

SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS IZOLATE DIN INFECȚII GENITALE

CAMELIA GUȚĂ¹

¹CDT Plus Medica Craiova, Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova

Cuvinte cheie: Staphylococcus aureus, infecții genitale, rezistență la antibiotice

Rezumat: Infecțiile genitale, determinate de Staphylococcus aureus sunt frecvent întâlnite în practica medicală și de aceea, cunoașterea fenotipurilor de rezistență, respectiv a sensibilității la antibiotice a tulpinilor circulante, precum și emergența tulpinilor meticilino-rezistente, reprezintă un deziderat major care motivează scopul acestui studiu pentru inițierea unei terapii precoce adecvate. **Material și metodă:** În perioada iunie 2010 - decembrie 2011 am studiat sensibilitatea la antibiotice a 420 tulpini de Staphylococcus aureus, izolate din infecții genitale. Tulpinile au fost izolate și identificate în Laboratorul Spitalului Filantropia Craiova. Izolatele au provenit de la paciente spitalizate în secția de Obstetrică-ginecologie I a Spitalului Filantropia Craiova. Produsele patologice au fost însămânțate pe medii de cultură selective și neselective, iar identificarea s-a făcut pe baza caracterelor de cultură, morfo-tinctoriale, prezenței coagulazei și a proprietăților biochimice. Testarea sensibilității la antibiotice s-a efectuat prin două metode: difuzimetrică - Kirby-Bauer și de determinare a concentrațiilor minime inhibitorii între două puncte de ruptură. **Rezultate și discuții:** Din cele 420 tulpini studiate, 121 (28,8%) au fost meticilino-rezistente, 299 (71,2%) meticilino-sensibile. La macrolide și lincosamide tulpinile testate au prezentat sensibilitate redusă, fenotipul de rezistență dominant fiind cel inductibil. Față de aminoglicozide, din totalul tulpinilor analizate, 38,09% s-au dovedit rezistente la kanamicină, 13,09% la tobramicină și 10,95% la gentamicină. Tulpinile au arătat o rezistență crescută la tetraciclină (45,95%), relativ redusă la ciprofloxacina (10,95%) și redusă la trimetoprim-sulfametoxazol (3,09%). **Concluzii:** Tulpinile meticilino-rezistente au reprezentat 28,8% din tulpinile testate. Toate tulpinile testate au fost sensibile la vancomicină și linezolid. În cazul tulpinilor multirezistente, trimetoprim-sulfametoxazolul poate constitui o opțiune terapeutică.

Keywords: Staphylococcus aureus, genital infections, antibiotics resistance

Abstract: Objectives: Genital infections caused by Staphylococcus aureus are common in medical practice and therefore, knowing the resistance phenotypes, namely the sensitivity to antibiotics of the circulating strains, as well as the emergence of methicillin-resistant strains, is a major goal motivating this study to start an appropriate early therapy. **Material and method:** I studied the antibiotic sensitivity of 420 strains of Staphylococcus aureus isolated from vaginal secretions during the period June 2010 - December 2011. The strains were isolated and identified in the laboratory of Filantropia Hospital of Craiova. The isolates were from patients hospitalized in the Department of Obstetrics and Gynaecology I of the Filantropia Hospital of Craiova. Specimens were seeded on selective and nonselective culture media and the identification was based on culture and morpho-dyeing characteristics, on the presence of coagulase and on biochemical properties. Antibiotic susceptibility testing was performed by two methods: diffusimetric - Kirby-Bauer and the determination of minimum inhibitory concentrations between two break points. **Results and discussions:** Of the 420 studied strains, 121 (28.8%) were methicillin-resistant, and 299 (71.2%) methicillin-sensitive. The tested strains showed reduced susceptibility to macrolides and lincosamides, the dominant resistance phenotype was not inducible. Regarding aminoglycosides, 38.09% of the analyzed strains were resistant to kanamycin, 13.09% to tobramycin, and 10.95% to gentamicin. The strains showed high resistance to tetracycline (45.95%), relatively low resistance to ciprofloxacin (10.95%) and low resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole (3.09%). **Conclusions:** Methicillin-resistant strains represented 28.8% of the tested strains. All strains tested were sensitive to vancomycin and linezolid. In case of drug-resistant strains, trimethoprim-sulfamethoxazole may be a therapeutic option.

INTRODUCERE

Infecțiile genitale sunt frecvent întâlnite în practica medicală, severitatea lor variind de la forme ușoare până la forme care pot pune în pericol viața pacientei.

Utilizarea excesivă a antibioticelor, spitalizările frecvente sau îndelungate, nerespectarea cu strictețe a măsurilor de control al infecțiilor de către personalul medico-sanitar, sunt principalii factori de risc pentru creșterea rezistenței bacteriene la antibiotice.

¹Autor corespondent: Guță Camelia Daniela, Str. Gen. N. Măgareanu, Nr. 7C, Bl. WIN, Sc. 1, Ap. 10, Craiova, România, E-mail: drcameliaguta@gmail.com, Tel: +40766 696326

Articol intrat în redacție în 18.07.2012 și acceptat spre publicare în 03.09.2012

ACTA MEDICA TRANSILVANICA Decembrie 2012;2(4):79-81

ASPECTE CLINICE

Având în vedere evoluția continuă a fenomenului de rezistență la antibiotice, inclusiv a *S. aureus* metilicilino-rezistent (MRSA), este importantă stabilirea cu acuratețe a profilului de sensibilitate la antibiotice a tulpinilor de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) circulante. Totodată, supravegherea globală a rezistenței la antibiotice, prin intermediul unor programe precum ICARE, SENTRY, MYSTIC, atenționează asupra importanței implementării unor studii locale sau programe naționale de supraveghere pentru a evidenția fenotipurile circulante, în scopul ghidării terapiei antibacteriene

SCOP

Scopul studiului îl reprezintă stabilirea sensibilității la antibiotice a tulpinilor de *S. aureus* testate pentru îmbunătățirea terapiei infecțiilor genitale cu acest germeni.

MATERIAL ȘI METODĂ DE LUCRU

În perioada iunie 2010 - decembrie 2011 am studiat sensibilitatea la antibiotice a 420 tulpini de *Staphylococcus aureus* izolate din secreții vaginale.

Tulpinile au fost izolate și identificate în Laboratorul CDT Plus Medica Craiova și Laboratorul Spitalului Filantropia Craiova. Produsele patologice au fost însămânțate pe medii de cultură selective și neselective, iar identificarea s-a făcut pe baza caracterelor de cultură, morfo-tinctoriale, prezenței coagulazei și a proprietăților biochimice. Testarea sensibilității la antibiotice s-a efectuat prin două metode: difuzimetrică - Kirby-Bauer și de determinare a concentrațiilor minime inhibitorii între două puncte de ruptură. Testarea la antibiotice și interpretarea sensibilității s-a făcut standardizat, respectând ghidurile CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) de testare la antibiotice în vigoare.(2)

REZULTATE

Am evaluat sensibilitatea la beta-lactamine a tulpinilor de *S. aureus* izolate și am constatat următoarele: 121 de tulpini, adică 28,8% au fost rezistente la metilicilină (MRSA) și 71,2%, adică 299 tulpini au fost sensibile la metilicilină (MSSA).

Pentru a determina fenotipurile de rezistență la antibiotice a tulpinilor de *S. aureus* izolate, am determinat sensibilitatea acestor tulpini la macrolide-lincosamide-streptogramine B (MLSB). Rezistența la macrolide-lincosamide-streptogramine B am determinat-o prin D-test, test care constă în observarea antagonismului antibiotic între discul de clindamicină și discul de eritromicină. Tulpinile la care am constatat acest fenomen le-am încadrat ca tulpini cu fenotip MLSBi. Tulpinile rezistente la macrolide-lincosamide-streptogramine B și sensibile la ketolide au fenotip MLSBc. Tulpinile rezistente la eritromicină și sensibile la clindamicină au fenotip MLSBe.

Tulpinile testate la care s-a evidențiat fenotipul MLSBi le-am raportat ca rezistente la clindamicină. Prevalența fenotipurilor MLSB este redată în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1. Repartiția fenotipurilor de rezistență la MLSB la tulpinile testate

Fenotip	Total tulpini (n=420)	MRSA (n=121)	MSSA (n=299)
MLSBi	96 (22,85%)	54 (44,62%)	42 (14,04%)
MLSBc	32 (7,61%)	35 (28,92%)	5 (1,67%)
MLSBe	34 (8,09%)	15 (12,39%)	21 (7,02%)

Tulpinile MRSA au avut în principal fenotip MLSBi, indicând astfel o rezistență crescută la lincosamide-71,9% rezistență la clindamicină (tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 2. Rezistența la antibiotice a tulpinilor testate

Antibiotic	Total tulpini (n=420)	MRSA (n=121)	MSSA (n=299)
Penicilin	386 (91,9%)	121 (100%)	275 (91,9%)
Oxacilin	113 (26,9%)	121 (100%)	0
Erythromycin	170 (40,47%)	99 (81,81%)	92 (30,76%)
Clindamicin	134 (32%)	87 (71,90%)	48 (16,05%)
Tobramycin	55 (13,09%)	52 (42,97%)	6 (2%)
Gentamicin	46 (10,95%)	47 (38,84%)	7 (2,34%)
Trimethoprim-sulphametoxazole	13 (3,09%)	9 (7,43%)	5 (1,67%)
Tetracycline	193 (45,95%)	100 (82,64%)	95 (31,77%)
Ciprofloxacin	46(10,95%)	47 (38,84%)	9 (3,01%)

Față de eritromicină, tulpinile testate au avut un grad ridicat de rezistență, în special tulpinile MRSA-81,81%.

La tulpinile MSSA fenotipul dominant observat a fost cel sălbatic, cu sensibilitate la toate aminoglicozidele. Tulpinile MRSA au avut rezistență crescută la aminoglicozide – 89,25% iar 42,99% rezistență asociată la gentamicină, respectiv fenotip KTG (tabelul nr. 3). Am testat sensibilitatea la tetraciclină, 227 tulpini (54,05%) dovedindu-se sensibile (tabelul nr. 2). De remarcat nivelul ridicat de rezistență la tulpinile MRSA (82,64%), comparativ cu tulpinile MSSA (31,77%) (tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 3. Repartiția fenotipurilor de rezistență la AG la tulpinile testate

Fenotip	Total tulpini (n=420)	MRSA (n=121)	MSSA (n=299)
K	96 (22,85%)	53 (43,80%)	51 (17,07%)
KT	8 (1,9%)	7 (5,78%)	3 (1%)
KTG	48 (11,42%)	52 (42,99%)	12 (4,01%)
Sălbatic	268 (73,83%)	9 (7,43%)	233 (77,92%)

Cel mai scăzut nivel de rezistență s-a dovedit la trimetoprim-sulfametoxazol, atât pentru tulpinile MRSA (7,43%), cât și MSSA (1,67%) (tabelul nr. 2).

În urma testării sensibilității tulpinilor izolate de *S. aureus* la ciprofloxacin, așa cum reiese din tabelul nr. 2, doar 9 tulpini (3,01%) MSSA au fost rezistente la ciprofloxacin, spre deosebire de cele MRSA la care s-a observat o rezistență de 38,84% (47 tulpini).

Sensibilitatea la vancomicină și linezolid a fost de 100%, adică toate tulpinile testate au fost sensibile la cele două antibiotice.

DISCUȚII

La 2 ani de la introducerea metilicilinei în terapie, în 1961 se descrie prima tulpină MRSA în Marea Britanie.(3,4) Rezistența la streptomycină, tetraciclină, cloramfenicol și eritromicină este descrisă odată cu introducerea acestora în terapia infecțiilor produse de stafilococi rezistenți la penicilină. Rezistența multiplă la antibiotice înregistrează o prevalență crescută în anii 1950. În 1959 în Seattle sunt descrise peste 40% tulpini de spital rezistente la mai mult de patru antibiotice.(5)

ASPECTE CLINICE

Apariția rezistenței la aminoglicozide apare după 10 ani de folosire excesivă, iar în 1976 este izolată prima tulpină MRSA cu rezistență asociată la gentamicină.(6,7)

Mecanismele prin care stafilococii dobândesc rezistența la β -lactamine sunt: sinteza de penicilinaze și modificarea țintei de acțiune a β -lactaminelor. Fenotipul asociat penicilinazelor este penicilină-rezistent - meticilină-sensibil și conferă rezistența la penicilinele cu spectru îngust, iar cel legat de modificarea țintei: penicilină-rezistent - meticilină-rezistent - determină rezistență încrucișată la toate β -lactaminele, fiind frecvent asociat cu rezistența la alte grupe de antibiotice.(8,9,10,11) Procentul de MRSA observat în studiul nostru-28,8% se încadrează în procentul 25-50% din raportul de supraveghere al rezistenței la antibiotice european EARS-Net pe anul 2009 pentru România.(12)

Rezistența la aminoglicozide este primordial enzimatică, prin acțiunea enzimelor ce modifică aminoglicozidele. Dintre acestea, trei tipuri sunt în principal întâlnite la *S. aureus*: aminoglicozid-6'-N-acetiltransferaza/2 "O fosforiltransferaza [AAC(6')/APH(2'')] - codificată de gena aac(6')-Ie-aph(2''), enzimă bifuncțională ce determină fenotipul KTG cu rezistența la gentamicină, kanamicină, tobramicină, neomicină, amikacină; aminoglicozid-4'-O-nucleotidiltransferaza I [ANT(4')-I] - codificată de gena ant(4')-Ia inactivează kanamicina, tobramicina, neomicina, amikacina - fenotip KT și aminoglicozid-3'-O-fosforiltransferaza III [APH(3')-III] - codificată de gena aph(3')-IIIa determină fenotipul de rezistență K prin acțiune asupra kanamicinei, neomicinei.(13, 14, 15)

La tetraciclina au fost descrise două mecanisme de rezistență: prin eflux activ (achiziția genelor tetK, tetL) și rezistență cromozomială (codificată de genele tetM, tetO).

Stafilococii dobândesc rezistența la quinolone prin două mecanisme: mutații punctiforme la nivelul genelor cromozomiale ce codifică topoizomerazele și prin intermediul unor pompe de eflux mediate de proteina de transport norA.(15)

Optarea pentru terapia cu fluoroquinolone este recomandată să se facă conform antibiografei.(16)

CONCLUZII

1. La tulpinile de *S. aureus* izolate din infecții genitale, fenotipul cel mai frecvent observat a fost meticilinosenzibil, fără rezistență asociată la alte grupe de antibiotice.
2. Tulpinile MRSA identificate și testate au dovedit o rezistență asociată crescută la macrolide, lincosamide, aminoglicozide și tetraciclina.
3. Chiar dacă clindamicina are activitate antistafilococică crescută, procentul ridicat de rezistență observat la tulpinile testate limitează utilitatea clindamicinei în tratamentul infecțiilor genitale determinate de *S. aureus*.
4. Aminoglicozidele trebuie utilizate în terapie combinată deoarece folosirea lor ca unic agent antimicrobian predisune la apariția rezistenței.
5. Trimetoprim-sulfametoxazolul, a cărei eficiență clinică nu este pe deplin dovedită, poate constitui o opțiune terapeutică în cazul tulpinilor de *S. aureus* multirezistente, ținând cont de sensibilitatea ridicată la testarea in vitro.
6. Deși literatura de specialitate citează apariția unor tulpini rezistente la vancomicină și linezolid, toate tulpinile testate s-au dovedit sensibile la aceste antibiotice.

REFERINTE

1. Fritsche TR, Sader HS, Jones RN. Epidemiology of Antimicrobial Resistance: Species Prevalence, Susceptibility Profiles, and Resistance Trends. In: Victor L

Antibiotics in Laboratory Medicine. 5th Edition, Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 815-835.

2. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
3. Calderon CB, Sabundayo CB. Antimicrobial Classification: Drugs for Bugs. In: Schwalbe R., Steele-Moore L., Goodwin A.C. Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols, CRC; 2007. p. 7-52
4. Duckworth G. Controlling methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: Time to return to more stringent methods of control in the United Kingdom? *BMJ*. 2003; 27(7425):1177-1178.
5. Shanson DC. Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*. 1981;2(1):11-36.
6. Naidoo J, Noble WC. Acquisition of antibiotic resistance by *Staphylococcus aureus* in skin patients. *J Clin Pathol*. 1978;31:1187-1192.
7. Shanson DC, McSwiggan DA. Operating theatre acquired infection with a gentamicin-resistant strain of *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*. 1980;i:171-172.
8. Tenover FG, Hindler JF, Rosner E. Antimicrobial Susceptibility Testing: A self-study program. CDC; 2002.
9. Bell SM, Pham JN, Carter IW. Antibiotic Susceptibility Testing by The CDC Method: A Manual for Medical and Veterinary Laboratories 2009. Available from: URL: <http://web.med.unsw.edu.au/cdstest/>.
10. Jehl F, Chomar M, Weber M, Gérard A. De la antibiogramă la prescripție. 2th Edition, Editura Științelor Medicale; 2003.
11. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
12. EARS-Net Annual Report 2009 Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/10_11_SUR_annual_EARS_Net_2009.pdf.
13. Templer SJ, Brito MO. Bacterial Skin and Soft Tissue Infections 2009 Available from URL:http://www.turnerwhite.com/memberfile.php?PubCode=hp_mar09_bacterial.pdf.
14. Hauschild T, Sacha P, Wiczorek P, Zalewska M, Kaczyńska K, Tryniszewska E. Aminoglycosides resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from a University hospital in Białystok, Poland. *Folia Histochem Cytobiol*. 2008;46(2):225-228.
15. Emaneini M, Taherikalani M, Estampour MA, et al. Phenotypic and Genotypic Evaluation of Aminoglycoside Resistance in Clinical Isolates of *Staphylococci* in Teheran, Iran. *Microb Drug Resist*. 2009;15(2):129-132.
16. Schmitz FZ, Fluit AC, Gondolf M, et al. The prevalence of aminoglycoside resistance and corresponding resistance genes in clinical isolates of staphylococci from 19 European hospitals. *J Antimicrob Chemother*. 1999;3:253-259.