
STUDII ȘI SINTEZE

FRECVENȚA IZOLĂRII TULPINILOR DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO-REZISTENTE ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Greta Balan^{1,2} – dr.șt.med., conferențiar universitar,
Olga Burduniuc^{1,2} – dr.șt.med., conferențiar universitar,

Iulia Sinișina³ – medic-bacteriolog,

Oxana Iasîbaș^{1,2} – medic rezident,

Irina Bunescu¹ – doctorand,

¹Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,

²Centrul Național de Sănătate Publică,

³Spitalul Clinic Republican

e-mail: olga.burduniuc@cnspl.md

Rezumat

A fost studiată frecvența izolării și caracteristicile tulpinilor *Staphylococcus aureus* metilino-rezistente (MRSA) implicate în infecții asociate asistenței medicale în perioada ianuarie 2015–decembrie 2016. Datele au fost preluate din registrele Laboratorului microbiologic al Spitalului Clinic Republican. Din 941 de tulpini de *Staphylococcus aureus* au fost identificate 378 (40,2%) MRSA. Prevalența tulpinilor MRSA a variat în funcție de profilul secțiilor și a produselor patologice. Un procent mai mare de izolare a tulpinilor MRSA a fost înregistrat la pacienții internați în secția de terapie intensivă. Majoritatea tulpinilor au fost multirezistente, nu au fost identificate tulpini rezistente la glicopeptide, linezolid. MRSA este endemic în acest spital și din această cauză se impune intensificarea eforturilor de control al infecțiilor pentru a stopa răspândirea acestui germeni.

Cuvinte-cheie: infecții asociate asistenței medicale, MRSA (*Staphylococcus aureus* metilino-rezistent), susceptibilitatea la antibiotice

Summary

Insolation frequency of metilino-resistant staphylococcus aureus strains in the Republic of Moldova

We studied the frequency and characteristic of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates strains involved in healthcare associated infections between January 2015 and December 2016. The used data were from the Microbiological Laboratory Register of the Republican Clinic Hospital. Out of 941 strains of *Staphylococcus aureus*, 378 (40.2%) were MRSA. The prevalence of MRSA strains varied depending on the profile of the hospital division and pathological products. A higher isolation rate of MRSA strains was seen in patients admitted to the intensive care unit. Most strains were multidrug resistant, no glycopeptide, linezolid resistant strains were identified. MRSA is endemic in this hospital and intensified infection control efforts are made to stop the spread of this germ.

Key words: healthcare associated infections, MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), susceptibility to antibiotics

Резюме

Частота выделения штаммов метициллин-резистентного золотистого стафилококка в Республике Молдова

Была изучена частота выделения и характеристика штаммов МРЗС (метициллин-резистентный золотистый стафилококк), выявленных при инфекциях, связанных с медицинской помощью, в период с января 2015 года по декабрь 2016 года. Данные были получены из регистрационных журналов микробиологической лаборатории Республиканской клинической больницы. Из 941 штамма золотистого стафилококка, были выявлены 378 (40,2%) МРЗС. Распространённость штаммов МРЗС варьировала в зависимости от профиля отделений и патологических субстратов. Более высокий процент штаммов МРЗС был зарегистрирован у пациентов отделения интенсивной терапии. Большинство штаммов были мультирезистентны, не было выявлено штаммов, устойчивых к гликопептидам, линезолиду. МРЗС является эндемическим в этой больнице и требует активизации усилий по контролю инфекций для прекращения его распространения.

Ключевые слова: инфекции, связанные с медицинской помощью, МРЗС (метициллин-резистентный золотистый стафилококк), чувствительность к антибиотикам

Introducere. *Staphylococcus aureus* este un microorganism frecvent izolat din infecțiile asociate asistenței medicale în întreaga lume. În Europa prevalența infecțiilor asociate asistenței medicale cauzate de tulpini *Staphylococcus aureus* metilino-rezistente (MRSA) prezintă mari variații în funcție de zonele geografice [2, 5]. Procentul tulpinilor metilino-rezistente din totalitatea tulpinilor de *S. aureus* izolate prezintă de asemenea mari variații. Conform raportului EARSS (European Antibiotic Resistance Surveillance System) din a.2014, cota tulpinilor MRSA izolate din hemoculturi a variat între 0,9% (Netherlands) și 56,0% (România) [1]. Cele mai mici valori au înregistrat țările Scandinave, Olanda, țări cu tradiție în implementarea unor măsuri stricte de control al infecțiilor asociate asistenței medicale, iar cele mai mari valori au fost raportate din țările din sudul Europei.

Controlul infecțiilor asociate asistenței medicale cauzate de MRSA presupune aplicarea unui protocol special. În vederea implementării acestuia sunt importante evaluarea situației epidemiologice locale, cunoașterea și caracterizarea tulpinilor circulante.

Din aceste considerente a fost realizată evaluarea frecvenței izolării tulpinilor de MRSA din diferite produse patologice, prelucrate în Laboratorul microbiologic al Spitalului Clinic Republican pe parcursul anilor 2015-2016; stabilirea raportului dintre tulpinile MRSA și *S. aureus* metilino-sensibile (MSSA) și a tendinței frecvenței izolării tulpinilor MRSA în diferite secții clinice; studierea rezistenței tulpinilor MRSA față de antibiotice non- β -lactamice.

Material și metode. Studiul a fost efectuat în perioada ianuarie 2015 – decembrie 2016, analizând datele din registrele Laboratorului microbiologic al Spitalului Clinic Republican. Au fost analizate tulpinile izolate din hemoculturi, lichid cefalorahidian,

lichid pleural, lichid articular, puroi din plagă chirurgicală infectată, abcese, produse obținute din tractul respirator inferior (spută, aspirat traheal, aspirat bronșic). Nu au fost luate în calcul izolatele obținute de la pacienți din ambulator și din produse superficiale cu floră mixtă cu peste 3 specii. A fost analizat câte un singur izolat de la un pacient. Identificarea speciei *S. aureus* a fost efectuată prin metode bacteriologice convenționale. Metilino-rezistența a fost testată difuzimetric conform recomandărilor EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [7].

Testarea la antibiotice a tulpinilor izolate a fost realizată prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, cu utilizarea discurilor de antibiotice produse de firma HiMedia (India), și anume la eritromicină (15 μ g), clindamicină (2 μ g), gentamicină (10 μ g), ciprofloxacina (5 μ g), linezolid (30 μ g), tetraciclina (30 μ g), cloramfenicol (30 μ g) și trimetoprim – sulfametoxazol (1,25/23,75 μ g). Fenotipurile de rezistență MLS_B (macrolide, lincosamide, streptogramine B) s-au determinat cu ajutorul testului D (dublu disc difuzie). Pentru controlul de calitate s-au utilizat tulpinile: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Analiza statistică a datelor a fost efectuată cu ajutorul programului EpiInfo 2000.

Rezultate și discuții. În baza criteriilor stabilite, din 1213 de tulpini de *Staphylococcus aureus* izolate de la pacienți internați în perioada studiată, au fost incluse în studiu 941 de tulpini. Dintre acestea, cota tulpinilor MRSA a fost de 40,2% (n=378): 39,89% (n=165) în anul 2015 și 40,3% (n=213) în anul 2016, creșterea fiind nesemnificativă din punct de vedere statistic (p>0,05).

Procentul MRSA a variat în funcție de produsul patologic din care s-au izolat tulpinile (tabelul 1).

Tabelul 1

Ponderea tulpinilor de *Staphylococcus aureus* în diverse produse patologice

Produsul patologic	2015			2016		
	Total	MRSA		Total	MRSA	
		n	(%)		n	(%)
Puroi	321	121	37,7	339	98	28,9
Prelevate din căile respiratorii	64	26	40,6	127	89	70,1
Sânge	17	11	64,7	27	20	74,1
Alte prelevate	11	7	63,6	35	7	20,0
Total prelevate	413	165	39,89	528	213	40,3

Cota tulpinilor MRSA din totalitatea tulpinilor de *S. aureus* a fost diferită în secții cu diferite profiluri (figura 2). Ponderea cea mai mare a fost înregistrată în secțiile de terapie intensivă (87,2%), urmată de secțiile de chirurgie (46,8%) și terapie (19,2%).

Pe parcursul anilor 2015-2016 nu au fost izolate tulpini MRSA rezistente la vancomicină sau linezolid. Rezistența la antibioticele non- β -lactamice este redată în tabelul 2.

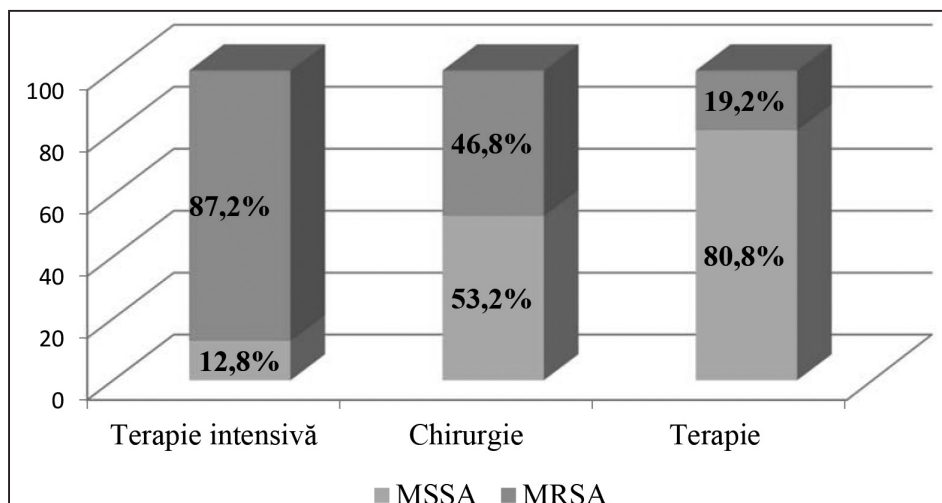


Figura 1. Cota tulpinilor MRSA din totalitatea izolatelor de *S.aureus* în funcție de profilul secțiilor

Tabelul 2

Rezistența la antibioticele non-beta-lactamice a tulpinilor de *Staphylococcus aureus* MRSA¹ și MSSA² izolate în cursul anilor 2015-2016

Preparatul antimicrobian	Tulpina (N)	Sensibil (%)	Rezistent (%)	p
Eritromicin	MRSA (365)	128 (35,1)	237 (64,9)	<0,001
	MSSA (828)	655 (79,1)	173 (20,9)	<0,001
Gentamicin	MRSA (348)	113 (32,5)	235 (67,5)	<0,001
	MSSA (796)	597 (75,0)	199 (25,0)	<0,001
Clindamicin	MRSA (362)	264 (72,9)	98 (27,1)	<0,001
	MSSA (827)	776 (93,8)	51 (6,2)	<0,001
Tetracilin	MRSA (362)	73 (20,2)	289 (79,8)	<0,001
	MSSA (825)	519 (62,9)	306 (37,1)	<0,001
Fluorochinolone	MRSA (356)	128 (35,9)	228 (64,1)	<0,001
	MSSA (816)	564 (69,1)	252 (30,9)	<0,001
Cloramfenicol	MRSA (364)	310 (85,2)	54 (14,8)	<0,001
	MSSA (824)	785 (95,3)	39 (4,7)	<0,001
Trimetoprim Sulfametoxazol	MRSA (364)	314 (86,3)	50 (13,7)	<0,001
	MSSA (823)	786 (95,5)	37 (4,5)	<0,001

¹MRSA – *S.aureus* meticilin rezistent;

² MSSA – *S.aureus* methicillin sensibil

Din tulpinile MRSA izolate pe parcursul anului 2015, 45,8% au fost multirezistente, procentul crescând până la 79,5% în anul 2016 ($p < 0,001$).

Determinarea antibiotipurilor MRSA a fost posibilă la 198 de tulpini izolate în anul 2016. Au fost descrise 24 de fenotipuri pe baza rezistenței la amino-

glicozide (A), macrolide (M), lincosamide (L), tetraciline (T), fluorochinolone (F), cloramfenicol (C) și trimetoprim-sulfametoxazol (S). Cel mai frecvent antibiogramă a fost AMTF (n=68), urmat de AMLTF (n=29) și ATF (n=26). În secția de terapie intensivă au fost determinate doar 3 fenotipuri de rezistență din cele 24: fenotipurile AMLTF (n=23), AMTF (n=31) și ATF (n=15). În secțiile de profil chirurgical au fost detectate 18 fenotipuri, la cele de profil terapeutic – 9 fenotipuri.

Dintre cele 198 de tulpini MRSA 5 tulpini au fost sensibile la toate antibioticele non- β -lactamice testate, iar 7 tulpini au prezentat rezistență numai față de o clasă de antibiotice non- β -lactamice.

Fenotipul de rezistență MLS_B a fost determinat la 184 de tulpini MRSA. Dintre acestea 146 au prezentat unu dintre fenotipurile MLS_B : MS (n=77), MLS_B inductibil (n=63) și MLS_B constitutiv (n=6).

În studiu s-a observat o creștere, deși nesemnificativă din punct de vedere statistic, a ponderii MRSA în hemoculturi – de la 64,7% în a.2015 până la 66,6% în a.2016. Există totuși semne de întrebare privind relevanța acestor date și necesită studii ulterioare pentru clarificarea cauzelor. Pe de o parte, rata scăzută a recoltării hemoculturilor în SCR poate duce la supraevaluarea rezistenței. Pe de altă parte, majoritatea hemoculturilor pozitive cu *S. aureus* au provenit de la pacienți aflați sub tratament antimicrobian, ceea ce poate avea ca și consecință depistarea predominantă a tulpinilor rezistente cu supraevaluarea fenomenului de rezistență.

Se constată o ușoară scădere a ponderii MRSA izolate din puroi de la 37,7% în anul 2015 până la 28,9% în anul 2016, însă fără a fi semnificativă statistic ($p=0,20$). De asemenea rezultatele pot fi influențate de condițiile recoltării puroiului în infecțiile de plagă. În a.2015, într-un studiu efectuat la Chișinău s-a raportat o cotă de 58,9% a tulpinilor MSSA izolate din infecțiile de plagă [3].

Raportul MRSA/MSSA în perioada studiată prezintă variații și în funcție de profilul secțiilor din care provin izolatele. În secția cu cel mai ridicat risc pentru infecții cu MRSA – terapia intensivă – tulpinile de *S. aureus* izolate au fost metilino-rezistente în proporție de 87,2%. În spitalele universitare din Europa participante la studiul SENTRY se observă de asemenea cea mai crescută rată a MRSA în unitățile de terapie intensivă, însă numai în 38,0% cazuri [4]. În schimb, studiul EPIC, care a evaluat ponderea MRSA în 1417 unități de terapie intensivă din 17 țări vest-europene, a raportat o cotă de 60,0% [5].

Pe durata studiului nu s-a observat creșterea semnificativă a ratei MRSA. Însă, pe secții se observă o tendință de creștere a frecvenței izolării tulpinilor

MRSA în terapia intensivă și o ușoară scădere în secțiile chirurgicale.

În perioada studiului nu s-a izolat nici o tulpină MRSA rezistentă față de linezolid sau glicopeptide. Nu se știe, dacă printre izolatele MRSA au fost tulpini cu susceptibilitate redusă la glicopeptide sau tulpini heterorezistente, deoarece metoda difuzimetrică nu este coresponsivă pentru depistarea acestor fenotipuri.

În studiul prezent, metilino-rezistența a fost frecvent însoțită de rezistența față de tetraciline, macrolide, gentamicină și fluorochinolone.

S-a studiat prezența fenotipurilor de rezistență față de grupul MLS_B (macrolide, lincosamide, streptogramine B). S-a detectat fenotip MS la 77 (41,8%) din 184 de tulpini MRSA testate, acesta fiind cel mai frecvent fenotip MLS_B . Fenotipul MLS_B constitutiv s-a detectat la 6 tulpini (3,3%). Conform datelor din literatură fenotipul constitutiv se asociază în principal cu metilino-rezistența și este cea mai frecventă formă de rezistență MLS_B la tulpinile MRSA. În studiul nostru, acesta a fost cel mai rar întâlnit fenotip. Fenotipul MLS_B inductibil s-a înregistrat la 63 de tulpini (34,2%). Datele literaturii denotă că acest fenotip caracterizează în special tulpinile metilino-sensibile [6].

Deși datele privind rezistența la antibiotice non-beta-lactamice raportate de diverși autori sunt variate, este subliniat de către toți caracterul multirezistent al tulpinilor MRSA izolate din mediul spitalicesc. Din studiul dat, de asemenea, reiese acest fapt și se atestă creșterea procentului de tulpini multirezistente de la 45,8% în a.2015 până la 79,5% în a.2016 ($p<0,001$). În cursul anului 2016 s-au identificat 24 de fenotipuri de rezistență cu distribuție și frecvență diferită în secțiile SCR. Dintre acestea 3 fenotipuri (AMTF, AMLTF și ATF) au fost cel mai frecvent izolate, restul fenotipurilor fiind întâlnite sporadic. Din cele 24 de fenotipuri de MRSA doar 3 se regăsesc în secțiile de terapie intensivă. Deoarece la terapie intensivă ajung pacienți tratați anterior în alte secții, iar de la terapie intensivă se transferă pacienți în diverse secții, aceste tulpini MRSA pot fi permanente vehiculate dintr-o secție în alta.

Concluzii:

1. Determinarea antibiogramăi tulpinilor MRSA este orientativă în stabilirea înruderii tulpinilor și urmărirea circulației lor, și nu poate fi utilizată în investigații epidemiologice

2. Rezultatele studiului efectuat denotă prezența tulpinilor MRSA ca endemice în SCR și se impune implementarea unor măsuri specifice pentru controlul răspândirii acestor germeni.

3. În spitalele cu endemicitate mare controlul MRSA este dificil. Se impun măsuri de stopare a transmiterii: izolarea pacienților colonizați/infectați, creșterea complianței personalului privind igiena mâinii, depistarea purtătorilor nazali în cadrul personalului și al pacienților nou-internați.

4. Importanță majoră în controlul și reducerea numărului de MRSA prezintă și optimizarea consumului de antibiotice rezultată cu reducerea presiunea selectivă exercitată de antibiotice.

Bibliografie:

1. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), 2014, Chapter 3:62-64. [online] <http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/antimicrobial-resistance-europe-2014.pdf> (accesat 28.09.2016).

2. Assadian O., Daxboeck F., Aspöck C. et al. *National Surveillance of methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Austrian hospitals: 1994-1998*. J Hosp Infect, 2003, 55:175-179. <http://europepmc.org/abstract/med/14572483>.

3. Balan G., Burduniuc O., Rimiș C. *Multidrug-resistant bacterial isolates in infected wounds*. Antropological Research and Studies. 2015, 5:11.

4. Fluit A., Wielders C., Verhoef J. et al. *Epidemiology and susceptibility of 3051 Staphylococcus aureus isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study*. J Clin Microbiol, 2001, 39:3727-32. <http://jcm.asm.org/content/39/10/3727.full.pdf>.

5. Vincent J., Bihari D., Suter P. et al. *The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study*. EPIC International Advisory Committee. JAMA, 1995, 274:639-644. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7637145>.

6. Schreckenberger P.C., Ilendo E., Ristow K.L. *Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci in a community and a tertiary care hospital*. J Clin Microbiol. 2004;42:2777-2779. [PMC free article] [PubMed].

7. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016*. [online] <http://www.eucast.org>.