sistemice cu *S. aureus* metilino-rezistent (MRSA) iar 32,3% cu stafilococi producători de β-lactamază. Datele din literatura de specialitate arată ca incidența infecțiilor sistemice cu *S. aureus* variază de la 10% la pacienți în jur de 11ani, la 20% la pacienți în jur de 65 ani (9). Statele membre ale European Academies Science Advisory Council (EASAC) se confruntă cu creșterea incidenței în infecțiile sistemice a *S. aureus* metilino-rezistent (MRSA); de ex. Anglia de la 5% la 50%, iar date recente arată că 25% din acestea, chiar de la internarea în spital. Spre deosebire de aceasta, în Olanda, MRSA are o prevalență foarte joasă, de la 2% în spitale neselecționate, la 4% în

unitățile de terapie intensivă; 11% din pacienți care achiziționează MRSA sunt nerezidenți (7).

Bacteriemii cu stafilococi coagulază negativi (CoNS) sunt de obicei nosocomiale, dar pot fi izolați în aproximativ 8% din cazuri și din infecțiile sistemice comunitare (3). Diferite studii prezintă CoNS ca izolatul cu prevalența cea mai mare în infecțiile sistemice, de la 15% la 30% din hemoculturile pozitive (3), diferența fiind conform criteriilor de interpretare ale pozitivării. În studiul nostru izolatele clinic semnificative cu stafilococi coagulază negativi reprezintă 18,78% din probe, dintre care 38% sunt meticilino-rezistenți și 22,75% producători de  $\beta$ -lactamază.

Infecțiile sistemice cu enterococ sunt în principal nosocomiale (10), cele comunitare ridicând suspiciunea de endocardită. *E. faecalis* (80-90% din izolate) este mai frecvent decât *E. faecium* (5-10%) (1). În studiul nostru s-a izolat *E. faecalis* în proporție de 2,04%. Infecțiile sistemice primare apar de obicei la pacienți imunocompromiși și se pot datora unei translocării intestinale inaparente din tractul digestiv. Infecțiile secundare sunt mai frecvente și derivă de obicei din tractul urinar, digestiv sau din infecții ale țesuturilor moi. Izolatele de *E. faecalis* sunt mai sensibile la ampicilină și vancomicină decât cele de *E. faecium* (1). Rezultatele noastre prezintă, pentru specia *Enterococcus*, 20% rezistență la ampicilină, 60% la concentrațiile înalte de streptomycină, asociate cu 80% rezistență la ciprofloxacina.

Infecția cu *S. pneumoniae* este de obicei comunitară și asociată cu pneumonia, meningita sau otita medie (1) și de 10% nosocomială (11). Nou-născuții și copiii până la 2 ani sunt mai predispuși decât adulții peste 65 ani. Rata rezistenței la penicilină pentru izolatele cu pneumococ a crescut în ultimele decade spre 25-60%, cu variații în funcție de țară, oraș sau spital (11). În Europa se constată un gradient nord-sud pentru rezistența la penicilină: în Spania și Franța rezistența este mai mare de 50% față de Anglia, Germania și Suedia unde este mai mică de 5% (7). Conform raportului EASAC, incidența rezistenței la penicilină, reprezintă o problemă deosebită în estul Europei, SUA și Asia de Sud-Est. În România incidența rezistenței la penicilină este de 25%, iar în studiul nostru a fost de 12,5%.

Streptococii viridans, componentă a florei normale comensale, au fost asociați cu endocardite subacute, în special speciile *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. oralis* și *S. sanguis*. Aceste specii pot cauza bacteriemie și sepsis la pacienții neutropenici, cu neo-

plasmă. În trecut erau considerați uniform sensibili la antibioticele  $\beta$ -lactam, macrolide și tetracycline (1). Emergența tulpinilor rezistente la antibioticele  $\beta$ -lactam și la alte antibiotice a cauzat de multe ori eșecul terapiei profilactice sau curative. Izolatele prelucrate de noi au prezentat 21,1% rezistență la penicilină și 36,8% la macrolide.

Enterobacteriile reprezintă o cauză importantă în etiologia infecțiilor comunitare și nosocomiale, inclusiv în infecțiile sistemice 17% (1) ocupând locul secund în etiologia acestora, după stafilococii coagulază negativi. În studiul efectuat de noi proporția enterobacteriilor a fost de 29,44%. Deși enterobacteriile reprezintă o componentă normală a florei intestinale, pot fi implicate în aproape orice fel de infecție.

*E. coli* cel mai comun izolat patogen în infecțiile comunitare, reprezintă aprox. 7-11% din izolatele infecțiilor nosocomiale (6). Infecțiile sistemice comunitare cu *E. coli* sunt de obicei secundare infecțiilor de tract urinar și mai puțin frecvent infecțiilor de tract gastrointestinal (6). Tulpinile de *E. coli* cauzatoare de infecție sistemică sunt fenotipic similare cu acelea izolate din infecțiile tractului urinar. La pacienții cu infecții nosocomiale sursa de infecție o constituie: cateterele, tractul urinar, gastrointestinal și respirator. La pacienții cu tratament chimioterapic, de obicei poarta de intrare lipsește, iar afectarea mucoasei intestinale determină o translocare bacteriană drept sursă a infecției sistemice. Din evaluările noastre, *E. coli* s-a izolat în 18,78% din cazuri. Datele furnizate de EASAC (7) pentru Europa prezintă în 2004 o rezistență crescută la aminopeniciline, de aprox. 50%, față de 90% în studiul nostru și o rezistență crescută la fluorochinolone, de aprox. 20% față de 10% în studiul nostru. Contribuția la rezistență a secreției de ESBL este în creștere, de peste 30% pentru estul Europei, față de 15% în sud și 5% în nord. În Institutul nostru a fost de 18%.

*Klebsiella* spp. este o cauză frecventă de infecții sistemice nosocomiale cu Gram-negativi, de aprox. 6% și de aprox. 10% din infecțiile sistemice comunitare (5). Asemănător infecțiilor cu *E. coli*, infecțiile sistemice își au originea în situsuri la distanță, de obicei din tractul urinar, tractul respirator inferior, canalele biliare, infecții ale țesuturilor moi. Incidența izolării de *Klebsiella pneumoniae* pentru izolatele noastre, de 6,09% din cazuri, este asemănătoare cu cea comunicată de Wisplinghoff (5).

Speciile non-typhoid *Salmonella* produc de obicei infecții intestinale dar au fost descrise

infecții sistemice comunitare atât la pacienții imunocompromiși cât și la cei sănătoși. Infecțiile bacteriene sistemice apar la aprox. 1-4% din pacienții cu gastroenterite și pot fi cauzate de orice serotip de *Salmonella*. Frecvența este mai mare la pacienții severi, imunocompromiși, ca și la nou-născuți și persoane în vârstă. Pacienții cu infecții sistemice datorate speciilor non-typhoid *Salmonella* prezintă frecvent bacteriemii persistente în ciuda tratamentului antibiotic inițial. În studiul nostru speciile non-typhoid *Salmonella* au fost 2,53%. Rezultatele obținute în 2005, prin Sistemul Național de Supraveghere al Rezistenței la Antibiotice în Georgia/Atlanta, prezintă tulpini de non-typhoid *Salmonella* rezistente la ampicilină, ciprofloxacina și biseptol. Rezultatele testării izolatelor din hemoculturile studiului nostru arată că 33,3% au prezentat rezistență la ampicilină, 16,7% la ciprofloxacina și 66,7% la tetraciclină.

*Acinetobacter* spp. reprezintă un grup heterogen de microorganisme care pot deveni patogeni nosocomiali, în special la pacienții cu mijloacele de apărare ale gazdei deficitare, în condiții de spitalizare în unități de terapie intensivă. Deși speciile de *Acinetobacter* sunt ubiquitare și majoritatea reprezintă contaminanți mai mult decât patogeni, speciile identificate în toate infecțiile sistemice trebuie considerate patogene. În 1995 Seifert et al. au prezentat o incidență de 8,4% pentru *Acinetobacter* spp. În 2004 Wisplinghoff et al. au raportat doar 1-2% pentru *Acinetobacter baumannii*, chiar dacă aceste specii se situează între cele 10 cauze importante ale infecțiilor sistemice. O problemă deosebită o reprezintă, în unitățile de terapie intensivă, rezistența din ce în ce mai crescută a acestor izolate la toate antibioticele, inclusiv la carbapeneme (8). Izolatele de *Acinetobacter baumannii* din studiul nostru au reprezentat 2,03% și au prezentat multi-drog-rezistență cu 75% rezistență la meronem și 60% la imipenem. Experiența europeană arată că *Acinetobacter baumannii* se răspândește în condițiile presiunii unor concentrații mari de antibiotice și ale unei igiene defectuoase în spitale (7).

## Concluzii

Din datele obținute de noi se constată o reemergență a cocilor Gram-pozitivi. *S. aureus* și grupul streptococilor viridans au prezentat o rată aproape egală a izolării (~20.40%). Următoarea specie bacteriană izolată, în ordinea frecvenței, a fost *E. coli* (18,78%).

Rata rezistenței la agenți antimicrobieni pentru tulpinile izolate în hemoculturi a fost crescută. Astfel, rezistența la oxacilină a fost de 54,1% pentru stafilococii coagulază negativi și de 50% pentru *Staphylococcus aureus*. *E. coli* a prezentat o rezistență de 31% la ampicilină și a fost producătoare de ESBL proporție de 18%. *K. pneumoniae* a fost rezistentă în proporție de 100% la aminopeniciline, iar incidența rezistenței pentru *Acinetobacter baumannii* a fost de 100% la aztreonam, amikacină și amoxicilină cu acid clavulanic și de 60% la imipenem.

Actualizarea datelor pentru o corectă apreciere a spectrului etiologic al infecțiilor sistemice poate avea implicație în revizuirea schemelor de antibioticoprofilaxie.

## Bibliografie

1. **Borriello SP, Murray PR, Funke G** - Topley & Wilson's; Bacteriology, vol.1, cp.19(2005)
2. **Buiuc D, Negut M.** -Tratat de Microbiologie Clinică; Ed. Medicală București (1999) Hemocultura, pp.167-186
3. **Diekema DJ, Pfaller MA et al.** - Survey of infection due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in Unites States, Canada, Latin America, Europe and the Westrn Pacific region. Clin.Infect.Dis, 32, Suppl.2(2001)
4. **Diekema DJ, Beekmann SE et al.**- Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. J.Clin. Microbiol., 41, 3655-60(2003)
5. **Elliotte E., Livermore DM** - In vivo development of ertapenem resistance in pacient with pneumonia caused by Klebsiella pneumoniae with an extended- spectrum beta-lactamase. Epub. Jun.1;42(11) (2006)
6. **Farstad H, Gaustad P et al.** - Cerebral venous thrombosis and Escherichia coli infections in neonates. Acta Paediatrica, 92, 254-(2003)7
7. **Spearman D** - Report of European Academies Science Advisory Council (EASAC) (2007)
8. **Wisplinghoff H, Edmond MB et al.**- Nosocomial bloodstream infections caused by Acinetobacter species in U.S. hospitals: clinical features, molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility. Clin.Infect.Dis., 31, 690-7(2000)
9. **Wisplinghoff H, Seifert H et al.**- Systemic inflammatory response syndrome in adult patients with nosocomial bloodstream infections due to Staphylococcus aureus. Clin. Infect.Dis., 33, 733-6(2001)
10. **Wisplinghoff H, Bischoff T et al.** - Nosocomial bloodstream infections in U.S. hospitals: analysis of 24,000 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin.Infect. Dis., 39, 309-17(2004)
11. **Yu VL, Chiou CC et al.** - An international prospective study of pneumococcal bacteremia: correlation with in vitro resistance, antibiotics administered, and clinical outcome. Clin. Infect.Dis., 37, 230-7(2003)