

SUSCEPTIBILITATEA LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR DE *ACINETOBACTER BAUMANII* IZOLATE DIN INFECȚII NOSOCOMIALE

STANCA LUCIA PANDREA¹, LIA MONICA JUNIE²

¹Clinica Medicală III, Cluj-Napoca

²Catedra de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

Rezumat

Introducere. Genul *Acinetobacter* cuprinde specii recunoscute ca patogeni oportuniști cu virulență scăzută. Contribuția lor în producerea infecțiilor nosocomiale a crescut în ultimii 20 de ani, în special *A. baumannii* fiind recunoscut ca și agent etiologic al unor numeroase tipuri de infecții nosocomiale, speciile izolate demonstrând o creștere a rezistenței la grupele majore de antibiotice.

Material și metodă. În perioada ianuarie - iunie 2010 s-a realizat izolarea și testarea sensibilității la antibiotice a 41 de tulpini de *A. baumannii* izolate din diverse produse patologice: hemoculturi, secreții traheo-bronșice, aspirate bronșice, secreții din plagă, uroculturi, alte secreții, probe provenite de la pacienții din Spitalul Clinic de Urgență Prof. Dr. „O.Fodor” Cluj-Napoca, toate tulpinile izolate fiind agenți etiologici ai unor infecții nosocomiale declarate. Hemoculturile au fost lucrate în sistemul Bactec (Beckton-Dickinson), restul probelor prin metode convenționale. Identificarea tulpinilor s-a făcut prin metode biochimice clasice și pe sistemul Vitek2Compact (BioMerieux). Testarea la antibiotice s-a realizat prin sistemul Vitek2Compact și prin metoda difuzimetrică.

Rezultate și discuții. Din cele 41 de tulpini de *A. baumannii* izolate din infecții nosocomiale, 38 au fost multiplu rezistente la antibiotice, 4 tulpini prezentând fenotipul de rezistență la beta-lactamine prin penicilinază+cefalosporinază, 31 au prezentat rezistență la beta-lactamine prin acumulare de mecanisme, inclusiv carbapenemază. 14 din acestea au fost panrezistente, singura alternativă rămânând colistinul și tigeciclina. Tulpinile au fost majoritatea rezistente la ciprofloxacina (38 din cele 41), dar și la aminoglicozide. În cadrul acestui studiu s-a determinat și sensibilitatea la tigeciclină, 24 din cele 24 tulpini testate fiind sensibile în vitro.

Concluzii. Tulpinile de *A. baumannii* izolate din infecții nosocomiale au prezentat rezistență multiplă la antibiotice. Se remarcă apariția tulpinilor panrezistente, care creează serioase dificultăți de tratament. Pentru a preveni emergența și răspândirea tulpinilor de *A. baumannii* în mediul spitalicesc, se impune aplicarea pe scară largă a măsurilor de prevenire și control ale infecției, precum și aplicarea rațională a antibioticelor implicate în selectarea rezistenței, aplicarea dozelor adecvate și rotarea periodică a antibioticelor.

Cuvinte cheie: *Acinetobacter baumannii*, infecții nosocomiale, rezistență la antibiotice.

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *ACINETOBACTER BAUMANII* ISOLATED FROM NOSOCOMIAL INFECTIONS

Abstract

Background. *Acinetobacter* species are opportunistic pathogens of low virulence. Their contribution to nosocomial infections, has been increasing over the past 20 years, especially *A. baumannii* are recognized as ethiological agent in a large variety of nosocomial infections, isolates demonstrate increasing resistance to

commonly prescribed antimicrobials.

Material and methods. Between January-June 2010 was carried out isolation and antibiotic susceptibility testing of 41 strains of *A. baumannii* isolated from various pathological products: blood cultures, trache-bronchial secretions, bronchial aspirations, secretions of surgical wounds, urocultures, other secretions, samples has provided from patients from Emergence Clinical Hospital Prof. Dr. „O.Fodor” Cluj-Napoca, all strains isolated as etiologic agents of nosocomial infections reported. The blood cultures have been processed using the Bactec system (Beckon-Dickinson), the rest of samples have been procesed through conventional methods. The strains have been identified through classical biochemical methods and through Vitek 2Compact (BioMerieux) system. The sensitivity to antibiotics has been tested using Vitek2Compact and Antimicrobial Disk Susceptibility Method.

Results and discussion. From 41 *A. baumannii* strains isolated from nosocomial infections, 38 were multiple resistant to antibiotics, 4 of wich presented the phenotype of resistance to beta-lactam antibiotics through penicillinase+cefalosporinase and 31 presented the phenotype of resistance to beta-lactam antibiotics through mechanism accumulation (including carbapenemase). 14 of these strain were panresistant, the only treatment alternative being colistin and tygeciline. In this study was tested susceptibility to tygeciline, 24 of 24 tested strains was susceptible in vitro.

Conclusions. The *A. baumannii* strains isolated from nosocomial infections presented multiple resistance to antibiotics. The appearance of panresistant strains create serious treatment difficulties. To prevent the emergence and the spreading of the multiple resistant *A. baumannii* strains in hospital environment, must be taken infections control measures: rational administration of those antibiotics proven to be involved in resistance selection, adequate dosage, periodic rotation of the antibiotics.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, nosocomial infections, resistance to antibiotics.

Introducere

Speciile genului *Acinetobacter* sunt bacili Gram negativi nefermentativi, capsulați, aerobi. Sunt ubicuitare, răspândite în sol și apă, pot supraviețui pentru perioade lungi în mediul înconjurător și tolerează la fel de bine umiditatea cât și condițiile de uscăciune, supraviețuind în mediul spitalicesc. Uneori este greu de diferențiat colonizarea de infecție [1,2].

Acinetobacter utilizează o largă varietate de surse de carbon și alte surse de energie, el crescând foarte bine pe o gamă largă de medii de cultură. Tendința de a reține cristalul violet poate duce la o identificare greșită ca și coci Gram pozitivi.

Acinetobacter este în principal un patogen asociat asistenței medicale. S-a constatat o creștere a infecțiilor nosocomiale cu *A. baumannii*, mai ales pe secțiile de terapie intensivă: septicemii, bronhopneumonii de ventilator, infecții de tract urinar, infecții ale plăgilor [3,4,6].

Date ale NNIC (Nosocomial Infection Surveillance Sistem) indică o creștere a rezistenței la antibiotice a tulpinilor de *A. baumannii* [3]. Persistența clonelor de *A. baumannii* multirezistente este legată de utilizarea prealabilă a unor antibiotice (cefalosporine, carbapenemi, aminoglicozide și fluorochinolone) [7]. Emergența și răspândirea

rapidă a tulpinilor de *A. baumannii* multirezistente este îngrijorătoare, reprezentând o adevărată amenințare alături de alte microorganisme: *Staphylococcus aureus* metilino-rezistent, *Enterococcus spp.* vancomicino-rezistent, diferiți membri ai familiei Enterobacteriaceae, producători de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE) și AMPc [8]. Frecvența în creștere a tulpinilor producătoare de BLSE și carbapenemaze a dus la apariția tulpinilor de *A. baumannii* panrezistente (rezistență la carbapeneme, cefalosporine, aztreonam, aminoglicozide și ciprofloxacina) [4,8,9,10].

Factorii de risc pentru infecția cu *A. baumannii* rezistent la carbapeneme sunt reprezentați de: alterarea microflorei normale a gazdei, spitalizarea pe secțiile de terapie intensivă, terapia antibiotică prealabilă cu imipenem, cefalosporine de generația a III-a, aztreonam și fluorochinolone [2,10,11], proceduri chirurgicale, implantarea de corpuri străine: proteze vasculare și valvulare, alte proceduri invazive.

Material și metodă

În perioada ianuarie 2010-iunie 2010 s-a realizat identificarea și testarea sensibilității la antibiotice a 41 de tulpini de *Acinetobacter baumannii* izolate din diverse produse patologice: hemoculturi, secreții traheo-bronșice (inclusiv spute), aspirate bronșice, secreții din plagă, uroculturi, alte secreții, produse patologice provenite de la pacienții din Spitalul Clinic de Urgență Prof. Dr. „O.

Articol intrat la redacție în data de: 29.09.2010

Acceptat în data de: 04.10.2010

Adresa pentru corespondență: stanca_lucia_pandrea@yahoo.com

Fodor” Cluj-Napoca, toate tulpinile fiind agenți etiologici ai unor infecții nosocomiale declarate: 3 din hemoculturi, 25 din secreții traheo-bronșice, 5 din secreții de plagă, 3 de pe tuburi de dren, 3 din uroculturi, una din escară, una din cateter venos central și o tulpină de pe cateterul de dializă (Fig. 1). Toate probele au provenit de la pacienți internați pe secția de terapie intensivă. Hemoculturile au fost lucrate în sistemul Bactec (Beckton-Dickinson), restul probelor au fost lucrate prin metode convenționale. Identificarea tulpinilor s-a făcut prin metode biochimice clasice și pe sistemul Vitek2 Compact (BioMerieux). Testarea la antibiotice s-a realizat prin sistemul Vitek2 Compact, dar și prin metoda difuzimetrică (Kirby-Bauer), conform ghidurilor elaborate de CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) [12], s-au utilizat discuri de antibiotice produse de firma Biorad (Franța).

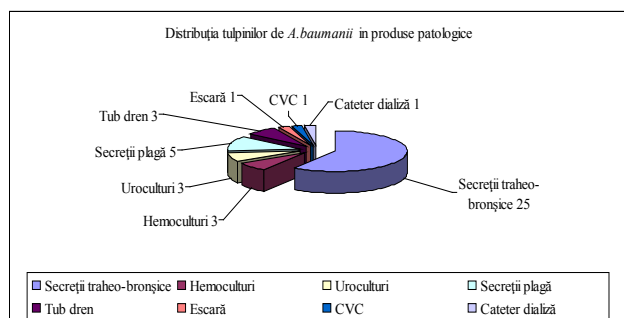


Fig. 1. Distribuția tulpinilor de *A. baumannii* în produse patologice.

Rezultate și discuții

Testarea susceptibilității la antibiotice a tulpinilor de *A. baumannii* a pus în evidență un număr mare de tulpini cu multiplă rezistență la antibiotice, doar trei tulpini au fost sensibile la toate antibioticele alese spre testare.

Înainte de anii '70, speciile genului *Acinetobacter* prezentau rezistență doar la penicilina G, azi această rezistență se întâlnește doar la speciile „non-baumannii”. Rezistența la aminopeniciline, aminopeniciline+acid clavulanic, cefalosporine de generația I și a II-a, definește fenotipul sălbatic [13]. Susceptibilitatea la beta-lactamine este redată în figura 2.

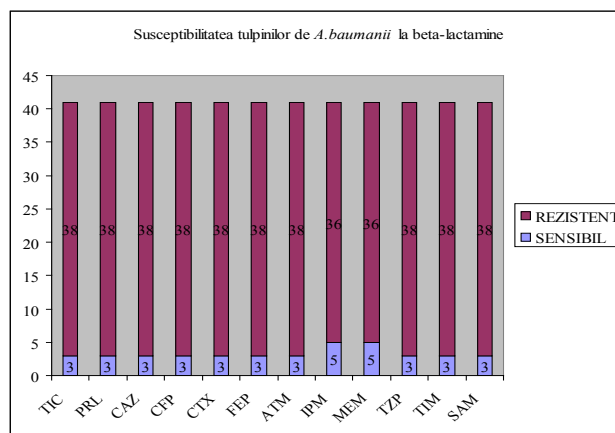


Fig. 2. Susceptibilitatea tulpinilor de *A. baumannii* la beta-lactamine.

Legendă fig.2. TIC = ticarcilină; PRL = piperacilină; CAZ = ceftazidim; CFP = cefoperazonă; CTX = cefotaxim; FEP = cefepim; ATM = aztreonam; IPM = imipenem; MEM = meropenem; TZP = tazobactam+piperacilină; TIM=ticarcilină+acid clavulanic; SAM = ampicilină+sulbactam

Rezistența dobândită este legată de producerea de beta-lactamaze: penicilinaze plasmidice de tipTEM (I și II), CARB5, oxacilinaze (OXA21), cefalosporinaze cromozomiale care hidrolizează toate cefalosporinele, inclusiv pe cele din generația a III-a, adesea hiperproduse: ACE-1 până la ACE-4 [13]. Rezistența la imipenem este legată de o impermeabilitate cuplată sau nu cu o cefalosporinază, cu modificări ale PBP-urilor (proteine binding penicillin) sau cu producerea de enzime de tip ARI-I, ARI-2 [13,16]. Fenotipurile de rezistență la beta-lactamine sunt redată în tabelul I [13].

Din tabelul I se observă că majoritatea tulpinilor de *A. baumannii* izolate aparțin fenotipului de rezistență IV(4) și V(31), care sunt fenotipuri rare [13]. Fenotipul IV este caracterizat prin rezistența la carboxi și ureido-peniciline, cefalosporine de generația a III-a, având ca mecanism producerea penicilinazelor și cefalosporinazelor. Fenotipul V este caracterizat în plus față de fenotipul anterior prin rezistența la aztreonam și la carbapeneme și apare prin acumularea mecanismelor [13].

Mecanismele de rezistență la carbapeneme descrise sunt: pierderea proteinelor membranare externe, alterarea

Tabel I. Fenotipuri de rezistență la beta-lactamine a tulpinilor de *A. baumannii* izolate din infecții nosocomiale.

Fenotip	I	II	III	IV	V
Mecanism/antibiotic	« sălbatic »	Penicilinază	Cefalosporinază	Penicilinază+ Cefalosporinază	Acumul. de mecanisme
Aminopeniciline	R	R	R	R	R
Aminopeniciline + ac.clav.	R	R	R	R	R
Carboxipeniciline	S	R	S	R	R
Cefalosporine 1 gen.	R	R	R	R	R
Cefalosporin 2 gen.	R	R	R	R	R
Cefalosporin 3 gen.	S	S	R	R	R
Aztreonam	S	S	R	R	R
Carbapeneme	S	S	S	S	R
Nr.tulpini	3	1	2	4	31

PBP-urilor și achiziționarea de beta-lactamaze clasa B, A și D [4,13,15,16], cele mai frecvente fiind beta-lactamazele zinc-independente din clasa D [13,15,16].

Testarea la aminoglicozide (AG) a evidențiat rezistența la această clasă de antibiotice: doar trei tulpini au fost sensibile la toate cele patru AG testate: 36 din 41 de tulpini au fost rezistente la gentamicină (GN), 38 au fost rezistente la amikacină (AK), 23 tulpini rezistente la tobramicină (TOB) și 34 rezistente la netilmicină (NET) (Fig. 3).

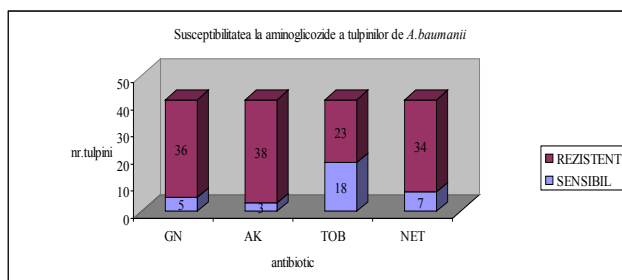


Fig. 3. Susceptibilitatea la aminoglicozide a tulpinilor de *A. baumannii*.

Rezistența la AG este legată de producerea de enzime de inactivare [13,15,16]. Fenotipurile de rezistență la AG sunt redată în tabelul II: se observă că cel mai frecvent este fenotipul de rezistență gentamicină-amikacină-tobramicină (23 de tulpini).

Tabel II. Fenotipuri de rezistență la aminoglicozide a tulpinilor de *A. baumannii*.

Fenotip	Număr de tulpini
GN	5
GN,AK	18
GN,AK,TOB	23
Tulpini rezistente: total	38

Rezistența tulpinilor de *A. baumannii* la alte antibiotice este redată în figura 4 și evidențiază numărul mare de tulpini rezistente: 38 de tulpini rezistente la ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina; 36 rezistente la sulfametoxazol-trimetoprim, 39 rezistente la cloramfenicol, toate tulpinile au fost sensibile la colistin, rezistența la colistin fiind un fenotip excepțional [16].

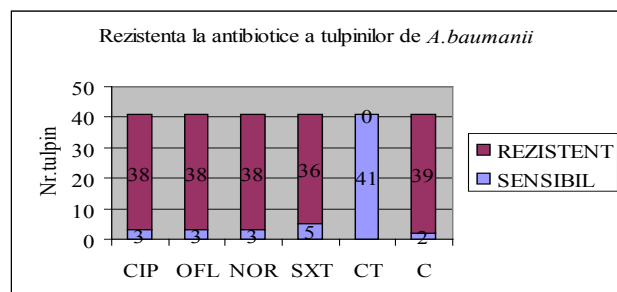


Fig. 4. Rezistența la antibiotice a tulpinilor de *A. baumannii*. Susceptibilitatea la antibiotice: CIP = ciprofloxacina; OFX = ofloxacina; NOR = norfloxacina; SXT = sulfametoxazol-trimetoprim; CT = colistin; C = cloramfenicol.

Rezistența la fluorochinolone este legată de modificarea țintelor [16]. În acest studiu doar 3 tulpini au fost sensibile la toate chinolonele testate.

Tulpinile multirezistente se caracterizează prin rezistența la două sau mai multe din următoarele clase de antibiotice: cefalosporinele anti*Pseudomonas* (ceftazidim sau cefepim), carbapeneme (imipenem sau meropenem), ampicilina-sulbactam, fluorochinolone (ciprofloxacina sau levofloxacina) și AG (gentamicina, tobramicina sau amikacina). Panrezistența este definită ca și rezistența la toate antibioticele folosite ca primă linie de testare, cu efect terapeutic potențial asupra *A. baumannii*, acestea incluzând toate beta-lactamamele (carbapeneme și sulbactam) fluorochinolonele și AG [16].

În cadrul acestui studiu s-a realizat testarea și la tigeciclină (glicilciclina), toate tulpinile testate (24) fiind sensibile la acest antibiotic. Acest nou compus alături de sulbactam reprezintă soluțiile terapeutice [1,4,8,16] pentru tratamentul infecțiilor cu tulpini de *A. baumannii* panrezistente. Pentru infecțiile cu *A. baumannii* rezistent la sulbactam, alternativa terapeutică o reprezintă colistinul, de obicei evitat, datorită toxicității [3,4,9]. Folosirea colistinului în asociere cu alte antibiotice poate fi eficientă [3,17].

Concluzii

Tulpinile de *Acinetobacter baumannii* izolate din infecții nosocomiale au prezentat multiplă rezistență la antibiotice, din cele 31 de tulpini rezistente la carbapeneme, 23 au fost panrezistente, prezentând rezistență la: cefalosporine, aztreonam, carbapenemi, aminoglicozide și chinolone. Apariția tulpinilor de *A. baumannii* rezistente la carbapeneme este îngrijorătoare, dat fiindcă aceste antibiotice au constituit un tratament de elecție pentru infecțiile cu *A. baumannii* multirezistente la antibiotice. Aceste tulpini creează dificultăți de tratament ale infecțiilor, colistinul rămânând singura soluție terapeutică, alături de tigeciclină, deoarece doar trei tulpini au fost sensibile la sulbactam. Pentru a preveni răspândirea tulpinilor de *A. baumannii* multirezistente se impune aplicarea pe scară largă a măsurilor de prevenire și control ale infecției, administrarea rațională a antibioticelor implicate în selecția rezistenței, aplicarea dozelor adecvate și rotarea periodică a antibioticelor.

Bibliografie

1. Townner KJ. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. J Med Microbiol 1997; 46(9):721-746
2. Landman D, Quale JM, Mayorga D, et al. Citywide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY: the preantibiotic era has returned. Arch Intern Med 2002; 163(13):1515-1524
3. Scott P, Deye G, Srinivasan A, et al. An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex in the US military health care system associated with military operations in Iraq. Clin Infect Dis 2007; 44(12):1577-1584

4. Miftode E, Leca D, Teodor D, Dorneanu O, Luca V.- Meningita postoperatorie cu *Acinetobacter baumannii* rezistent la carbapeneme-un motiv de îngrijorare pentru clinician. *Infectio.ro* 2005; 3:50-52
5. Go ES, Urban C, Burns J, et al. Clinical and molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet*. 1994; 344(8933):1329-1332
6. Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, Ho PL. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest* 2006; 129(1):102-109
7. Villers D, Espaze E, Coste-Burel M, et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med* 1998; 129(8):182-189
8. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, et al. Pandrug Resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in University Hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002 ;8(8):827-839
9. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. *BMC Infect Dis* 2005; 5(1):24
10. Manuel RJ, Shin GY, Farrag N, Holliman R. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in a London Hospital. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52(1):141-142
11. Romanelli RM, Jesus LA, Clemente WT. Outbreak of resistant *Acinetobacter baumannii*-measures and proposal for prevention and control. *Braz J Infect Dis* 2009; 13(5):341-347
12. CLSI-Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement M 100-S9 2010; 30(1):54-55
13. Jehl F, Chomarat M, Weber M, Gerard A. De l'antibiogramme à la prescription. 2^{ème} Edition, BioMérieux 2004
14. Coelho JM, Turton JF, Kaufmann ME ,et al. Occurrence of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* clones at multiple hospitals in London and Southeast England. *J Clin Microbiol* 2006 ; 44(10):3626-3627
15. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(3):538-582
16. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(2):148-165
17. Yoon J, Urban C, Terzian C, Mariano N, Rahal JJ. In vitro double and triple synergistic activities of Polymyxin B, imipenem and rifampin against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(3):753-757