Profilul de rezistență la antimicrobiene al tulpinilor de *Escherichia coli* într-o clinică de boli infecțioase

Lucian Giubelan, Iulian Diaconescu, Livia Dragonu, Andreea Cristina Stoian, Florentina Dumitrescu

Clinica de Boli Infecțioase, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova, România

REZUMAT

Obiective. Stabilirea profilului de rezistență al tulpinilor de *Escherichia coli* (EC) izolate în Clinica de Boli Infecțioase Craiova.

Material și metodă. Studiu retrospectiv (ianuarie 2017-decembrie 2018); EC au fost identificate cu ajutorul sistemului automat Vitek 2, care a stabilit ulterior sensibilitatea acestora la antimicrobiene (testare uzuală la 17 antibiotice, testare extinsă la alte 9); pentru fiecare tulpină, a fost calculat indicele de rezistență MAR (limite: 0-1); informațiile au fost introduse într-o bază de date Excel. Au fost testate 128 de tulpini în 2017 și 592 în 2018. Procentul de tulpini MDR a fost calculat pe baza definițiilor internațional acceptate.

Rezultate. Au fost identificate 720 de tulpini, marea majoritatea izolate prin urocultură (493 tulpini – 68,47%). Date demografice: 508 tulpini (71%) au fost izolate la subiecți adulți, 441 (61%) la pacienți de sex feminin, 411 (57%) la bolnavi ce trăiesc în mediul urban. Valoarea globală a MAR a fost de 0,23 (față de 0,32 pentru ansamblul tulpinilor germinilor Gram negativi izolați). Peste 80% dintre tulpinile de EC a fost sensibile la Ertapenem, Meropenem, Amikacină, Polimixina E, Gentamicină, Tobramicină, Cefoxitin; sensibilități între 60 și 79% au fost observate pentru Cefepimă, Ceftriaxonă, Ciprofloxacina, Ceftazidimă, Levofloxacina, Imipenem, Nitrofurantoin, Cefazolin, iar între 40 și 59% pentru Trimetoprim-Sulfametoxazol și Minociclină. Sub 39% dintre tulpini sunt sensibile la Ampicilină (±Sulbactam), Piperacilină (±Tazobactam), Ticarcilină (±Acid clavulanic), Aztreonam, Pefloxacina. Rezistența la principalele clase de antibiotice este în concordanță cu datele europene și naționale, cu excepția unui procent mult mai mare de tulpini rezistente la carbapeneme. Peste 50% dintre izolate sunt multidrog-rezistente; 48,3% dintre tulpini provin din surse în care există un contact important cu substanțele antimicrobiene.

Concluzii. Peste 80% dintre tulpinile izolate sunt sensibile la Ertapenem, Meropenem, Amikacină, Polimixina E, Gentamicină, Tobramicină, Cefoxitin; un procent de peste 4,5% dintre tulpini demonstrează rezistență la clasa carbapenemelor; peste 50% dintre izolate sunt multidrog-rezistente; 48,3% dintre tulpini provin din surse în care există un contact important cu substanțele antimicrobiene.

Cuvinte cheie: *Escherichia coli*, rezistență la antimicrobiene, MAR

INTRODUCERE

Escherichia coli (EC) este o bacterie Gram negativă (BGN) importantă în patologia umană, generând o paletă largă de infecții (în principal urinare și gastro-intestinale, dar și infecții sistemice, meningeale sau pulmonare). Din punct de vedere epidemiologic, bacteria este capabilă să genereze epidemii de amploare, cum ar fi cea din 2011 (aproape 4.000 de cazuri și 53 de decese) [1-3].

Rezistența la substanțele antimicrobiene este o problemă importantă de sănătate publică la nivel global, recunoscută ca atare de către Organizația Mondială a Sănătății (OMS) care, în septembrie 2016, a convocat o Adunare Generală dedicată în întregime acestui subiect, ocazie cu care a fost lansat un plan global de acțiune împotriva rezistenței la antimicrobiene [4]. În 2017, OMS a publicat o listă de 12 bacterii pentru care este nevoie urgentă de dezvoltare de noi

antibiotice; printre acestea, la prioritatea 1 (necesitate critică) se află enterobacteriaceele (din care face parte și EC) producătoare de betalactamaze cu spectru extins și carbapenemaze [5]. Centrul European pentru Prevenția și Controlul Bolilor (ECDC) publică periodic rapoarte privind rezistența la antibiotice pentru principalele bacterii „problematică”; ultimul raport a fost publicat în 2019 și analizează situația până la sfârșitul anului anterior [6].

La nivel național, proiectul CARMIN-ROM a publicat până în prezent 6 rapoarte (ultimul în 2019, analizând datele disponibile până la sfârșitul lui 2017), în care analizează aspecte de antibiotic-rezistență [7].

Pentru clinicieni, este importantă cunoașterea rezistenței generale la antibiotice a tulpinilor de EC în aria în care aceștia își desfășoară activitatea, pentru un răspuns terapeutic rapid și adecvat.

OBIECTIV

Stabilirea profilului de rezistență al tulpinilor de *Escherichia coli* (EC) izolate în Clinica de Boli Infecțioase Craiova (din cadrul Spitalului de Boli Infecțioase și Pneumoftiziologie „Victor Babeș”).

MATERIAL ȘI METODĂ

Am efectuat un studiu retrospectiv (ianuarie 2017-decembrie 2018) bazat pe datele din registrul laboratorului spitalului. BGN și, în particular, EC au fost identificate cu ajutorul sistemului automat Vitek 2, care a stabilit ulterior sensibilitatea acestora la antimicrobiene; testarea uzuală a fost făcută la 17 antibiotice – 97,08%, testare extinsă pentru alte 8 substanțe antimicrobiene – 1,38%; 10 tulpini – 1,38% au fost testate la 16, iar o tulpină – 0,13% la 14 antibiotice; pentru fiecare tulpină a fost calculat indicele de rezistență MAR (limite: 0-1). Au fost testate 128 de tulpini în 2017 și 592 în 2018. Pentru analiză a fost alcătuită o bază de date Excel.

REZULTATE

Au fost identificate 720 de tulpini (dintr-un total de 1358 de tulpini de BGN, EC fiind cea mai importantă bacterie din acest grup – 53,01%).

Date demografice: vârsta mediană a bolnavilor a fost de 53 de ani (cu limite între < 1 an și 94 ani); 508 tulpini (71%) au fost izolate la subiecți adulți, 441

(61%) la pacienți de sex feminin, 411 (57%) la bolnavi care trăiesc în mediul urban.

Marea majoritate a EC au fost izolate prin urocultură (493 tulpini – 68,47%). O situație exactă a produselor patologice din care s-a izolat bacteria este prezentată în tabelul 1. De menționat că, la pacienții pediatrici, EC nu a fost izolată decât din probe de urină sau fecale. Niciun pacient adult nu a avut coprocultură pozitivă cu EC.

TABEL 1. Tipul și numărul de probe din care s-a izolat EC

Produs patologic	Nr. probe
Urocultură	493
Coprocultură	113
Spută	79
Hemocultură	22
Secreție plagă	4
Aspirat bronșic	3
Secreție vaginală	3
Lichid pericardic	1
Secreție canulă	1
Secreție sondă urinară	1

Profilul de rezistență al EC pentru un anumit antibiotic este prezentat în tabelul 2.

Peste 80% dintre tulpinile de EC au fost sensibile la Ertapenem, Meropenem, Amikacină, Polimixina E, Gentamicină, Tobramicină, Cefoxitin; sensibilități între 60 și 79% au fost observate pentru Cefepimă, Ceftriaxonă, Ciprofloxacină, Ceftazidimă, Levofloxacin, Imipenem-cilastatin, Nitrofurantoin, Cefazolin, iar între 40 și 59% pentru Trimetoprim-Sulfametoxazol și Minociclină. Sub 39% dintre tulpini sunt sensibile la Ampicilină (±Sulbactam), Piperacilină (±Tazobactam), Ticarcilină (±Acid clavulanic), Aztreonam, Pefloxacină. În figura 1 este prezentat grafic profilul de sensibilitate al tulpinilor de EC.

Valoarea globală a MAR a fost de 0,23 (față de 0,32 pentru ansamblul tulpinilor germenilor Gram negativi izolați – date nepublicate). În figura 2 este reprezentată grafic distribuția tulpinilor de EC în funcție de valorile fracțiunilor MAR.

În tabelul 3 este reflectată variația procentului de tulpini de EC rezistente la diferitele clase de antibiotice în doi ani consecutivi (2017 și 2018).

DISCUȚII

Rezistența EC la aminopeniciline în Uniunea Europeană (UE) s-a situat la un nivel ridicat în 2018 (în medie 57,4%), România aflându-se peste această

TABEL 2. Profilul de rezistență al tulpinilor de EC în funcție de antibioticul testat

Antibiotic	s	i	r	s%	i%	r%
Amikacina	681	27	11	94,7	3,8	1,5
Ampicilina	220	19	474	30,9	2,7	66,5
Ampicilina-Sulbactam	296	99	317	41,6	13,9	44,5
Aztreonam*	6	3	8	35,3	17,6	47,1
Cefazolin	450	0	262	63,2	0,0	36,8
Cefepima	567	64	82	79,5	9,0	11,5
Cefo	612	21	80	85,8	2,9	11,2
Ce azidim	554	102	64	76,9	14,2	8,9
Ce xona	557	31	124	78,2	4,4	17,4
Cipr xacina	557	5	156	77,6	0,7	21,7
Ertapenem	689	0	24	96,6	0,0	3,4
Gentamicina	640	5	75	88,9	0,7	10,4
Imipenem-cilasta	13	0	4	76,5	0,0	23,5
Lev xacina	549	4	163	76,7	0,6	22,8
Meropenem	688	6	25	95,7	0,8	3,5
Minociclina*	8	4	4	50,0	25,0	25,0
Nitrofurantoin	521	152	37	73,4	21,4	5,2
Pe xacina*	5	0	10	33,3	0,0	66,7
Piperacilina	237	8	474	33,0	1,1	65,9
Piperacilina-Tazobactam*	6	5	6	35,3	29,4	35,3
Polimixina E*	16	0	2	88,9	0,0	11,1
Ticarclina*	3	0	14	17,6	0,0	82,4
Ticarclina-Acid clavulanic*	1	19	0	5,0	95,0	0,0
Tobramicina	629	4	87	87,4	0,6	12,1
Trimetoprim-Sulfametoxazol	442	0	275	61,6	0,0	38,4

Legenda: s = sensibil, i = intermediar, sensibilitate dependentă de doză, r = rezistent; * = testare extinsă

FIGURA 1. Profilul de sensibilitate la antibiotice a tulpinilor de EC izolate. Legenda: S = sensibil (verde), I = intermediar sensibil, sensibil în funcție de doză (galben), R = rezistent (roșu)

valoare (62,2%, locul 8 în UE), dar în scădere față de 2017 (68,2%), procent confirmat și de către studiul

CARMIN-ROM 2017 (68,7%) [6,7]. În clinica craioveană, procentul de rezistență la aminopeniciline a

FIGURA 2. Distribuția tulpinilor de EC în funcție de valorile fracțiunilor MAR

TABEL 3. Procentul tulpinilor rezistente la diferitele clase de antimicrobiene, 2017 vs. 2018

	AminoP	CEF 3	FQ	AG	CarbaP
2017					
total EC	128	128	128	128	128
r	90	32	30	11	6
%	70,31	25,00	23,44	8,59	4,69
2018					
total EC	592	592	592	592	592
r	384	100	134	82	27
%	64,86	16,89	22,64	13,85	4,56

Legenda: AminoP = aminopeniciline, CEF 3 = cefalosporine de generația a 3-a, FQ = fluoroquinolone, AG = aminoglicozide, CarbaP = carbapeneme, EC = *Escherichia coli*, r = (nr. tulpini) rezistente (la antimicrobiene)

fost de 70,31% în 2017 (90 tulpini rezistente dintr-un total de 128 testate la Ampicilină și Ampicilină/Sulbactam), respectiv 64,86% în 2018 (384 tulpini rezistente din 592 testate), valori ce se suprapun peste cele prezentate anterior. De remarcat faptul că adăugarea inhibitorului de betalactamază (Sulbactam) nu a influențat profilul de rezistență, toate tulpinile testate fiind fie sensibile, fie rezistente la ambele substanțe antimicrobiene.

În ceea ce privește rezistența la cefalosporine de generația a 3-a a fost în medie de 15,1% la nivelul UE (2018), în timp ce România a ocupat locul 7, cu o valoare medie de 20,2% (în scădere ușoară față de 2017 – 22%); conform studiului CARMIN-ROM, în 2017 rezistența EC la această clasă a fost de 20,1% [6,7]. Datele obținute în urma prezentului studiu relevă un

nivel mediu al rezistenței de 25% în 2017 (32 de tulpini testate, rezistente la Ceftriaxonă, Cefotaxim sau la ambele, dintr-un total de 128 de tulpini testate) și de 16,84% în 2018 (100 de tulpini rezistente dintr-un total de 592). Este improbabil ca această scădere să fie efectul unor politici de utilizare a antimicrobienei, ci, mai degrabă, reflectă o îmbunătățire a situației ca urmare a unui număr mai mare de teste efectuate.

Rezistența EC la fluoroquinolone a avut o valoare medie de 25,3% per ansamblul UE, România înregistrând un procent peste aceasta (locul 11), în creștere de la 26,4% (2017) la 29,1% (2018); procentul din 2017 este confirmat și de către studiul CARMIN-ROM (28,4%) [6,7]. Clinica din Bănie se situează sub aceste valori (23,42% în 2017 – 30 tulpini rezistente la Ciprofloxacin, Levofloxacin sau ambele, dintr-un

total de 128 tulpini testate, respectiv 22,63% în 2018, 134 de bacterii rezistente din 592 testate).

Referitor la rezistența la aminoglicozide a bacteriei studiate, nivelul mediu european a fost de 15,9%, România ocupând locul 10 cu o valoare procentuală de 15,2 în 2017, în scădere la 12,8 pentru 2018; procentul din 2017 este confirmat și de către studiul multicentric românesc (15,9%) [6,7]. Datele obținute de către noi arată o valoare procentuală de 8,59% în 2017 (11 tulpini rezistente la Amikacină, Gentamicină, Tobramicină sau la combinații ale acestora, dintr-un total de 128 de tulpini testate), în creștere la 13,85% în 2018 (82 de tulpini rezistente din 592 testate).

Pentru anul 2018, procentul de rezistență al EC la carbapeneme în UE este subunitar, cu excepția Greciei, Bulgariei și Ciprului; studiul CARMIN-ROM a identificat doar două tulpini rezistente din 511 testate [6,7]. Datele noastre arată o situație diferită și îngrijorătoare, procentul de rezistență la Meropenem, Ertapenem sau la ambele fiind de 4,62 în 2017, respectiv 4,56 în 2018. Din cauza numărului mic de tulpini testate, nu am luat în considerare datele pentru Imipenem-cilastatin.

La nivel mondial, au fost descrise tulpini EC rezistente la polimixine [8-10], această clasă de antibiotice fiind considerată o ultimă linie de apărare împotriva

BGN [11]. Au fost identificate în clinica noastră două tulpini rezistente la Colistin, dintr-un număr de 16 teste. Ambele tulpini au demonstrat însă sensibilitate la alte antimicrobiene.

În conformitate cu criteriile de definiție pentru multirezistență (MDR) și rezistență extinsă la antimicrobiene (XDR) [12], am identificat un procent de 51,94% din tulpinile EC ca fiind MDR, dar nu am înregistrat nicio tulpină XDR.

Prin similaritate cu criteriile definite de Kruperman [13], am identificat 348 de tulpini EC (48,33%) cu un indice MAR de peste 0,2. Acest fapt sugerează că aproape jumătate dintre tulpinile analizate provin din surse cu expunere importantă la antibiotice (cel mai probabil intraspitalicești).

CONCLUZII

Peste 80% dintre tulpinile EC izolate sunt sensibile la Ertapenem, Meropenem, Amikacină, Polimixina E, Gentamicină, Tobramicină, Cefoxitin; peste 4,5% dintre tulpini demonstrează rezistență la clasa carbapenemelor; peste 50% dintre izolate sunt multidrog-rezistente; 48,3% dintre tulpini provin din surse în care există un contact important cu substanțele antimicrobiene.

Conflict of interest: none declared
Financial support: none declared

BIBLIOGRAFIE

- Frank C, Werber D, Cramer JP et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*. 2011;365(19):1771-1780.
- Altman M, Wadl M, Altman D et al. Timelines of surveillance during outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Germany, 2001. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(10):1906-1909.
- Buchholz U, Bernard H, Werber D et al. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N Engl J Med*. 2011;365:1763-1770.
- WHO. 2015 Global action plan on antimicrobial resistance, available at: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/>.
- WHO. 2017 WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed, available at: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- ECDC. 2019 Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018, available at: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf>.
- Popescu GA, Șerban R, Niculcea A. 2019 CARMIN-ROM 2017 (Consumul de antibiotice, rezistența microbiană și infecțiile asociate asistenței medicale (nosocomiale) în România – 2017), 41-42, available at: <https://www.cnsrbt.ro/index.php/analiza-date-supeveghere/infectii-nosocomiale-1/1309-consumul-de-antibiotice-rezistent-microbiana-si-infectii-asociate-asistentei-medice-nosocomiale-in-romania-2017/file>.
- Yin W, Li H, Shen Y et al. Novel plasmid-mediated Colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. *mBio*. 2017;8(3):e00543-17.
- Mediavilla JR, Patrawalla A, Chen L et al. Colistin- and Carbapenem-resistant *Escherichia coli* harboring *mcr-1* and *blaNDM-5*, causing a complicated urinary tract infection in a patient from United States. *mBio*. 2016;7(4):e001191-16.
- Carattoli A, Villa L, Feudi C et al. Novel plasmid-mediated Colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro Surveill*. 2017;22(31):30589.
- El-Sayed Ahmed MAEG, Zhang LL, Shen C et al. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: An extended review (2000-2019). *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):868-885.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18:268-281.
- Kruperman PH. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Appl Environ Microbiol*. 1983;46(1):165-170.