

FENOTIPURI DE REZISTENȚĂ PENTRU TULPINI DE ESCHERICHIA COLI ȘI KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUCĂTOARE DE BETA-LACTAMAZE CU SPECTRU EXTINS (BLSE), IZOLATE DIN INFECȚII URINARE

MIRELA PETRAȘCU¹, MIRELA FLONTA², ARIANA MIHAELA ALMAȘ²

¹Catedra de Microbiologie, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

²Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca

Studiu desfășurat la Laboratorul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca și Catedra de Microbiologie a UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Rezumat

Obiective. În acest studiu am analizat profilul de rezistență la acțiunea antibioticelor pentru 155 de tulpini de *Escherichia coli* (71 de tulpini) și *Klebsiella pneumoniae* (84 de tulpini) producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE).

Material și metodă. Tulpinile de *Escherichia coli* și *K. pneumoniae* au fost izolate din eșantioane de urină în Laboratorul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca. Tulpinile au fost colectate pe o perioadă de 3 ani și 4 luni (ianuarie 2007-aprilie 2010). Identificarea tulpinilor bacteriene din probele selectate pentru acest studiu s-a făcut pe mediul chromagar (Oxoid) și pe sistemul Vitek 2 Compact (BioMerieux). Testarea sensibilității la antibiotice s-a realizat prin sistemul Vitek2 Compact și prin metoda difuzimetrică.

Rezultate. Din cele 71 de tulpini de *Escherichia coli* producătoare de BLSE studiate, 58 de tulpini (81,7%) prezintă rezistență asociată la antibiotice: aminoglicozide, quinolone, tetraciclină, trimetoprim-sulfametoxazol și nitrofurantoin.

Din cele 84 de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE, 64 de tulpini (76,2%) prezintă rezistență asociată la antibiotice: aminoglicozide, quinolone, tetraciclină, trimetoprim-sulfametoxazol și nitrofurantoin.

Concluzii. Tulpinile de *Escherichia coli* și de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE luate în studiu prezintă multirezistență, în special la acțiunea aminoglicozidelor, quinolonelor și trimetoprim-sulfametoxazolului.

Stoparea răspândirii tulpinilor bacteriene multirezistente la acțiunea antibioticelor impune cunoașterea detaliată a mecanismelor de rezistență bacteriană, în paralel cu dezvoltarea și aplicarea unor politici intraspitalicești adecvate de antibioticoterapie, în scopul reducerii complicațiilor infecțioase, dar și cunoașterea necesităților financiare impuse de tratamentul antibacterian și de măsurile suplimentare privind controlul microorganismelor ce pot produce infecții nosocomiale.

Cuvinte cheie: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, BLSE, rezistență la antibiotice.

RESISTANCE PHENOTYPES OF PRODUCING EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASES (ESBLs) ESCHERICHIA COLI AND KLEBSIELLA PNEUMONIAE STRAINS ISOLATED FROM URINARY INFECTIONS

Abstract

Objectives. In this study we analyzed the profile of resistance to suitable antibiotics for 155 isolates of *Escherichia coli* (71 isolates) and *Klebsiella pneumoniae* (84 isolates) producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs).

Material and methods. Strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were isolated from urine samples in the Laboratory of Infectious Diseases Hospital Cluj-Napoca. The isolates were collected over a period of three years and four months (January 2007-April 2010). Isolates were identified on the chromagar media (Oxoid) and by Vitek 2 Compact system (BioMerieux). The sensitivity to antibiotic has been tested using the system Vitek2 Compact and antimicrobial disk susceptibility method.

Results. Among the 71 ESBL isolates of *Escherichia coli*, 58 strains (81.7%) presented multiple resistance to antibiotics: aminoglycosides, quinolones, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole and nitrofurantoin. Among the 84 ESBL isolates of *Klebsiella pneumoniae*, 64 strains (76.2%) presented multiple resistance to antibiotics: aminoglycosides, quinolones, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole and nitrofurantoin.

Conclusions. ESBL isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* studied presented multiple resistance to antibiotics, especially to aminoglycosides, quinolones and trimethoprim-sulfamethoxazole. To stop the spread of bacterial strains resistant to antibiotics requires detailed knowledge of the mechanisms of bacterial resistance in parallel with the development and implementation of hospital policies for prescriptions of antibiotics, financial requirements imposed by antimicrobial treatment and the additional measures on control of microorganisms that can cause nosocomial infections.

Keywords: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ESBL, resistance to antibiotics.

Introducere

Prin numărul mare al infecțiilor urinare, cu consecințe medicale și economice considerabile, tulpinile bacteriene implicate în etiologia acestora se mențin în atenția studiilor de bacteriologie și epidemiologie. Una din temele prioritare de cercetare în microbiologia clinică este la ora actuală rezistența dobândită a bacteriilor la antibiotice.

Rezistența la antibioticele beta-lactamice este înscrisă în codul genetic al bacteriei, dobândirea acesteia producându-se prin mutație sau prin achiziționare de material genetic. Inactivarea beta-lactaminelor de către beta-lactamaze este, în prezent, mecanismul cel mai frecvent întâlnit. Aceste enzime scindează nucleul beta-lactamic, producând inactivarea antibioticului [1,2,3]. Ele pot fi inductibile, secretate numai în prezența beta-lactaminelor, sau constitutive, produse permanent chiar și în absența substratului. Beta-lactamazele au fost evidențiate atât la bacteriile gram-negative, cât și la cele gram-pozitive și pot fi inhibitate în grade diferite de inhibitorii de beta-lactamază, cum ar fi acidul clavulanic și sulbactamul [1,2,16]. Bacteriile gram-negative produc un număr mult mai mare de beta-lactamaze, decât cele gram-pozitive. Toate bacteriile gram-negative produc beta-lactamaze codificate cromozomal, majoritatea hidrolizând preferențial cefalosporine, inclusiv de generația a III-a și a IV-a, care sunt rezistente la acțiunea beta-lactamazelor codificate plasmidic [1,2,16].

Material și metodă

Am analizat profilul de rezistență la acțiunea

antibioticelor corespunzătoare pentru 155 de tulpini de *Escherichia coli* (71 tulpini) și *Klebsiella pneumoniae* (84 de tulpini), producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE), izolate din eșantioane de urină, în Laboratorul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca.

Probele au provenit de la pacienți internați în acest spital, de la pacienți care s-au prezentat în ambulatorul spitalului, cât și de la pacienți internați în secții de urologie, chirurgie, medicină internă ale altor spitale din Cluj-Napoca, care s-au adresat laboratorului pentru prelucrarea probelor biologice. Tulpinile au fost colectate pe o perioadă de 3 ani și 4 luni (ianuarie 2007-aprilie 2010).

Identificarea tulpinilor bacteriene din probele selectate pentru acest studiu s-a făcut pe mediul chromagar (Oxoid) și pe sistemul Vitek 2 Compact (BioMerieux).

Testarea la antibiotice s-a realizat prin sistemul Vitek2 Compact și metoda difuzimetrică, Kirby-Bauer, ce a inclus și metoda dublu disc pentru evidențierea prezenței BLSE, conform standardului Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Pentru testarea sensibilității la antibiotice s-au utilizat discuri de antibiotice produse de firma Bio-rad (Franța).

Rezultate și discuții

Pentru a evidenția comportamentul tulpinilor de *Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae* față de beta-lactamine, am testat următoarele clase de antibiotice: aminopeniciline (ampicilină), aminopeniciline cu inhibitori ai beta-lactamazelor (amoxicilină + acid clavulanic), ureidopeniciline (piperacilină), cefalosporine de generația a I-a (cefazolin), cefalosporine de generația a II-a (cefuroxim), cefalosporine de generația a III-a (ceftazidim, cefotazim,

Articol intrat la redacție în data de: 09.06.2011

Acceptat în data de: 01.07.2011

Adresa pentru corespondență: mpetrascu@hotmail.com

cefepodoxim), cefamicine (cefoxitin), cefalosporine de generația a IV-a (cefepim) și carbapeneme (imipenem).

Fenotip producător de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE) (tabel I)

Tabel I. Parametrii de identificare ai fenotipului BLSE.

Antibiotic	Clasa I
Aminopeniciline	R
Aminopeniciline+IBL	S/I/R
Carboxipeniciline	R
Ureidopeniciline	R
Cefalosporine de generația I	R
Cefalosporine de generația II	R
Cefalosporine de generația III	R
Cefalosporine de generația IV	R
Cefamicine	S/I/R
Carbapeneme	S

Legendă tabel I: IBL = inhibitor al beta-lactamazei, R = rezistent, S = sensibil.

Testarea producerii de beta-lactamaze cu spectru extins la enterobacterii prin metoda difuzimetrică: evidențierea efectului inhibitor se face cel mai simplu prin așezarea unui disc impregnat cu inhibitor de beta-lactamaze sau cu o combinație între un inhibitor de beta-lactamaze și o beta-lactamină (ex. amoxicilină - acid clavulanic), în vecinătatea unui disc de cefalosporină de generația a III-a. În cazul prezenței BLSE, se obține o imagine de sinergie, “în dop de șampanie”, între discul de cefalosporină de generația a III-a și discul impregnat cu inhibitor de beta-lactamază (singur sau în asociație cu un alt antibiotic) [3,4]. Imaginea de sinergie poate fi discretă, atipică sau poate lipsi, conducând la interpretarea greșită a caracterelor microorganismului (falsă sensibilitate). În absența imaginii de sinergie, producerea BLSE va fi suspectată în cazul oricărei reduceri a diametrului de inhibiție în jurul cefalosporinelor de generația a III-a: CTX (cefotaxim) 27

mm, CAZ (ceftazidim) 22 mm, CRO (cefuroxim) 25 mm sau la monobactam: aztreonam 27 mm [3,4].

Fenotipurile de rezistență la aminoglicozide

Pentru stabilirea fenotipurilor de rezistență la aminoglicozide am folosit 2 tipuri de microcomprimate cu antibiotice: gentamicină (G) și amikacină (A) (tabel II).

Tabel II. Fenotipuri de rezistență dobândită ale tulpinilor de *Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae* la aminoglicozide.

Fenotip	G	A
G	R	S
A	S	R

Legendă tabel II: G = gentamicină, A = amikacină, R = rezistent, S = sensibil.

Fenotipuri de rezistență la quinolone

Pentru stabilirea fenotipurilor de rezistență la quinolone am testat tulpinile la acid nalidixic, norfloxacin și ciprofloxacina.

Jehl și colab. [5,6] prezintă 4 fenotipuri posibile de rezistență ale enterobacteriilor la quinolone, iar pentru tulpinile de *E. Coli* a fost descris și fenomenul de eflux.

În cazul de față, tulpinile au fost testate la acid nalidixic și norfloxacin sau la norfloxacin și ciprofloxacina. La stabilirea fenotipului de rezistență se va face interpretarea după primele trei coloane: NA, NOR, CIP (tabel III).

Rezistența la sulfamide și trimetoprim: tulpinile rezistente la trimetoprim+sulfametoxazol au fost încadrate în fenotipul STX = rezistent la trimetoprim+sulfametoxazol.

Rezistența la tetraciclina a fost evidențiată prin testarea sensibilității la tetraciclină.

Rezistența la furani a fost evidențiată prin testarea sensibilității la nitrofurantoin.

Tabel III. Fenotipuri de rezistență pentru enterobacterii la acțiunea quinolonelor.

Fenotipuri	NA	NOR	CIP	PEF	OFL
I	S	S	S	S	S
II	R	S	S	S	S
III	R	I/R	S	S	S
IV	R	R	R	R	R
Rar eflux (<i>E. Coli</i>)	S	R	S	S	S

Legendă tabel III: NA = acid nalidixic, NOR = norfloxacin, CIP = ciprofloxacina, PEF = pefloxacin, OFL = ofloxacin, R = rezistent, I = intermediar, S = sensibil.

Tabel IV. Antibioticele testate și numărul tulpinilor testate.

Antibioticul testat	Nr. tulpini de <i>Escherichia coli</i>	Nr. tulpini de <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Gentamicină	71	70
Amikacină	71	84
Tetraciclină	68	76
Acid nalidixic	51	66
Norfloxacin	71	84
Colistin	56	63
Nitrofurantoin	68	84
Cotrimoxazol (trimetoprim+sulfametoxazol)	62	77
Imipenem	71	84
Amoxiclav (amoxicilină+acid clavulanic)	71	84
Piperacilină+Tazobactam	67	77
Cefoxitin	71	84

Principalele fenotipuri de rezistență a tulpinilor de *Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE

Toate tulpinile testate sunt producătoare de BLSE.

În tabelul IV sunt prezentate antibioticele testate.

Din cele 71 de tulpini de *Escherichia coli* secretoare

de BLSE, 58 de tulpini (81,7%) prezintă rezistență asociată la alte antibiotice: aminoglicozide, quinolone, tetraciclină, trimetoprim-sulfametoxazol și nitrofurantoin.

Din tabelul IX se observă că 24,13% tulpini de *Escherichia coli* producătoare de BLSE sunt rezistente la gentamicină, quinolone, tetraciclină și la trimetoprim-

Tabel V. Sensibilitatea la aminoglicozide, quinolone, nitrofurantoin și trimetoprim-sulfametoxazol (Cotrimoxazol) a tulpinilor de *Escherichia coli*.

Antibioticul testat	Sensibil		Intermediar		Rezistent	
	Număr	Procent	Număr	Procent	Număr	Procent
Gentamicină	20	28.17%	0	0	51	71.83%
Amikacină	12	16.90%	17	23.94%	42	59.15%
Tetraciclină	3	4.41%	2	2.94%	65	95.50%
Acid nalidixic	5	9.80%	0	0	46	90.19%
Norfloxacin	10	14.08%	0	0	61	85.92%
Nitrofurantoin	49	72.05%	12	17.64%	7	10.29%
Cotrimoxazol	13	20.96%	0	0	49	79.03%

Tabel VI. Sensibilitatea la Imipenem, Amoxiclav, Piperacilin/Tazobactam, Cefoxitin a tulpinilor de *Escherichia coli*.

Antibioticul testat	Sensibil		Intermediar		Rezistent	
	Număr	Procent	Număr	Procent	Număr	Procent
Imipenem	70	98.60%	1	1.40%	0	0
Amoxiclav	12	16.90%	22	31%	37	52.10%
Piperacilină+Tazobactam	28	41.80%	27	40.3%	12	17.90%
Cefoxitin	67	94.36%	1	1.40%	3	4.24%

Tabel VII. Sensibilitatea la aminoglicozide, quinolone, nitrofurantoin și trimetoprim-sulfametoxazol (Cotrimoxazol) a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae*.

Antibioticul testat	Sensibil		Intermediar		Rezistent	
	Număr	Procent	Număr	Procent	Număr	Procent
Gentamicină	5	7.14%	1	1.42%	64	91.42%
Amikacină	29	34.52%	17	20.24%	38	45.24%
Tetraciclină	13	17.00%	2	2.63%	63	82.89%
Acid nalidixic	3	4.54%	0	0	63	95.45%
Norfloxacin	4	4.76%	1	1.19%	79	94.05%
Nitrofurantoin	15	17.85%	19	22.61%	50	59.52%
Cotrimoxazol	9	11.70%	0	0	68	88.30%

Tabel VIII. Sensibilitatea la Imipenem, Amoxiclav, Piperacilin/Tazobactam, Cefoxitin a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae*.

Antibioticul testat	Sensibil		Intermediar		Rezistent	
	Număr	Procent	Număr	Procent	Număr	Procent
Imipenem	83	98.80%	1	1.20%	0	0
Amoxiclav	22	26.20%	15	17.85%	47	55.95%
Piperacilină+Tazobactam	5	6.50%	14	18.18%	58	75.32%
Cefoxitin	63	75.00%	10	11.90%	11	13.10%

Tabel IX. Fenotipuri de rezistență ale tulpinilor de *Escherichia Coli*.

	Fenotipuri de rezistență asociate	Număr	Procent
1	BLSE+G	1	1.72%
2	BLSE+Q	1	1.72%
3	BLSE+Q+STX	2	3.45%
4	BLSE+Q+Te	3	5.17%
5	BLSE+Te+STX	2	3.45%
6	BLSE+G+Q+Te	5	15.51%
7	BLSE+Q+Te+STX	9	3.45%
8	BLSE+G+Te+STX	2	3.45%
9	BLSE+GA+STX	1	1.72%
10	BLSE+GA+Te	1	1.72%
11	BLSE+G+Q+Te+STX	14	24.13%
12	BLSE+GA+Q+Te+STX	9	15.51%
13	BLSE+GA+FT+Te	1	1.72%
14	BLSE+G+Q+FT+Te+STX	4	7.00%
15	BLSE+Q(Nor)+FT+Te+STX	1	1.72%
16	BLSE+A+Q+Te+STX	1	1.72%
17	BLSE+GA+Q+FT+Te+STX	1	1.72%
	Total	58	100%

Legendă tabel IX. BLSE - fenotip producător de beta-lactamază cu spectru extins, GA - fenotip de rezistență la aminoglicozide (gentamicină și amikacină), Q - rezistență la quinolone, Te - rezistență la tetraciclină, STX - rezistență la trimetoprim-sulfametoxazol, FT - rezistență la nitrofurantoin.

sulfametoxazol; 15,51% dintre tulpinile producătoare de BLSE sunt rezistente la aminoglicozide (gentamicină și amikacină), la quinolone, la tetraciclină și la trimetoprim-sulfametoxazol și același procent (15,51%) de tulpini de *Escherichia coli* producătoare de BLSE sunt rezistente la gentamicină, quinolone și tetraciclină.

Instalarea rezistenței la aminoglicozide se face printr-un mecanism de inactivare enzimatică, enzimele implicate în acest proces fiind reprezentate de acetyltransferază, fosfotransferază și nucleotidyltransferază. Fiecare enzimă recunoaște un anumit număr de aminoglicozide pe care le va modifica, determinând astfel fenotipurile de rezistență corespunzătoare [6,7].

După cum se poate observa în tabelul V, 71,83% dintre tulpinile de *Escherichia coli* sunt rezistente la gentamicină și 45,24% la amikacină. Ambele procente sunt îngrijorător de ridicate.

Un studiu efectuat în 2001 de Co-operative Group of the European Study Group on Nosocomial Infections (ESGNI) (ESGNI-003 study) relevă rezistența tulpinilor de *Escherichia coli* la gentamicină în proporție de 19,5% pentru țările nemembre la acea dată ale Uniunii Europene (UE) și 1,4% dintre tulpinile de *Escherichia coli* izolate din spitale ale țărilor membre UE [15].

Același studiu arată o rezistență la trimetoprim-sulfametoxazol pentru 30,6% din tulpinile de *Escherichia coli* în țările non-UE și un procent de 26,5% în țările UE [15].

În studiul nostru, după cum se vede în tabelul V, 79,03% dintre tulpinile de *Escherichia coli* sunt rezistente la acțiunea trimetoprim-sulfametoxazolului.

Rezistența la trimetoprim-sulfametoxazol apare datorită dihidropteroatsintetazei și dihidrofolatreductazei, genele care codifică aceste modificări fiind situate pe plasmide [8,10].

Un studiu internațional, SENTRY, raportează procente mai mici decât în studiul nostru: 23% tulpini rezistente în America de Nord, 33% în Europa și 45% pentru America Latină [12].

Rezistența la quinolone este indusă prin mutații la

nivel cromozomal, uneori se pot asocia două mecanisme de rezistență: prin diminuarea activității ADN-girazei sau impermeabilitate prin porine modificate [9].

Rezistența la acidul nalidixic este încrucișată cu cea a moleculelor din același grup (acid oxolinic, acid pipemidic, acid piromidic și flumequin). Rezistența la fluoroquinolone este încrucișată între toate substanțele (norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin, ciprofloxacina), dar nivelul de exprimare poate varia în funcție de tulpina bacteriană [9].

Într-un studiu efectuat în Europa în 2002, în cadrul proiectului ECO-SENS, pe tulpini izolate din infecții urinare necomplicate, s-au obținut la tulpinile de *Escherichia coli* următoarele procente de rezistență față de quinolone: Suedia – 5,4% pentru acid nalidixic și < 3% pentru ciprofloxacina; Portugalia – 11,6% pentru acid nalidixic și 5,8% pentru ciprofloxacina; Spania – 26,7% pentru acid nalidixic și 14,7% pentru ciprofloxacina [17].

Procente scăzute de rezistență la fluoroquinolone au fost raportate și în cadrul programului SENTRY (2000), cu valori cuprinse între 4% pentru America de Nord și 14%, respectiv 18% pentru Europa și America Latină [12].

În studiul nostru, 90,19% dintre tulpinile de *Escherichia coli* sunt rezistente la acid nalidixic și 85,92% la norfloxacina.

Trebuie să ținem cont că toate tulpinile sunt producătoare de BLSE și, în general, asociază multirezistență la acțiunea antibioticelor.

59,52% dintre tulpinile de *Escherichia coli* producătoare de BLSE sunt rezistente la nitrofurantoin.

Rezistența la nitrofurantoin se instalează printr-un mecanism de inactivare enzimatică, enzima implicată în acest proces fiind nitroreductaza [11,16].

Gulsum S. și colaboratorii au raportat în Turcia un procent de 29% tulpini *Escherichia coli* rezistente la nitrofurantoin, procent mai mic decât cel obținut în studiul nostru [13].

Majoritatea tulpinilor sunt sensibile la acțiunea a două antibiotice: 98,60% dintre tulpinile de *Escherichia coli* secretoare de BLSE luate în studiu sunt sensibile la

Tabel X. Fenotipuri de rezistență ale tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae*.

	Fenotipuri de rezistență asociate	Număr	Procent
1	BLSE+Q	1	1,56%
2	BLSE+Q+Te	1	1,56%
3	BLSE+Q+Te+STX	2	3,12%
4	BLSE+G+Te+STX	1	1,56%
5	BLSE+G+Q+Te	3	4,68%
6	BLSE+GA+STX	2	3,12%
7	BLSE+GA+Te+STX	2	3,12%
8	BLSE+GA+Q+STX	2	3,12%
9	BLSE+GA+Q+Te	1	1,56%
10	BLSE+A+Q+FT+STX	3	4,68%
11	BLSE+G+Q+FT+STX	22	34,43%
12	BLSE+G+Q+FT+Te	2	3,12%
13	BLSE+G+Q+FT+Te+STX	9	14,06%
14	BLSE+GA+Q+FT+Te+STX	13	20,31%
	Total	64	100%

Legendă tabel X: BLSE - fenotip producător de beta-lactamază cu spectru extins, GA - fenotip de rezistență la aminoglicozide (gentamicină și amikacină), Q - rezistență la quinolone, Te - rezistență la tetraciclină, STX - rezistență la trimetoprim-sulfametoxazol, FT - rezistență la nitrofurantoin.

imipenem și 94,36% dintre tulpinile de *Escherichia coli* luate în studiu sunt sensibile la cefoxitin (se constată conservarea sensibilității la cefamicine și carbapeneme) (tabel VI).

Din cele 84 de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE, 64 (76,2%) prezintă rezistență asociată la alte antibiotice: aminoglicozide, quinolone, tetraciclină, trimetoprim-sulfametoxazol și nitrofurantoin.

Din tabelul X se observă că 34,43% tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE sunt rezistente la gentamicină, quinolone, nitrofurantoin și la trimetoprim-sulfametoxazol; 20,31% tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE sunt rezistente la aminoglicozide (gentamicină și amikacină), quinolone, nitrofurantoin, tetraciclină și la trimetoprim-sulfametoxazol; 14,06% dintre tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE sunt rezistente la gentamicină, la quinolone, la nitrofurantoin, la tetraciclină și la trimetoprim-sulfametoxazol.

Rezistența la aminoglicozide este asociată mecanismelor de inactivare enzimatică.

Se observă în tabelul X că majoritatea tulpinilor au asociat rezistență la gentamicină și amikacină.

Rezistența dobândită la quinolone este cromozomală (la fel ca pentru *Escherichia coli*). Conform datelor raportate în studiul SENTRY, frecvența tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* rezistente la fluoroquinolone variază între 3,6% pentru ciprofloxacina în America de Nord și 12%, respectiv 26%, în Europa și America de Sud [12].

Din cele 64 tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE și multirezistente la antibiotice, 60 prezintă rezistență la fluoroquinolone (norfloxacina).

Tulpinile rezistente la acid nalidixic sunt în general cu o sensibilitate diminuată sau rezistente la acțiunea norfloxacina, pefloxacina, ofloxacina și ciprofloxacina [9].

Mecanismele de dobândire a rezistenței la trimetoprim-sulfametoxazol sunt aceleași cu cele descrise pentru *Escherichia coli*.

Din tabelul VII, se observă că 68 (88,30%) de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* prezintă rezistență la trimetoprim-sulfametoxazol, în timp ce SENTRY raportează valori de 23% tulpini rezistente în America de Nord, 33% în Europa și 45% în America de Sud, pentru tulpini de *Klebsiella pneumoniae* implicate în etiologia infecțiilor de tract urinar [12].

59,52% dintre tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* sunt rezistente la nitrofurantoin (vezi tabel VII). Studiul SENTRY relevă procente cuprinse între 1%-5% [12].

Ca și în cazul tulpinilor de *Escherichia coli*, majoritatea tulpinilor sunt sensibile la acțiunea a două antibiotice: 98,80% dintre tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE luate în studiu sunt sensibile la imipenem și 75,00% dintre tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* luate în studiu sunt sensibile la cefoxitin (tabel VIII).

Un studiu efectuat în mai multe spitale din Pennsylvania, în perioada iunie 1997-decembrie 2002, pentru identificarea factorilor de risc asociați cu multirezistența la antibiotice a tulpinilor de *Escherichia coli* și *Klebsiella spp.* producătoare de BLSE, a relevat rezistența asociată a acestor tulpini la acțiunea aminoglicozidelor, quinolonelor și trimetoprim-sulfametoxazolului [14].

După cum se observă în tabelele IX și X, tulpinile producătoare de BLSE luate în studiu prezintă multirezistență asociată, în special la acțiunea aminoglicozidelor, quinolonelor și trimetoprim-sulfametoxazolului, conform studiului american citat mai sus.

Concluzii

În acest moment este important să diminuăm impactul social al fenomenului de rezistență multiplă la chimioterapicele antiinfecțioase, prin cunoașterea detaliată a mecanismelor de rezistență bacteriană, optimizarea utilizării antibioticelor existente, formularea strategiilor de reducere până la dispariție a tulpinilor bacteriene cu rezistență multiplă la acțiunea antibioticelor. Elaborarea și aplicarea acestora ar conduce, în timp, la modificarea biocenozei bacteriene nosocomiale și comunitare, cu reducerea tulpinilor multirezistente.

Bibliografie

1. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews*, 2005, 18(4):657-686
2. Einhorn AE. Extended-Spectrum Beta-lactamases: Frequency, Risk Factors and Outcomes. *Pharmacotherapy Publications*, 2002, 22(1): 14-20
3. Buiuc D, Neguț M. *Tratat de Microbiologie Clinică*. Editura Medicală, București, 1999
4. Codita I. Ghid național pentru aplicarea procedurilor de testare a sensibilității la antibiotice conform standardului CLSI/NCCLS, Ed. Universitară "Carol Davila", București, 2007
5. Jehl F, Chomarat M et al. De la antibiogramă la prescripție. Ediția a II-a. Editura Științelor Medicale, București, 2003
6. Gupta K. Addressing antibiotic resistance. *Am J Med*. 2002, 113 suppl 1 A: S 29-34
7. Fritsche TR, Sader HS, Jones RN. Epidemiology of Antimicrobial Resistance: Species Prevalence, Susceptibility Profiles, and Resistance Trends. In: Lorian V. *Antibiotics in laboratory medicine*. Lippincott Williams & Wilkins. 2005, 17: 815-850
8. Elwell LP, Fling ME. Resistance to trimethoprim. In: LE Bryan, *Microbial Resistance to Drugs*. Springer-Verlag KG, Berlin, Germany, 1989, 249-290
9. Drlica K, Khao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1997, 61: 377-392
10. Flensburg J, Sköld O. Regulatory changes in the formation of chromosomal dihydrofolate reductase causing resistance to trimethoprim. *J Bacteriol*. 1984, 159: 184-190
11. Gutmann L, Williamson R, Moreau N, et al. Cross-resistance to nalidixic acid, trimethoprim, and chloramphenicol associated with alterations in outer membrane proteins of *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia*. *J Infect Dis*. 1985, 151: 501-507

12. Jones RN, Biedenbach DJ, Gales AC, Sustained activity and spectrum of selected extended-spectrum beta-lactamas (carbapenems and cefepime) against *Enterobacter* spp., and ESBL-producing *Klebsiella* spp.: report from SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2003, 21(1):1-7
13. Gulsun S, Oguzoglu N, Inan A, Ceran N. The virulence factors and antibiotic sensitivities of *Escherichia coli* isolated from recurrent urinary tract infections. *Saudi Med J*. 2005, 26(11): 1755-1760
14. Hyle EP, Lipworth AD, Zaoutis TE, et al. Risk factors for increasing multidrug resistance among ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. *Clin. Infect. Dis*. 2005, 40: 1317-1324
15. Bouza E, San Juan R, Muñoz P, Voss A, Kluytmans J. Co-operative Group of the European Study Group on Nosocomial Infections, A European perspective on nosocomial urinary tract infections I. Report on the microbiology workload, etiology and antimicrobial susceptibility (ESGNI-003 study). *European Study Group on Nosocomial Infections. Clin Microbiol Infect*. 2001, 7(10):523-531
16. Lorian V. *Antibiotics in laboratory medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, 2005
17. Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO-SENS Project. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 51: 69-76