

STUDIU ÎN DINAMICA ASUPRA IMPLICĂRII ÎN PATOLOGIE SI REZISTENȚEI LA ANTIBIOTICE A PSEUDOMONAS SPECIES

STUDY ABOUT DYNAMIC INVOLVEMENT IN PATHOLOGY AND ANTIBIOTIC-RESISTANT OF PSEUDOMONAS SPECIES

Conf.univ.dr. *Mihaela Elena Idomir*,
Universitatea Transilvania Braşov,

Autor corespondent: *Mihaela Idomir*, e-mail: midomir@yahoo.com

Abstract:

The aim of this retrospective study was to analyse the involvement in pathology and antibiotic resistance of the Pseudomonas strains isolated from hospitalized patients. The spectrum of infections has been wide, Pseudomonas spp. being more often involved in wound infections (27.1%), infected varicose ulcers (23.2%), respiratory (18.2%) and urinary infections (17.8%). There were reported varying levels of resistance to the tested antibiotics except colistin. The results of the study show the importance of the antibiogram and of monitoring the resistance phenotypes in hospitals.

Key-words: *Pseudomonas, infections, antimicrobial resistance*

Introducere

Genul Pseudomonas grupează specii bacteriene condiționat patogene larg răspândite în natură datorită pretențiilor nutritive minimale și adaptabilității crescute a metabolismului. [1] Sunt germeni ubicvitari cu spectru de gazdă extins (plante, crustacee, pești, reptile, mamifere, om) și au capacitatea de a se dezvolta pe variate substraturi. [2] În fondul microbial de spital sunt bine reprezentați putând fi izolați din soluții (apă distilată, antiseptice, dezinfectante, coliruri, medicamente perfuzabile), de pe instrumentar sau echipamente tehnico-sanitare. [1] Pot coloniza tegumentul și mucoasele nazale, oro-faringiene, anale. [8] Riscul colonizării este ridicat la pacienții cu imunodepresie sau cu breșe ale barierelor tegumentare și mucoase datorate unor manevre medicale (intervenții chirurgicale, ventilație mecanică, traheostomii, cateterizări, implanturi, etc.) sau traume. [8] Principala specie de importanță medicală este Pseudomonas aeruginosa, cu frecvențe mai mici fiind izolate speciile oportuniste P. putida, P. fluorescens, P. alcaligenes, P. pseudoalcaligenes, P. stutzeri și P. mendocina. [1]

Majoritatea infecțiilor comunitare sunt ușoare sau medii în timp ce infecțiile spitalicești au frecvențe mai crescute și evoluție mai severă. Infecțiile comunitare sunt de cele mai multe ori otite externe, ulcere varicoase infectate, infecții oculare (conjunctivite sau cheratite la purtători de lentile de contact). În spitale, localizările sunt

diverse, acești germeni fiind implicați în infecții urinare (mai ales la pacienți sondați), cutanate (infecții ale plăgilor traumatiche sau chirurgicale, escarelor, ulcerelor varicoase, leziunilor din boli dermatologice), otite, oculare, respiratorii, mai rar meningite, endocardite, artrite septice, osteomielite. [2] Frecvența infecțiilor este mai ridicată la pacienții arși, oncologici, suferind de fibroză chistică sau cu transplante de organ, consumatori de droguri. [14] La imunodeficienți infecțiile au tendință de generalizare și evoluție rapidă, fiind mai frecvente septicemia sau pneumonia necrozantă. [2]

Speciile din genul Pseudomonas au o rezistență naturală la unele antibiotice. Fenotipul sălbatic are rezistență naturală la aminopeniciline dar are sensibilitate la alte antibiotice beta-lactamice, aminoglicozide și fluorochinolone. [6] Pot deveni rapid rezistente la alte antibiotice (β -lactamine, aminoglicozide, chinolone, carbapeneme, etc.), mai ales la pacienți spitalizați. [9]

Rezistența dobândită apare prin mecanisme enzimatiche și neenzimatiche. [12] Acestea pot fi codificate cromozomial (mutații genetice spontane) sau pot fi extracromozomiale (achiziții de gene intermediare de plasmide, transpozoni, integroni). [5,6] Varietatea acestor mecanisme duc la selecția de tulpini multirezistente. [13] Adeseori rezistența la β -lactamine se asociază cu cea la aminoglicozide și chinolone. [11]

Enzimele implicate în rezistența bacteriană dobândită la antibioticele β -lactamice sunt penicilinaze transferabile plasmidic, β -lactamaze cu spectru extins (BLSE) tip penicilinaze (TEM, SHV, VEB, FER, GES, CTX-M) sau oxacilinaze (OXA 2, OXA 10), cefalosporinaze și carbapenemaze. [6,12] Mecanismele neenzimatic incriminate sunt pompele de eflux (MexA-MexB-OprM, MexC-MexD-OprJ, MexE-MexF-OprN, MexX-MexY-oprM), deficiențele în sinteza unor porine (OprF, OprD) și modificări ale țintei (DNA-giraza – chinolone, subunitatea ribozomală 30S – aminoglicozide, PBP – beta-lactamine). [5,6,10] Se constată o tot mai largă recunoaștere a rolului pompelor de eflux în rezistența bacteriană la antibiotice care conduce la ideea introducerii de inhibitori ai acestora ca adjuvanți terapeutici. [7]

Scopul studiului efectuat a constat în analizarea în dinamică a spectrului infecțiilor cu *Pseudomonas aeruginosa* și a rezistenței la antibiotice a tulpinilor izolate în vederea evaluării rolului patogen al acestor germeni oportuniști și a posibilelor dificultăți ale terapiei etiologice.

Material și metodă

A fost realizat un studiu retrospectiv, descriptiv fiind analizate implicarea în patologie și rezistența la antibiotice a tulpinilor de *Pseudomonas* species izolate din produsele biologice prelevate de la pacienții internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență din Brașov în perioada 1.01.2013-31.12.2014. Informațiile provin din baza de date a laboratorului clinic al spitalului iar abordarea aspectelor analizate a fost din perspectivă microbiologică, în vederea evaluării fenotipurilor de rezistență a acestor germeni. Menționăm că pe parcursul celor doi ani de studiu au fost considerate ca având semnificație etio-patogenică și au fost supuse prelucrării bacteriologice prelevatele cu caracter inflamator (aspect macroscopic purulent, predominanța leucocitelor polimorfonucleare neutrofile la examinarea microscopică).

Pentru izolarea tulpinilor de *Pseudomonas*, produsele biologice au fost utilizate medii de cultură solide (Columbia Blood Agar Base with 5% sheep blood, Brilliance UTI Agar Mac Conkey Agar) incubate în aerobioză, la 37°C, 24 ore. Identificarea genului *Pseudomonas* s-a bazat pe

caracterele culturilor in vitro (colonii cu reflex metalic, β -hemolitice, pigmentate pe mediile cu sânge, colonii lactoză negative pe mediile selectivo-diferențiale pentru bacili gram negativi, formarea unei pelicule în mediile lichide), mirosul aromatic de tei și reacția oxidazei pozitivă. Pentru toate tulpinile izolate au fost efectuate teste de identificare biochimică (TSI = Triple Sugar Iron Agar Urea Agar Base; Simmons Citrate Agar; SIM Medium).

Pentru testarea in vitro a sensibilității la antibiotice a tulpinilor bacteriene a fost folosită de rutină tehnica antibiogrammei difuzimetrice Kirby-Bauer, interpretată conform CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 2013 și respectiv 2014. Antibioticele testate in vitro au fost amikacină (AK), aztreonam (Azm), cefepime (Fep), ceftazidime (Caz), ciprofloxacin (Cip), gentamicină (G), imipenem (Ipm), levofloxacin (Lev), colistină (Co), piperacilină (Pip), piperacilină-tazobactam (Tzp), ticarcilină-clavulanat (Tim), tobramicină (Tob).

Rezultate și discuții

Primul obiectiv al studiului retrospectiv a constat în analizarea spectrului infecțiilor cu *Pseudomonas* species în perioada studiată (2013-2014), așa cum rezultă din figura 1.

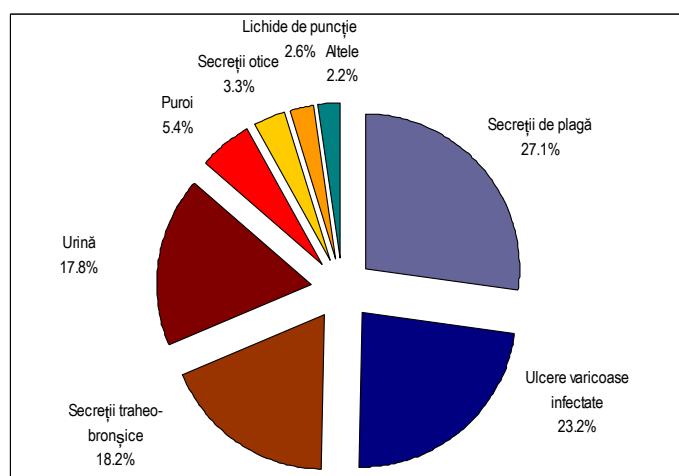


Figura 1 – Spectrul infecțiilor cu *Pseudomonas* species în perioada studiului

Se poate constata că spectrul infecțiilor produse de *Pseudomonas* species a fost foarte larg în perioada studiată. Acest gen bacterian a fost mai frecvent implicat în infecțiile plăgilor, ulcerelor varicoase, ale căilor respiratorii inferioare și urinare. Dintre cele 98 de tulpini

izolate din secreții respiratorii, 66 au provenit de la pacienți intubați. În cazul lichidelor de puncție, au fost 13 probe de lichid peritoneal și 1 probă de lichid pleural. Alte izolări cu frecvențe foarte mici au fost din bilă, secreții nazale și conjunctivale, sânge, catetere.

Am analizat spectrul infecțiilor cu *Pseudomonas* pentru fiecare an calendaristic pentru a observa dacă există diferențe semnificative. Rezultatele sunt prezentate în figurile 2 și 3.

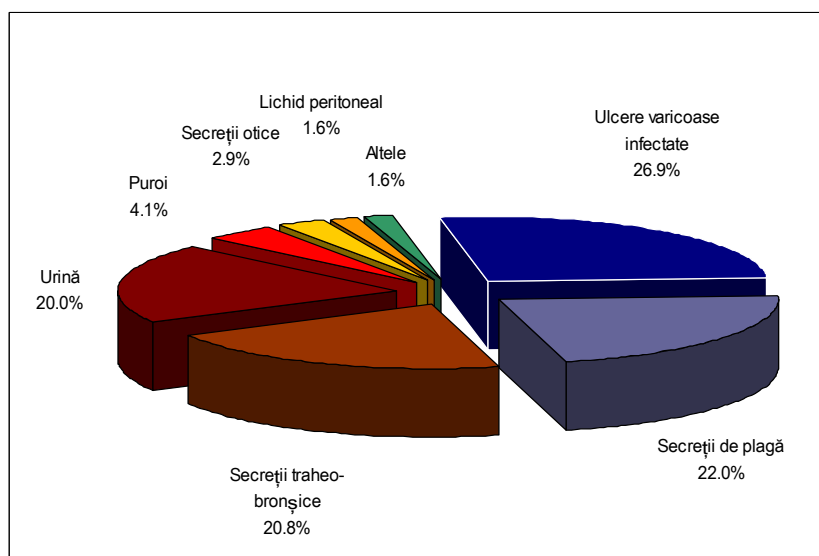


Figura 2 – Spectrul infecțiilor cu *Pseudomonas species* în anul 2013

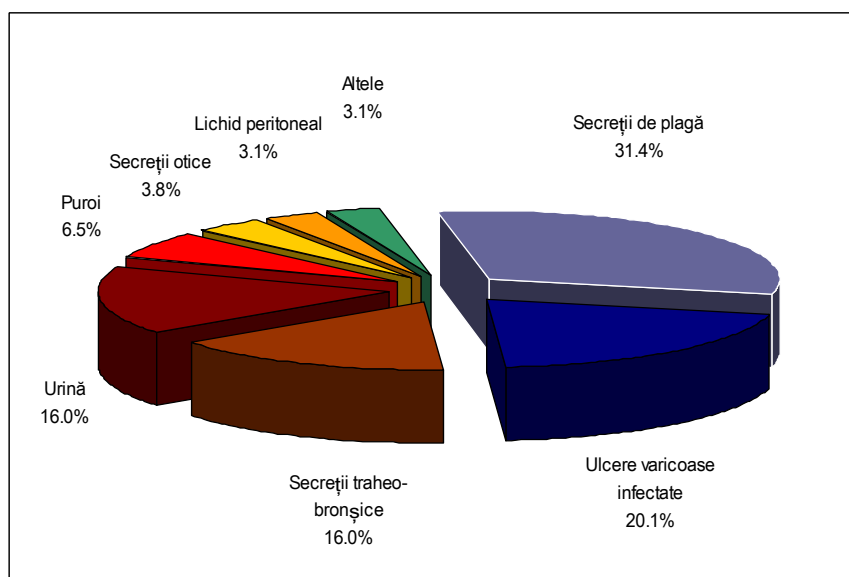


Figura 3 – Spectrul infecțiilor cu *Pseudomonas species* în anul 2014

Analiza comparativă a datelor obținute în cei doi ani ai studiului arată o creștere ușoară a numărului de infecții cu *Pseudomonas* de la un an la altul. *Pseudomonas* spp. fiind germeni oportuniști, condiționat patogeni, acest aspect se datorează probabil înregistrării unui număr mai crescut de pacienți cu factori de risc (arsuri, imunodeficiențe datorate unor afecțiuni oncologice, manevre medicale) spitalizați în cel de-al doilea an (creșteri ale numărului de tulpini

izolate au fost înregistrate în secțiile Chirurgie plastică, Oncologie, Hematologie, Oto-Rino-Laringologie).

Se poate constata o creștere a numărului de plăgi infectate cu acești germeni. Spectrul infecțiilor este relativ constant, înregistrând o ușoară extindere.

Ca urmare a studiului retrospectiv efectuat, a fost analizată și rezistența la antibiotice a tulpinilor de *Pseudomonas* testate.

Rezultatele obținute pentru perioada studiată sunt ilustrate de figura 4 iar datele obținute în

cei doi ani calendaristici sunt prezentate în figurile 5 și 6.

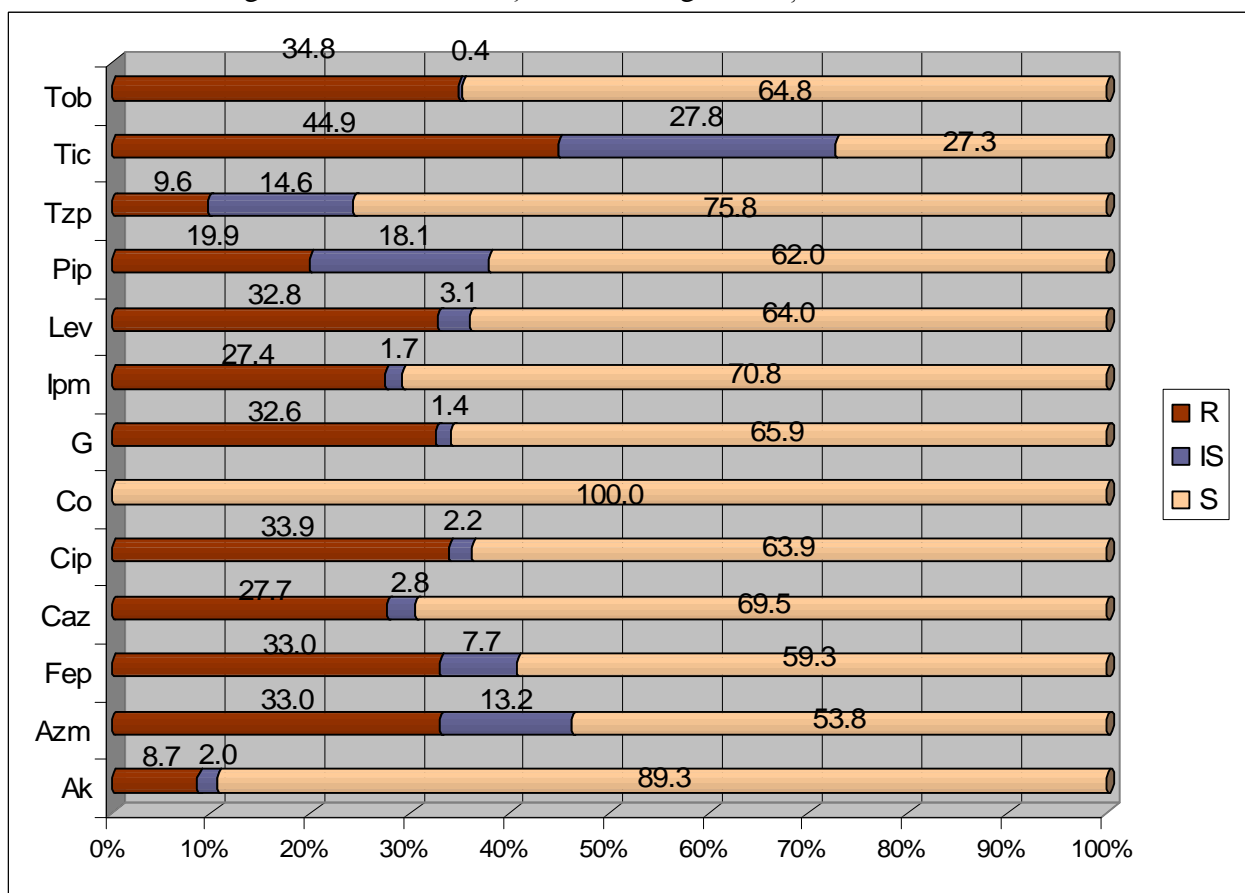


Figura 4 – Rezistența la antibiotice a Pseudomonas species în perioada studiului

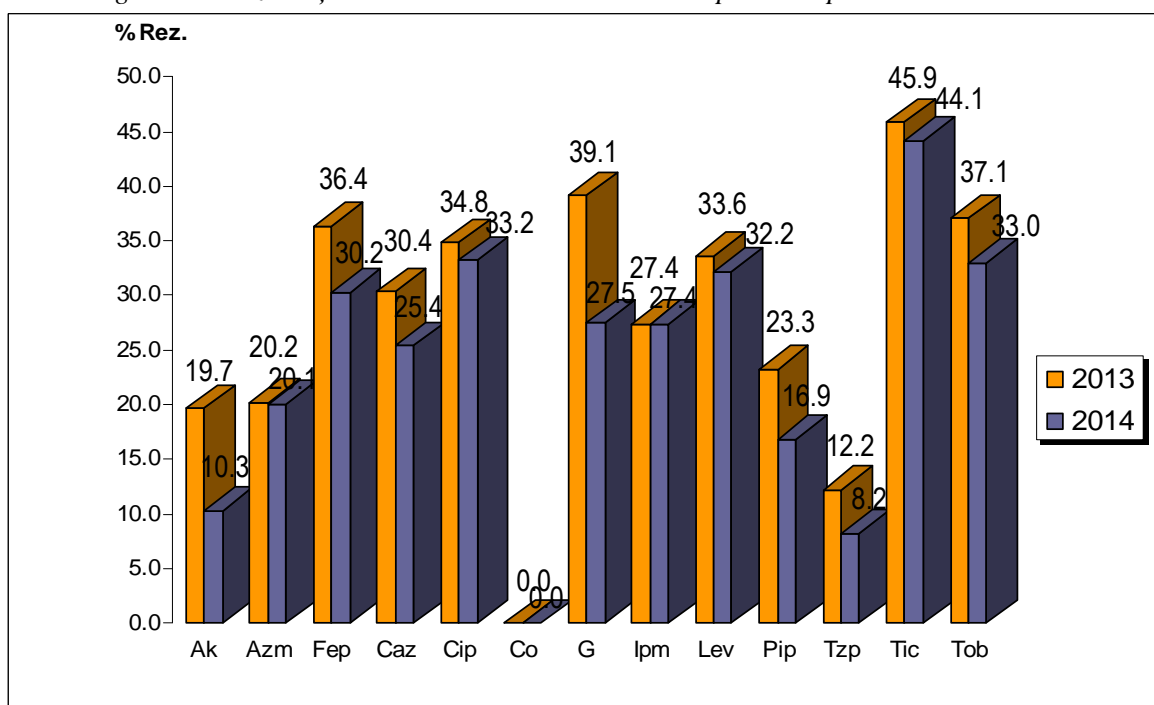


Figura 5 – Rezistența la antibiotice a Pseudomonas species în 2013 și 2014

Rezultatele referitoare la spectrul de infecții produse de Pseudomonas aeruginosa sunt concordante cu ale altor studii desfășurate

în aceeași unitate medicală. [3,4]

Nivelul rezistenței la antibiotice se încadrează în intervalele raportate sistemului de

supravehere europeană a rezistenței la antibiotice (EARSS 2011 - România: 25-50% - tulpini raportate rezistente la aminoglicozide, fluorochinolone, piperacilină; >50% - tulpini rezistente la carbapeneme). [12]

Concluzii

1. Spectrul infecțiilor produse de *Pseudomonas* spp. a fost larg și relativ constant în perioada studiată. Acești germeni au fost implicați în infecții cu variate localizări în organism dar frecvențe mai crescute au fost înregistrate în cazul infecțiilor plăgilor (27.1%), ulcerelor varicoase infectate (23.2%), infecțiilor respiratorii (18.2%) și urinare (17.8%).
2. Au fost depistate nivele variate de rezistență la toate antibioticele testate cu excepția colistinei, care își menține rolul ca antimicrobian de rezervă în infecții produse de tulpini multirezistente de *Pseudomonas*.
3. Rezultatele susțin utilizarea în terapie a diverselor clase de antibiotice, sub controlul strict al antibiogramii.
4. Ponderea relativ ridicată de tulpini care au dobândit rezistență la carbapeneme (imipenem) reprezintă un fenomen îngrijorător care impune utilizarea judicioasă a acestora în terapie.

Bibliografie

- [1] Buiuc D., Neguț M. – *Tratat de Microbiologie clinică – ediția III*, Editura Medicală, București, 2009, pg.767-769.
- [2] Greenwood D., Slack R., et al – *Medical Microbiology – seventeenth edition*, Churchill Livingstone Elsevier, pg. 293-294.
- [3] Idomir M., Cocuz M., și colab. – *Pseudomonas aeruginosa – Studiu asupra spectrului etiologic și antibioretistenței*, Sibiul Medical, 2004, vol. 15., nr. 2. pg. 100-101.
- [4] Idomir M., Guth R., Ionescu R., și colab. – *Infecțiile cu germeni gram negativi – aspecte etiologice și terapeutice*, Jurnal Medical Brașovean, 2005, nr. 4, pg. 59-62.
- [5] Idomir M., Nemet C., colab. – *Apariția și răspândirea rezistenței bacteriene la substanțe antimicrobiene*, Jurnal Medical Brașovean, Editura Universitatea Transilvania, Brașov, nr. 3, 2006, pg. 16.
- [6] Jehl F., Chomarar M., colab. – *De la antibiogramă la prescripție – ediția III*, Ed. Orizonturi, București, 2010, pg. 71-73.
- [7] Lambert P. – *Mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa*, Royal Society of Medicine, 2002, 95(Suppl 41): 22–26.
- [8] Lister F., Wolter D., Hanson N. – *Antibacterial-Resistant Pseudomonas aeruginosa: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms*, Clinical Microbiology Reviews, 2009, 22(4): 582–610.
- [9] Livermore D. – *Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa: our worst nightmare?* Clinical Infections Diseases, 34(5): 634-640.
- [10] Mărculescu A., Cernea M., Nueleanu V., și colab. – *Rezistența microbiană față de antibiotice*, Veterinary drug, 2007, vol. 1, nr. 1, pg. 44-51.
- [11] Orb E., Dan L., Liker M., colab. – *Fenotipuri de rezistență a tulpinilor de Pseudomonas aeruginosa izolate dintr-o secție de Anestezie și Terapie Intensivă*, Revista Română de Medicină de laborator, 2006, vol. 2, nr. 1, pg. 32-41.
- [12] Pandrea S.L., Junie M. – *Pseudomonas aeruginosa: fenotipuri de rezistență la antibiotice*, Clujul Medical, 2011, vol. 84, nr. 1, pg. 9-13.
- [13] Strateva T., Yordanov D. – *Pseudomonas aeruginosa - a phenomenon of bacterial resistance*, Journal of Medical Microbiology, 2009, vol. 58, 1133-1148.
- [14] Washington W., Allen S., et al - *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology – sixth edition*, Lippincott Williams & Wilkins, 2006, pg. 319-321.