

Comparative evaluation of the antibiotic sensitivity of microorganisms isolated from pathological biosubstrates

*A. Oglinda, Iu. Sinitsina

Department of Epidemiology, the Republican Hospital, Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: arhanghel_mihail@yahoo.com. Manuscript received July 17, 2013, accepted September 15, 2013

Abstract

Our study aims to assess the antibiotic susceptibility of microorganisms isolated from pathological biological substrates (discharge of postoperative wounds) of the surgical patients and the microbiological monitoring of the resistance to antimicrobial preparations at the medical institutions level (Republican Clinical Hospital). As a result of the comparative analysis of the data, a causative polymorphism characteristic of suppurative – septic diseases has been revealed as well as resistant and multi-resistant strains to antimicrobial agents and the spectrum of sensitivity to antibiotics of isolated gram-positive and gram-negative microorganisms. The total share of the identified strains resistant to antibiotics has constituted 48%. The analysis of the data of quantitative estimation of the resistance prevalence and its temporary dynamics is aimed at promoting the rational use of antibiotics, control of the occurrence and spread of microbial resistance at the local level, receiving information required for the development and implementation of more effective approaches to the treatment of infections, the choice of adequate effective drugs.

Key words: microbiological monitoring, multi-resistant microorganisms, suppurative-septic diseases.

Studiul evaluării sensibilității la antibiotice a microorganismelor izolate din biosubstrate patologice

Introducere

Rezistența bacteriană la antibiotice este una din marile provocări la etapa actuală [1]. Extinderea alarmantă a rezistenței microbiene la antibiotice este determinată de diverse mecanisme de achiziționare a rezistenței la nivel molecular [2, 3]. Utilizarea necontrolată a preparatelor antimicrobiene, duce la sporirea antibioticorezistenței microbiene și diminuarea eficienței lor [4]. În cazul tratamentului infecțiilor nedocumentate microbiologic („empiric”), este importantă cunoașterea sensibilității microorganismelor izolate în cadrul IMSP în scopul alegerii preparatelor potențial active față de agenții implicați [5].

Material și metode

Studiul se bazează pe analiza retrospectivă a 4223 de tulpini de microorganisme, izolate din 3317 probe, recoltate de la pacienții cu infecții septico-purulente (ISP) din secțiile Spitalului Clinic Republican, examinate pe parcursul anilor 2010-2012; evaluarea rezultatelor microbiologice obținute și monitorizarea tendințelor de rezistență la preparatele antimicrobiene la nivel instituțional [6].

Determinarea sensibilității microorganismelor la antibiotice s-a efectuat prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, folosind mediul nutritiv Muller-Hinton și rondele de antibiotice standard [6, 7, 8].

Rezultate obținute

Pe parcursul a. 2010-2012, au fost investigate bacteriologic 3317 probe de secret din plăgă cu izolarea a 4223 de tulpini de microorganisme.

În cadrul analizei rezultatelor investigațiilor bacteriologice, în funcție de biosubstratul patologic, s-a constatat că din secretul plăgii mai frecvent au fost izolate tulpini de microorga-

nisme gramnegative (55%), inclusiv familia *Enterobacteriaceae* (39,6%) și bacterii nefermentative gram negative (BNGN) – 15,4%: *P. aeruginosa* (9,8%), *Acinetobacter spp.* (5,5%).

Din familia *Enterobacteriaceae* s-au izolat frecvent *E. coli* (14,9%), *Klebsiella spp.* (8,2%), *Proteus spp.* (7,9%), *Enterobacter spp.* (4,7%), *Citrobacter spp.* (3,3%).

Din tulpinile de microorganisme grampozitive decelate (44,9%), pe primul loc se situează familia *Micrococaceae*, care constituie 24,7% (*S. aureus* – 11,7%; *S. epidermidis* – 9,1%; *S. saprophyticus* – 3,9%), după care urmează genul *Enterococcus spp.* – 16,6% și familia *Streptococcaceae* 3,6% (*Str. viridans* – 2,6%; *Str. hemolytic* gr. A, gr. B – 1,0%) (fig. 1).

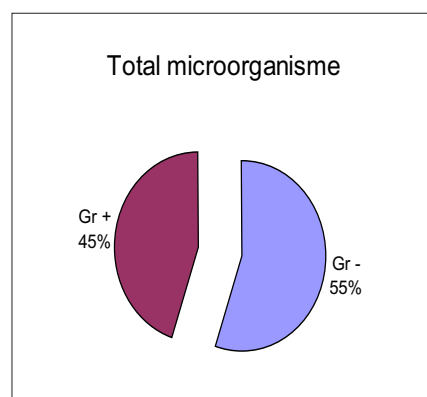


Fig. 1. Structura agenților microbieni izolați de la pacienții cu ISP.

În varietatea florei microbiene predomină *Enterococcus spp.* – 16,6% și *E. coli* – 14,9% din totalul de specii de microorganisme grampozitive și gramnegative, urmată de *S. aureus* – 11,7%, *P. aeruginosa* – 9,8%, *Klebsiella spp.* – 8,2%, *Proteus spp.* – 7,9% (fig. 2).

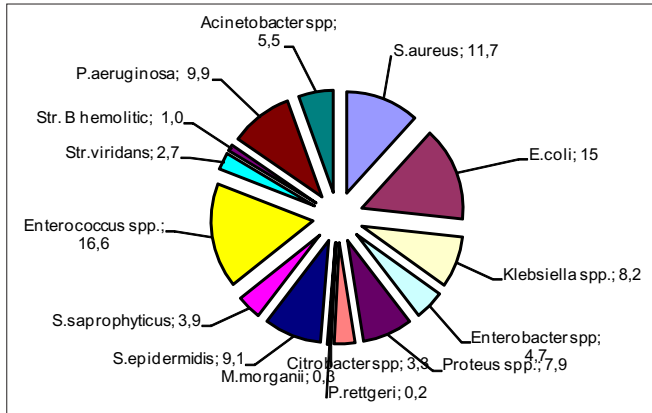


Fig. 2. Ponderea agenților microbieni izolați de la pacienții cu ISP.

O importanță deosebită prezintă cunoașterea spectrului de sensibilitate a agenților cauzali izolați [9].

Astfel, toate tulpinile izolate au fost testate în scopul determinării sensibilității la preparatele antibacteriene [10, 11, 12, 13,14].

S-a constatat faptul că ponderea generală a rezistenței tulpinilor izolate față de antibiotice a constituit 48% (fig. 3).

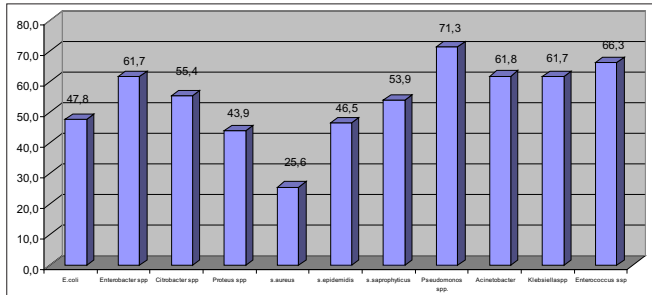


Fig. 3. Rezistența generală a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP.

Din diagrama prezentată (fig. 3), concludem că cei mai rezistenți agenți sunt *P. aeruginosa* (71,3%), *Enterococcus spp.* (66,3%), *Acinetobacter* (61,8%), *Klebsiella spp.* (61,7%), *Enterobacter spp.* (61,7%), *Citrobacter spp.* (55,4%).

În funcție de specia agenților microbieni, cei mai sensibili față de antibiotice s-au dovedit a fi microorganismele gram- pozitive din genul *Staphylococcus*. Tulpinile de *S. aureus* au fost sensibile în 74,4% și rezistente doar în 25,6% din probe; *S. epidermidis* – sensibile în 53,5% și rezistente în 46,5%; *S. saprophyticus* – sensibile în 46,1% și 53,9% rezistente.

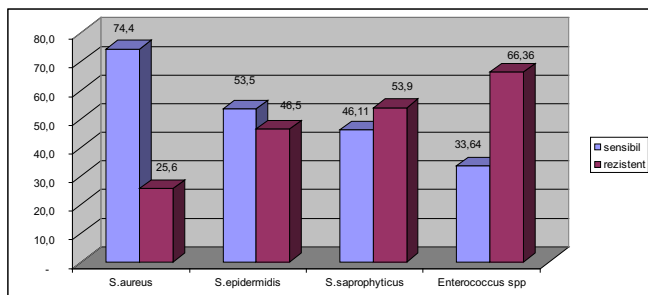


Fig. 4. Sensibilitatea/Rezistența la antibiotice a tulpinilor gram- pozitive.

Din microorganismele gram- pozitive o rezistență sporită s-a manifestat la genul *Enterococcus spp.* – 66,36% din probe (fig. 4).

Tulpinile gram- negative, decelate de la pacienții cu ISP, au prezentat o rezistență sporită – 59,4%, comparativ cu tulpinile gram- pozitive – 48,09% (din probele investigate).

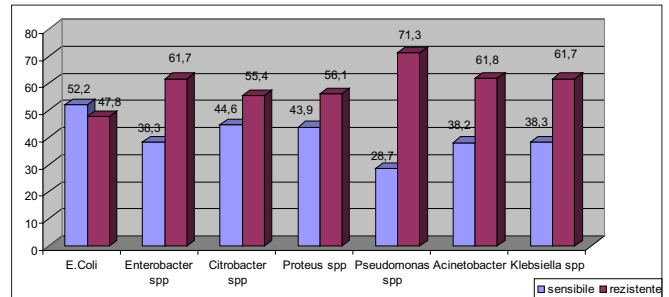


Fig. 5. Sensibilitatea/Rezistența la antibiotice a tulpinilor gram- negative.

Cele mai rezistente tulpini izolate s-au dovedit a fi: *Pseudo- monas spp.* (71,3%); *Acinetobacter* (61,8%); *Klebsiella* (61,7%); *Enterobacter spp.* (61,7%); *Citrobacter* (55,4%). Aceste tulpini au manifestat o polirezistență înaltă la 9 și mai multe antibi- otice (fig. 5).

În rezultatul studiului sensibilității tulpinilor în funcție de grupul de antibiotice, s-a constatat o rezistență mai înaltă față de peniciline (93,05%), cefalosporine (84,9%), inclusiv față de cefalosporinele de generația I – 93,9%; generația II – 84,8%; generația III – 80,4%. Totodată, trebuie de menționat faptul că sensibilitatea față de aceste grupuri de antibiotice s-a dovedit a fi doar în: 6,95%; 15,1%; 6,1%; 15,2%; 19,6%, respectiv.

Microorganismele gram- negative izolate de la pacienții cu ISP au prezentat, în majoritatea cazurilor, rezistență înaltă față de grupurile de antibiotice testate; și anume față de penici- line (92,09%), cefalosporinele de toate generațiile: generația I – 84,8%; generația II – 77,9%; generația III – 72,2%, pe când sensibilitatea față de aceste grupuri de antibiotice a fost stabilită doar în: 7,91%; 15,2%; 22,1% și 27,8%. În același context, tulpinile gram- negative studiate au manifestat sensi- bilitate mărită față de carbapeneme (96,5%) și aminoglicozide (netilmicin, amikacin – 74,6%).

În rezultatul investigațiilor microbiologice ale biosub- straturilor patologice recoltate de la pacienții cu ISP s-a constatat, că în infecțiile provocate de *Staphylococcus aureus*, preparatele de selecție sunt: doxicilina, cefazolina, cefuroxim, amikacin, imipenem, meropenem; de asemenea moxifloxacin, gentamicin, tobramicin, netilmicin, gatifloxacin, levofloxacin – preparate la care tulpinile de *S. aureus* au fost sensibile în 100% din probe (fig. 6).

În infecțiile provocate de genul *Enterococcus spp.* prepara- tele de selecție sunt glicopeptidele – vancomicina (sensi- bilitatea 95,8%).

În infecțiile provocate de *E. coli* și genul *Enterobacter spp.* preparatele de selecție sunt: netilmicin, amikacin, imipenem, meropenem (fig. 7, 8).

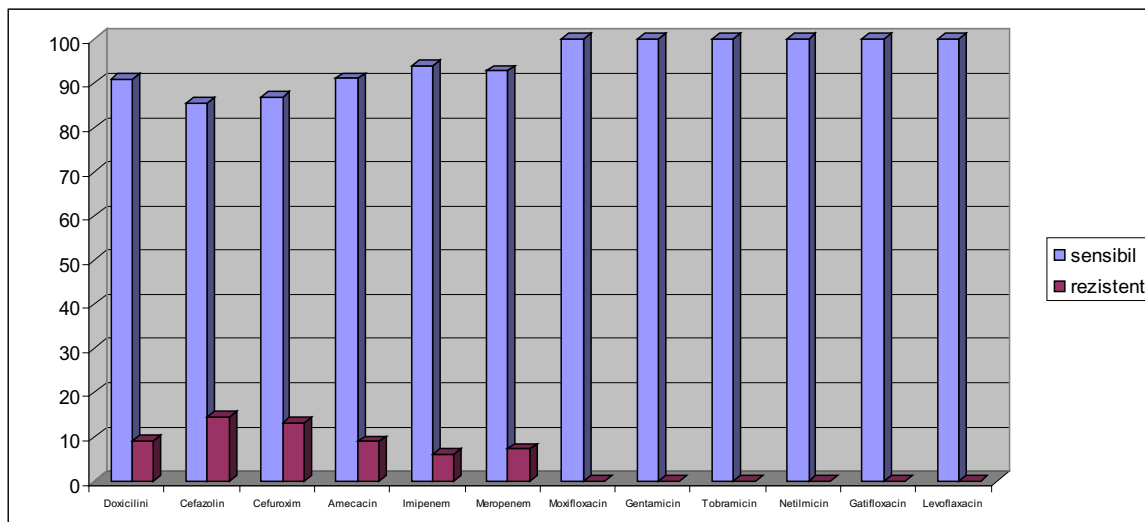


Fig. 6. Sensibilitatea tulpinilor *S. aureus* % la preparatele antimicrobiene (PAM).

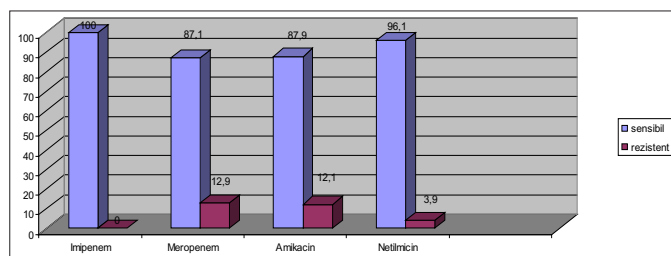


Fig. 7. Sensibilitatea tulpinilor *E. coli* la PAM.

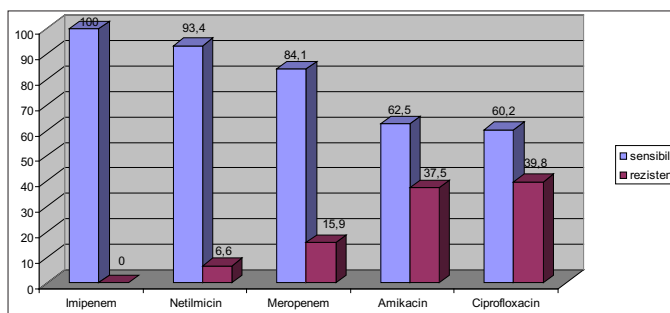


Fig. 10. Sensibilitatea tulpinilor *Citrobacter spp.* la PAM.

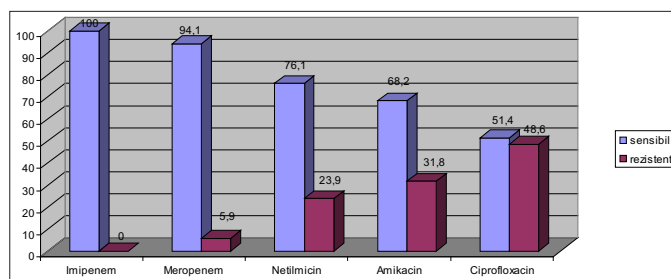


Fig. 8. Sensibilitatea tulpinilor *Enterobacter spp.* la PAM.

În infecțiile provocate de *Klebsiella spp.* preparatele de selecție sunt PAM carbapeneme: imipenem, meropenem (fig. 9).

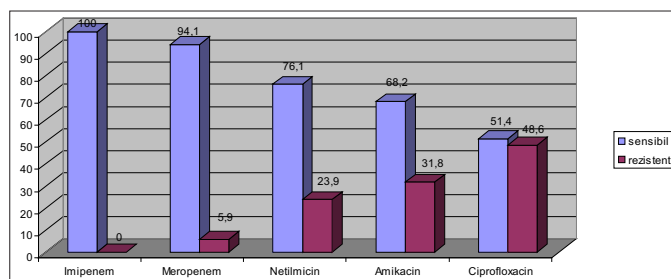


Fig. 9. Sensibilitatea tulpinilor *Klebsiella spp.* la PAM.

În cazul tulpinilor de *Citrobacter spp.* preparatele de selecție sunt: imipenem, netilmicina, meropenem, iar în cazul tulpinilor *Proteus spp.* preparatele de selecție sunt: ciprofloxacin, netilmicin, amikacin, imipenem (fig. 10, 11).

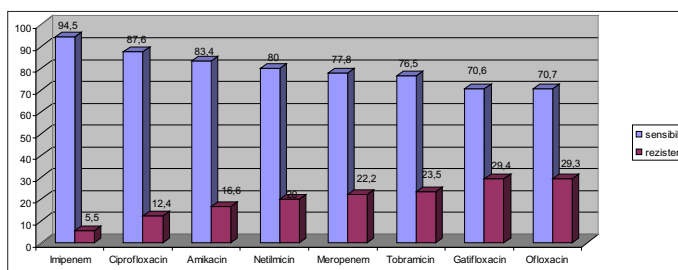


Fig. 11. Sensibilitatea tulpinilor *Proteus spp.* la PAM.

În infecțiile provocate de *P. aeruginosa* preparatul de selecție este imipenemul, iar în cazul tulpinilor de *Acinetobacter spp.* preparatele de selecție sunt: meropenem, imipenem, netilmicin, levofloxacin.

Concluzii

1. În cadrul monitoringului microflorei izolate din bio-substraturi patologice (secret de plagă) s-a constatat un poliformism etiologic specific pentru ISP.
2. În secretele din plagă predomină tulpini de microorga-

nisme gramnegative (55%), inclusiv familia *Enterobacteriaceae* (39,6%) și BNGN – 15,4%. S-au izolat frecvent *E. coli* (14,9%); *Klebsiella spp.* (8,2%); *Proteus spp.* (7,9%); *Enterobacter spp.* (4,7%); *Citrobacter spp.* (3,3%).

3. Din tulpinile de microorganisme grampozitive decelate (44,9%), pe primul loc se situează stafilococii, care constituie 24,7%, inclusiv *S. aureus* (11,7%), stafilococii coagulazonegativi (*S. epidermidis* – 9,1%; *S. saprophyticus* – 3,9%), după care urmează genul *Enterococcus spp.* – 16,6% și familia *Streptococcaceae* – 3,6% (*Str. viridans* – 2,6%; *Str. hemolitic* gr. A, gr. B – 1,0%).

4. În varietatea florei microbiene predomină *Enterococcus spp.* – 16,6% și *E. coli* – 14,9% din totalul de specii de microorganisme grampozitive și gramnegative, urmată de *S. aureus* – 11,7%; *P. aeruginosa* – 9,8%; *Klebsiella spp.* – 8,2%; *Proteus spp.* – 7,9%.

5. Ponderea generală a rezistenței tulpinilor izolate față de antibiotice a constituit 48%.

6. Cei mai rezistenți agenți sunt *P. aeruginosa* (71,3%), *Enterococcus spp.* (66,3%), *Acinetobacter* (61,8%), *Klebsiella spp.* (61,7%), *Enterobacter spp.* (61,7%), *Citrobacter spp.* (55,4%).

7. Mai sensibile față de antibiotice s-au dovedit a fi tulpinile de *S. aureus* (74,4%), comparativ cu stafilococii coagulazonegativi (*S. epidermidis* – 53,5% și *S. saprophyticus* – 46,1% din probe).

References

- Rugină S. Infecții nosocomiale, de la concepte la practică. Strategii de monitorizare în antibioticoterapie. [Nosocomial infections, from concepts to practice. Strategies of antibiotic therapy monitoring]. Constanța: Muntenia, 2004;141.
- Cupșa A. Boli infecțioase transmisibile [Communicable infectious diseases]. Craiova: Ed. Medicală Universitară, 2007;75-76.
- Buiu Dumitru, Neagu Marian. Tratat de microbiologie clinică [A treatise on clinical microbiology]. București, 2008;409-513.
- Prisacari V. Problema infecțiilor nosocomiale [The problem of nosocomial infections]. *Curierul medical*. 2005;3:47-52.
- Rugină S. Diagnosticul microbiologic al infecțiilor nosocomiale. Infecții nosocomiale, de la concepte la practică [Microbiologic diagnosis of nosocomial infections. Nosocomial infections, from concepts to practice]. Constanța: Muntenia, 2004;117-120.
- Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics (Guidelines, MUK 4.2.1890-04).
- Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *Clin Microbiol Infect*. 2011;4:291-296.
- Ghid Național pentru aplicarea procedurilor de testare a sensibilității la antibiotice conform standardului CLSI/NCCLS. Sub coordonarea Irina Codița. [National Guide for the application of procedures of antibiotic susceptibility testing according to CLSI / NCCLS standard. Under the coordination of Irina Codița]. Bucharest, 2006.
- Ivanov DV, Krapivina IV. The etiology of nosocomial surgical infections caused by gram-negative bacteria and profile of their antibiotic resistance. *ZHMEI*. 2007;5:90-93.
- Basics of infection control. Practical guide. Second Edition: American International Health Alliance, 2003.
- Surveillance standards for antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS. 2001.
- NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard. Seventh edition. 2000;20(1).
- NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; the twelfth informational supplement. *M100*. 2011;21(1):S11.
- Interstate program of monitoring of antibiologic resistance of microorganisms and resistance to disinfectants for 2006-2010, 02.06.2005.