

REZISTENȚA
LA ANTIMICROBIENE
A E. COLI ȘI K. PNEUMONIAE
IZOLATE DE LA PACIENȚII CU INFECȚII
ALE TRACTULUI URINAR

Maria ANTON¹, Aurelia BURDUNIUC²,
Cătălina CROITORU³, Emilia BEHTA³,
Greta BĂLAN³

¹ Agenția Națională pentru Sănătate Publică

² Institutul de Medicină Clinică și Experimentală,
Praga, Republica Cehă

³ IP USMF Nicolae Testemițanu

[https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4\(97\).25](https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4(97).25)

Rezumat

Introducere. Infecțiile tractului urinar (ITU) și rezistența la antimicrobiene reprezintă o problemă globală de sănătate și o amenințare la adresa sănătății publice. Cel mai frecvent ITU sunt provocate de microorganisme Gram-negativ, precum *E. coli*, *K. pneumoniae* și *P. mirabilis*. Scopul acestui studiu a fost să evalueze nivelul de rezistență la antimicrobiene al tulpinilor de *E. coli* și *K. pneumoniae* izolate de la pacienții cu infecții ale tractului urinar. **Materiale și metode.** Lotul de studiu a inclus 2750 de tulpini de *Escherichia coli* și 867 de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* izolate din ITU. Rezistența la antimicrobiene a izolatelor clinice a fost evaluată folosind metoda difuzimetrică și sistemul automatizat VITEK 2 Compact (bioMérieux). **Rezultate.** Rezultatele studiului au relevat că ambele tipuri de tulpini, *E. coli* și *K. pneumoniae*, izolate din uroculturi, au prezentat un grad înalt de rezistență la preparatele antimicrobiene testate. Cu toate acestea, s-a observat că tulpinile de *K. pneumoniae* au prezentat niveluri mult mai ridicate de rezistență, diferență mare constatându-se la carbapeneme, unde *E. coli* a înregistrat o rezistență în 0,8% cazuri, iar *K. pneumoniae* – 26,4% cazuri. Mecanismul de rezistență cel mai frecvent întâlnit (în 67,4% din cazuri) a fost producerea betalactamazelor cu spectru extins, în cea mai mare parte fiind detectat la tulpinile de *E. coli*. În schimb, tulpinile de *K. pneumoniae* au avut o frecvență mai mare de producere a carbapenemazelor, în special a tulpinilor OXA-48 (30,5%). **Concluzie.** Tulpinile uropatogene de *E. coli* și *K. pneumoniae* au prezentat rezistență la majoritatea claselor de antimicrobiene utilizate în tratamentul ITU. Aceste constatări pot fi utile pentru clinicieni în luarea deciziilor privind tratamentul adecvat al acestor infecții.

Cuvinte-cheie: *E. coli*, *K. pneumoniae*, rezistența la antimicrobiene, infecția tractului urinar

Summary

Antimicrobial resistance of *E. coli* and *K. pneumoniae* isolated from patients with urinary tract infections

Introduction. Urinary tract infections (UTIs) and antimicrobial resistance are a global health problems and public health threats. UTIs are most commonly caused by Gram-negative microorganisms, such as *E. coli*, *K. pneumoniae*, and *P. mirabilis*. The aim of this study is to evaluate the antimicrobial resistance of *E. coli* and *K. pneumoniae* strains isolated from patients with urinary tract infections. **Materials and methods.** The study batch included 2750 strains of *Escherichia coli* and 867 strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from UTI. Antimicrobial resistance of clinical isolates was determined by the diffusimetric method and the VITEK 2 Compact automated system (bioMérieux). **Results.** The results of the study demonstrated that both *E. coli* and *K. pneumoniae* strains isolated from urine cultures showed a high degree of resistance to antimicrobial preparations. *K. pneumoniae* showed much higher levels of resistance, a big difference being observed for carbapenems, where *E. coli* showed resistance in

0.8% of cases, and *K. pneumoniae* – 26.4% of cases. The most common resistance mechanism (67.4%) was the production of extended-spectrum beta-lactamases, mostly detected in *E. coli* strains. The *K. pneumoniae* strains most frequently produced carbapenemases, especially OXA-48 (30.5%). **Conclusions.** Uropathogenic strains of *E. coli* and *K. pneumoniae* have been shown to be resistant to most classes of antimicrobials used in the treatment of UTI, and these findings may be useful for clinicians in making treatment decisions for these infections.

Keywords: *E. coli*, *K. pneumoniae*, antimicrobial resistance, urinary tract infection

Резюме

Антимикробная резистентность *E. coli* и *K. pneumoniae*, выделенных от больных с инфекциями мочевых путей

Введение. Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) и устойчивость к противомикробным препаратам представляют собой глобальную проблему здравоохранения и угрозу общественному здоровью. Чаще всего ИМП вызывают грамотрицательные микроорганизмы, такие как *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis*. Целью данного исследования является оценка устойчивости к противомикробным препаратам штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов с инфекциями мочевыводящих путей. **Материалы и методы.** Исследуемая партия включала 2750 штаммов *Escherichia coli* и 867 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от пациентов с ИМП. Антимикробную резистентность клинических изолятов определяли диффузметрическим методом на автоматизированной системе VITEK 2 Compact (bioMérieux). **Полученные результаты.** Результаты исследования показали, что как штаммы *E. coli*, так и *K. pneumoniae*, выделенные из посевов мочи, проявляли высокую степень устойчивости к антимикробным препаратам. *K. pneumoniae* показала гораздо более высокие уровни устойчивости, большая её доля приходится на carbapenems, где *E. coli* показала резистентность в 0,8% случаев, а *K. pneumoniae* – в 26,4% случаев. Наиболее частым механизмом резистентности (67,4%) была продукция бета-лактамаз расширенного спектра действия, в основном выявляемых у штаммов *E. coli*. Штаммы *K. pneumoniae* чаще продуцировали carbapenemases, особенно OXA-48 (30,5%). **Заключение.** Уропатогенные штаммы *E. coli* и *K. pneumoniae* оказались устойчивы к большинству классов противомикробных препаратов, используемых в лечении ИМП. Эти результаты могут быть полезны клиницистам при принятии решений о лечении таких инфекций.

Ключевые слова: *E. coli*, *K. pneumoniae*, антимикробная резистентность, инфекции мочевыводящих путей

Introducere

Infecția tractului urinar (ITU) este o infecție bacteriană care afectează circa 150 de milioane de oameni la nivel global în fiecare an și reprezintă o problemă majoră de sănătate publică în ceea ce privește morbiditatea și cheltuielile economice [1]. Această afecțiune medicală este definită prin prezența microorganismelor patogene în diferite zone ale tractului urinar, cum ar fi urina, vezica urinară, uretra, rinichii și prostata [2]. Reprezentând a doua cea mai răspândită infecție bacteriană la nivel mondial, ITU afectează populația de toate vârstele. La nivel global, se estimează că 50% dintre femei vor exprima o ITU cel puțin o dată pe parcursul vieții, iar ITU sunt cele mai răspândite în rândul persoanelor cu vârsta cuprinsă între 16 și 64 de ani [3].

ITU în mai mult de 95% de cazuri sunt provocate de o singură specie microbiană, cel mai frecvent provenind din familia *Enterobacteriaceae*, care constituie flora indigenă a tractului gastrointestinal. Cea mai frecventă cauză de ITU este *Escherichia coli*, responsabilă de 50-80% dintre cazurile de ITU, urmată de *Klebsiella pneumoniae*, care este agentul etiologic pentru 8-13% dintre cazuri [4, 5].

Factorii de risc care favorizează expunerea tractului urinar la microorganismele uropatogene sunt utilizarea cateterelor urinare, vârsta, sexul și prezența unor tulburări de bază care afectează tractul urinar. Prevalența ITU este mai mare la femei decât la bărbați, în mare parte datorită diferențelor anatomice ale tractului urinar și altor predispoziții ale gazdei. La femei, ITU sunt adesea influențate de colonizarea vaginală cu uropatogeni, iar activitatea sexuală, sarcina și obstrucția sunt alte cauze care pot contribui la creșterea incidenței ITU la femei [2, 3].

În ultimii ani, rezistența la antimicrobiene a agenților uropatogeni a devenit o provocare majoră pentru monitorizarea ITU. Această problemă este mai acută în țările cu venituri mici și medii, unde utilizarea nejustificată și irațională a antimicrobienelelor este o practică obișnuită, care accelerează fenomenul de rezistență [6]. Cu toate acestea, prevalența tipului de rezistență la antimicrobiene a agenților uropatogeni este determinată de o varietate de factori și este într-o continuă schimbare. Prin urmare, monitorizarea constantă a profilurilor de sensibilitate este de o importanță crucială în alegerea tratamentelor adecvate [7].

Scopul acestui studiu este de a evalua rezistența la antimicrobiene a tulpinilor de *E. coli* și *K. pneumoniae* izolate de la pacienții cu infecții ale tractului urinar în vederea prescrierii unor tratamente antimicrobiene empirice eficiente și de calitate.

Material și metode. A fost realizat un studiu descriptiv, în care au fost incluse 2750 izolate clinice neduplicate de *Escherichia coli* și 867 izolate de *Klebsiella pneumoniae*. Materialul de examinat a constat în urina matinală (proba curată prinsă în zbor din jetul mijlociu). Examinarea urinei s-a efec-

tuat prin metoda cantitativă, standardizată în toate laboratoarele din Republica Moldova [8]. Testarea sensibilității la antimicrobiene s-a determinat prin metoda difuzimetrică (KirbyBauer) și automatizată (VITEK 2 Compact), iar interpretarea rezultatelor s-a efectuat în conformitate cu standardul EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [9].

Tulpinile izolate din urină au fost evaluate pentru posibila producere de betalactamaze cu spectrul extins (ESBL) în baza fenotipurilor de rezistență la cefalosporine de generația III (cefotaxim, ceftriaxon, cefexim, ceftazidim, cefoperazon) și generația IV (cefepim). Confirmarea producerii enzimei ESBL s-a realizat fenotipic prin testul de sinergie cu dublu disc și testul discurilor combinate (MastDisk Combi).

Screeningul pentru tulpinile producătoare de cefalosporinaze de tip AmpC (betalactamaze clasa C) s-a efectuat pe baza rezistenței la cefoxitină, iar apoi prezența acestei enzime a fost confirmată fenotipic cu ajutorul testului cu cloxacilină.

În baza rezistenței la carbapeneme (meropenem, ertapenem, imipenem) au fost selectate tulpinile suspecte de producerea carbapenemazelor. Confirmarea fenotipică a clasei de carbapenemază la tulpinile cercetate s-a efectuat utilizând discurile Mastdiscs ID inhibitor combination (MDI) suplimentat cu testarea sensibilității la temocilină și testul biochimic Carba NP II. Prin testele Combo Test, Combi Carba Plus și metoda imunocromatografică au fost puse în evidență enzimele de tip KPC, OXA-48 și metalobetalactamazele NDM, VIM și IMP. Detectarea genelor codante pentru tipurile de carbapenemaze a fost realizată prin reacția de polimerizare în lanț.

Rezultate obținute și discuții

Studiul a relevat că majoritatea infecțiilor urinare sunt cauzate de specii din familia *Enterobacteriaceae*, cel mai frecvent germene implicat fiind cu preponderență *Escherichia coli*, urmat de *Klebsiella pneumoniae* [10].

În urma studiului efectuat, s-a constatat că ITU au fost înregistrate la persoane de toate vârstele, însă cel mai frecvent au dezvoltat infecții determinate atât de *E. coli* cât și de *K. pneumoniae* persoanele cu vârsta cuprinsă între 56 și 70 de ani – 29,7%, urmate de grupul de vârste 26-40 de ani – cu 21,4% (figura 1).

În baza analizei sexului persoanelor afectate, s-a constatat că genul feminin prezintă o prevalență mai mare a ITU (81,0%) comparativ cu persoanele de gen masculin (19,0%). Această discrepanță este explicată de mai mulți factori predispozanți care contribuie la o susceptibilitate mai mare a femeilor la ITU. În mod similar, observațiile studiului actual cu privire la prevalența agenților uropatogeni este în concordanță cu alte studii efectuate anterior [11].

Rezistența la antimicrobiene reprezintă o preocupare majoră în tratarea infecțiilor bacteriene, inclusiv a ITU. Tratamentul eficient al pacienților cu infecții bacteriene ale tractului urinar depinde adesea de identificarea

corectă a agenților patogeni și alegerea antimicrobiene bazate pe supravegherea continuă a sensibilității la antimicrobiene a agenților uropatogeni [12].

atestă rezistență la antibioticele de rezervă, precum carbapenemele (imipenem, meropenem și ertapenem), iar în 53,4% de cazuri la aminoglicozide. În

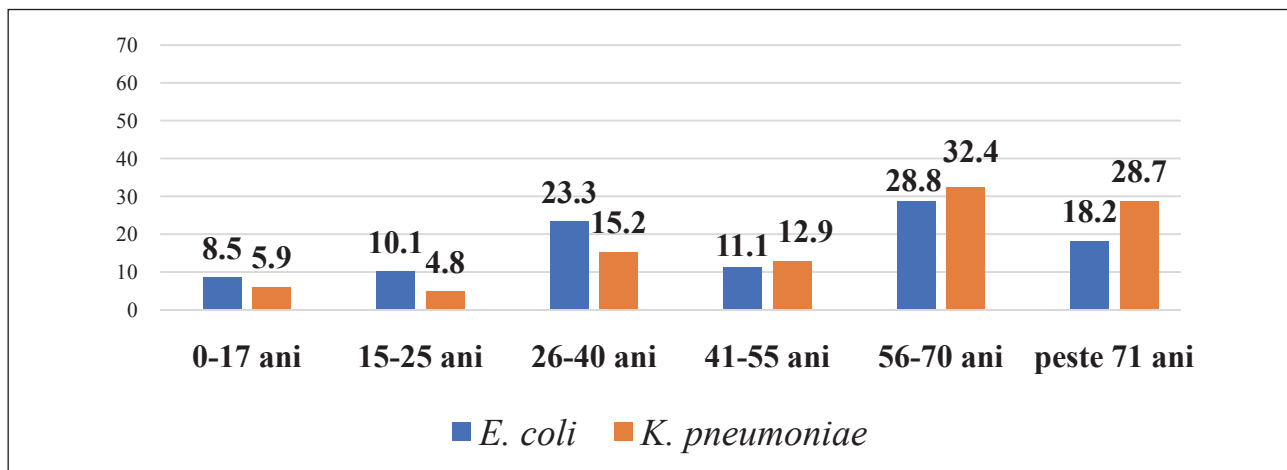


Figura 1. Ponderea persoanelor cu ITU în funcție de vârstă

Datele analizate privind sensibilitatea la antimicrobiene au demonstrat o rezistență înaltă a tulpinilor uropatogene de *E. coli* și *K. pneumoniae* la preparatele antimicrobiene. Astfel, 25,2% dintre tulpinile de *E. coli* testate s-au dovedit a fi rezistente la peniciline, 22,9% – la fluorochinolone, 22,5% – la cefalosporine GIII-a, 16,9% – la aminoglicozide, 13,0% – la cefalosporine GIV-a, iar la carbapeneme și colistin rezistența a constituit 0,8% și 12,5% respectiv.

În comparație cu tulpinile de *E. coli*, tulpinile de *K. pneumoniae* s-au dovedit a fi mult mai rezistente, inclusiv și la preparatele antimicrobiene de rezervă. Astfel, o rezistență îngrijorătoare a fost detectată la peniciline (ampicilină/amoxiclav, piperacilină/tazobactam) și fluorochinolone (ciprofloxacina/levofloxacina/ofloxacina) – 62,4%. Rezistență semnificativă s-a înregistrat și la cefalosporine GIII-a (69,7%); GIV (64,1%). De asemenea, în 26,4% cazuri *K. pneumoniae*

cea ce privește colistin, *K. pneumoniae* a prezentat rezistență în 23,5% din cazuri (figura 2).

Este alarmantă creșterea constantă a rezistenței la antimicrobiene, în special la tulpinile de *K. pneumoniae*, având în vedere capacitatea acestor microorganisme de a transmite foarte ușor genele de rezistență și de a se răspândi rapid în comunitate, dar mai ales în instituțiile de îngrijire medicală, în absența măsurilor adecvate de prevenire și control [10].

Mecanismul de rezistență la antimicrobiene a bacililor Gram-negativi, cel mai frecvent înregistrat, este inactivarea antimicrobienei beta-lactamice de către betalactamaze. Aceste enzime scindează nucleul beta-lactamic, conducând la inactivarea preparatului prin clivarea nucleului beta-lactamic. Ele pot fi inductibile, secretate doar în prezența beta-lactaminelor, sau constitutive, fiind produse permanent chiar și în absența substratului [10, 13].

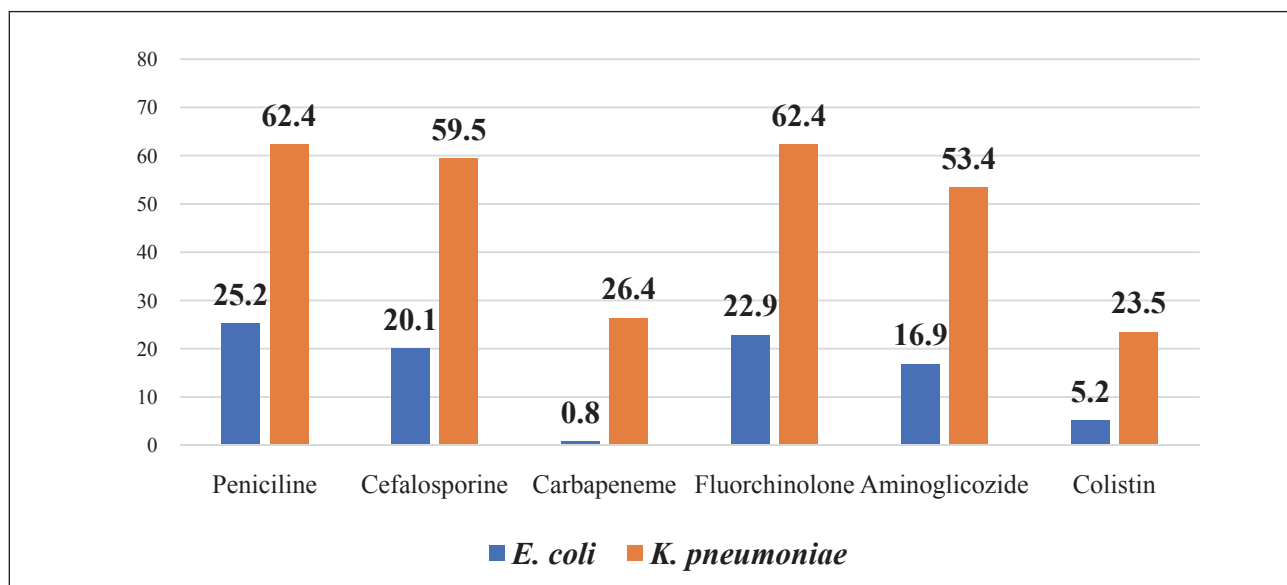


Figura 2. Rezistența la antimicrobiene a tulpinilor uropatogene de *E. coli* și *K. pneumoniae*

Tulpinile care au prezentat rezistență la beta-lactamine (peniciline, cefalosporine și carbapeneme) și au fost suspectate să producă betalactamaze cu spectru extins și carbapenemaze au fost supuse cercetării pentru determinarea mecanismelor de rezistență suspectate.

Din totalul tulpinilor incluse în studiu, au fost suspecte la producerea de ESBL – 37,4% tulpini de *E. coli* și 62,6% de tulpini de *K. pneumoniae* și ulterior confirmate prin testul discurilor combinate – 31,7% izolate de *E. coli* și 24,3% izolate de *K. pneumoniae*. Ponderele tulpinilor producătoare de ESBL a fost mai mare la *E. coli*, comparativ cu *K. pneumoniae*. Tulpinile de *K. pneumoniae* au fost suspecte într-un număr mult mai mare decât *E. coli*, dar rata confirmării acestui mecanism a fost mai puțin frecventă.

Betalactamazele din clasa C (cefalosporinaze de tip AmpC) au fost suspectate prin screeningul cu cefoxitină în 21,8% de cazuri și doar în 0,5% de cazuri au fost confirmate. Datele cercetărilor similare denotă că, aceste enzime sunt mai rar întâlnite la enterobacterii, ceea ce este în concordanță cu rezultatele obținute în studiul curent [14].

Un alt mecanism de rezistență identificat a fost producerea de carbapenemaze, astfel, 48,2% din tulpinile uropatogene au fost suspecte la prezența carbapenemazelor. După investigarea acestor tulpini prin testul Carba NP, s-a confirmat prezența în doar 22,2% de cazuri. Testul imunocromatografic a permis detectarea enzimelor OXA-48 în 26,9% din cazuri, NDM – 15,8% din cazuri și IMP – 10,8% din cazuri, dar confirmarea acestora s-a realizat prin metoda molecular genetică, evidențiind doar enzimele OXA-48 în proporție de 30,5% și NDM în proporție de 28,6%. Tipul IMP și VIM de carbapenemază nu a fost confirmat în nicio tulpină testată.

Într-o proporție foarte mică, dar semnificativă (1,42%, $p=0.04$), au fost identificate tulpini cu gene de rezistență care codifică producerea a două sau trei tipuri de enzime concomitent, incluzând combinațiile OXA-48 + NDM (1,4%), ESBL + NDM (0,5%) și ESBL + AmpC (0,4%).

Emergența rezistenței la carbapeneme a tulpinilor de *E. coli* și *K. pneumoniae* este îngrijorătoare pe motivul asocierii cu rezistența la multe antibiotice beta-lactame și non-beta-lactame, aceasta determinând limitarea tratamentelor eficiente. Asocierea mai multor tipuri de betalactamaze la același microorganism poate complica detectarea corectă a acestora.

Aceste rezultate sunt îngrijorătoare în ceea ce privește disponibilitatea opțiunilor terapeutice eficiente în ITU și reprezintă o preocupare majoră pentru medicii clinicieni. Creșterea rezistenței la antimicrobiene poate fi atribuită utilizării iraționale a acestor preparate în tratamentul diverselor maladii, fără a efectua teste de sensibilitate la antimicrobiene pentru tulpinile izolate [11].

Concluzii

Datele obținute în acest studiu arată că majoritatea tulpinilor uropatogene de *Escherichia coli* și de *Klebsiella pneumoniae* sunt rezistente la un număr mare de preparate antimicrobiene. Tulpinile de *K. pneumoniae* izolate din uroculturi au prezentat nivele de rezistență la antimicrobiene mai înalte decât *E. coli*, diferență mare observându-se la carbapeneme, unde *E. coli* a fost rezistentă în 0,8% din cazuri, iar *K. pneumoniae* – 26,4%. Producția de betalactamaze cu spectru extins a fost cel mai frecvent mecanism de rezistență întâlnit (67,4%), mai ales la tulpinile de *E. coli*. Producerea de carbapenemaze a fost atestată în special la tulpinile de *K. pneumoniae*, enzima depistată cel mai frecvent fiind OXA-48 (30,5%). Pentru a preveni creșterea rezistenței la antimicrobiene la ambele specii de bacterii, importante din punct de vedere clinic, trebuie evitată automedicația și diagnosticul incorect. Datele obținute vor fi utile pentru conștientizarea și selectarea utilizării empirice a antimicrobielenor în infecțiile tractului urinar.

Declarația de conflict de interese. Autorii declară lipsa conflictului de interese.

Declarația de finanțare. Articolul a fost realizat în cadrul proiectului 20.8000.8007.09. „Studiarea rezistenței bacililor gramnegativi la antimicrobiene în vederea fortificării sistemului național de supraveghere și control al bolilor transmisibile” din cadrul Programului de Stat.

Bibliografie

1. Bader M., Loeb M., Leto D., Brooks A. Treatment of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance and new antimicrobial agents. *Postgrad Med.* 2020; 132(3):234-250. doi: 10.1080/00325481.2019.1680052.
2. Flores-Mireles A., Walker J., Caparon M., Hultgren S. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(5):269.
3. Huang L., Huang C., Yan Y., Sun L., Li H. Urinary Tract Infection Etiological Profiles and Antibiotic Resistance Patterns Varied Among Different Age Categories: A Retrospective Study From a Tertiary General Hospital During a 12-Year Period. *Front Microbiol.* 2022 Jan 27;12:813145. doi: 10.3389/fmicb.2021.813145.
4. Pezeshki Najafabadi M., Dagoohian A., Rajaie S., Zarkesh-Esfahani S., Edalati M. Common microbial causes of significant bacteriuria and their antibiotic resistance pattern in the Isfahan Province of Iran. *J Chemother.* 2018 Oct-Dec;30(6-8):348-353. doi: 10.1080/1120009X.2018.1525120. PMID: 30663554.
5. Behzadi P., Urban E., Matuz M., Benko R., Gajdacs M. (2021). The Role of Gram-Negative Bacteria in Urinary Tract Infections: current Concepts and Therapeutic Options. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021; 1323, 35–69. doi: 10.1007/5584_2020_566.
6. Majumder M., Mahadi A., Ahmed T. et al. Antibiotic resistance pattern of microorganisms causing uri-

- nary tract infection: a 10-year comparative analysis in a tertiary care hospital of Bangladesh. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2022; 11, 156. doi.org/10.1186/s13756-022-01197-6.
7. Mortazavi-Tabatabaei S., Ghaderkhani J., Nazari A., Sayehmiri K., Sayehmiri F., Pakzad I. Pattern of Antibacterial Resistance in Urinary Tract Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Int J Prev Med*. 2019; 9;10:169. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_419_17.
 8. Burduniuc O., Ceban E., Bălan G., Plăcintă, Gh., Vişnevsch, A., Sofronie O., Bivol M. Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”. ÎS F.E.-P. „Tipografia Centrală”, Chișinău 2021, 64 p. ISBN 978-9975-3415-9-2.
 9. EUCAST. Guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.01 July 2017. https://aurosan.de/images/mediathek/servicematerial/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms.pdf
 10. Kanj S., Bassetti M., Kiratisin P., Rodrigues C., Villegas M., Yu Y., van Duin D. Clinical data from studies involving novel antibiotics to treat multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2022; 60(3):106633. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2022.106633.
 11. Belete M., Saravanan M. A Systematic Review on Drug Resistant Urinary Tract Infection Among Pregnant Women in Developing Countries in Africa and Asia; 2005-2016. *Infect. Drug Resist*. 2020; 13, 1465–1477. doi: 10.2147/IDR.S250654
 12. Muhammad A., Khan S., Ali N., Rehman M., Ali I. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of uropathogens in outpatients at a tertiary care hospital. *New Microbes New Infect*. 2020; 36:100716.
 13. Kot B. Antibiotic Resistance Among Uropathogenic *Escherichia coli*. *Pol J Microbiol*. 2019;68(4):403-415. doi: 10.33073/pjm-2019-048.
 14. Albaramki J., Abdelghani T., Dalaeen A. et al. Urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria: Risk factors and antibiotic resistance. *Pediatr Int*. 2019; 61(11):1127-1132. doi: 10.1111/ped.13911.

Autor corespondent:

Maria Anton, doctorandă, cercetător științific,
 Agenția Națională pentru Sănătate Publică
 tel.: 069617863
 e-mail: maria.anton8024@gmail.com