

ASPECTE PRIVIND INFECȚIILE PEDIATRICE CU *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCĂTOARE DE BETALACTAMAZE

ASPECTS REGARDING PEDIATRIC INFECTIONS WITH *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ESBL

*Petronela-Cristina Chiriac*¹, *Letiția-Doina Duceac*², *Vladimir Poroch*³, *Magdalena Diaconu*¹, *Liviu Stafie*⁴, *Valentin Cârliș*¹, *Monica Marilena Țânțu*⁵

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova

²Universitatea Apollonia din Iași

³Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa” Iași

⁴Direcția de Sănătate Publică Iași

⁵Universitatea din Pitești

Autor corespondent: Petronela-Cristina Chiriac, e-mail cristinachiriac73@gmail.com

Abstract:

Infections with *Klebsiella* spp. producing beta-lactams are a challenge for the management of antibiotics in hospitals and a problem for community health. The study was conducted on 24 patients admitted to St. Mary's Children's Emergency Clinical Hospital in Iasi. Most cases were reported in infants of 0-12 months (75.00%) in the second trimester, with a predominance of cases in boys. The most frequent were the hypopharyngeal aspirations (29.16%) and the urocultures (16.67%). Strains of *K. pneumoniae* ESBL were associated with *E. coli*, *Acinetobacter* spp. and *Enterococcus* spp. 18 of these (75.00%) were also resistant to cephalosporin. The issue of ESBL producing *K. pneumoniae* strains should be considered in order to be able to make the most appropriate recommendations for the use of antibiotics for the purpose of early and accurate application of control measures for multi-drug resistant micro-organisms.

Key-words: *healthcare-associated infections, antibioresistance, Klebsiella, betalactamase, pediatrics*

Introducere

Klebsiella spp. este o bacterie întâlnită la om și alte mamifere, care colonizează tractul gastrointestinal, nasofaringele și tegumentul [21]. Infecția cu microorganisme producătoare de betalactamaze (BLSE) a fost raportată, pentru prima dată, în anul 1983, așa cum precizează Lee JC et al. în studiul efectuat [14].

Ulterior, acest fenotip s-a răspândit la nivel mondial, hidrolizând cele mai multe antibiotice betalactamice cu spectru larg. Într-un alt studiu efectuat de Tzouveleakis et al., se precizează că, la începutul anilor 1970, atât epidemiologia, cât și spectrul infecțiilor cauzate de *Klebsiella* spp. s-a schimbat dramatic, când această bacterie s-a stabilit în spitale și a devenit prima cauză de infecții intraspitalești la acel moment [21].

Este cunoscut faptul că tulpinile de *Klebsiella* spp. produc cantități moderate de penicilinaze cromozomiale, colectând plasmide multidrorezistente. La începutul anilor 2000, aceste tulpini s-au răspândit rapid în spitale,

determinând o criză de dimensiuni globale, de izolate rezistente la antimicrobiene. Pentru pacienții și profesioniștii din sănătate, creșterea rezistenței la antimicrobiene a tulpinilor de *Klebsiella* spp. reprezintă o amenințare, în special atunci când discutăm despre izolatele rezistente la carbapeneme. Cu puține variante terapeutice rămase ca opțiune, existența infecțiilor cu *Klebsiella* spp. producătoare de BLSE reprezintă o provocare pentru managementul antibioticelor într-un mediu spitalicesc și o problemă pentru ghidurile de spital [2, 5, 6, 7, 8, 10, 13, 16].

Conform studiilor și raportărilor, în România, consumul de medicamente, în special de antibiotice, este unul din cele mai crescute din Uniunea Europeană. Din cauza automedicației, dar nu numai, utilizarea inadecvată a antibioticelor reprezintă o problemă majoră pentru sistemul național de sănătate. În 2015, Comisia Europeană a derulat un studiu care a arătat că românii consumă cu 70% mai multe antibiotice decât ceilalți

europeni și că, zilnic, 3,3% din populația României consumă antibiotice. Același studiu a precizat că 70% dintre români cred că antibioticele sunt împotriva virusurilor, comparativ cu 49% dintre europeni, și, de asemenea, că 55% dintre români cred că antibioticele sunt eficiente în infecțiile virale respiratorii din anotimpul rece și în gripă, comparativ cu 41% dintre europeni. Aceeași problemă, utilizarea intempestivă și, uneori, inadecvată, a antibioticelor, a fost semnalată și în spitalele din țara noastră, iar rezistența la antibiotice reprezintă o problemă majoră de sănătate în România [9, 17, 19].

Scopul studiului a fost de a evalua descriptiv lotul de pacienți pediatrici la care au fost izolate tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE.

Material și metodă

Studiul a fost derulat pe un lot de 24 pacienți internați în Spitalul Clinic de Urgențe pentru Copii „Sf. Maria” din Iași. La aceștia, au fost recoltate diverse produse patologice pentru evidențierea *Klebsiella pneumoniae*, tulpini producătoare de betalactamaze.

Criteriile de includere în studiu au fost vârsta pediatrică (0-18 ani) și infecții la care au fost cultivate tulpini de *Klebsiella pneumoniae* singulare sau în asocieri cu alte microorganisme. Criteriile de excludere nu au luat în considerare mediul de proveniență, distribuția pe sexe, clinica / secția unde a fost internat pacientul și nici tipul prelevatului patologic. Datele au fost culese din rapoartele medicale ale pacienților eligibili, conform criteriilor de includere.

Sensibilitatea la antimicrobiene a fiecărei tulpini a fost determinată prin metoda difuziunii în disc, iar criteriile de interpretare au fost considerate cele ale standardelor de laborator. Confirmarea fenotipurilor, a depistării producerii de betalactamaze a fost realizată cu ajutorul discurilor combinate de cefalosporine / acid clavulanic, așa cum se precizează în standarde.

Rezultate

Din lotul total de 218 cazuri la care au fost izolate tulpini de *Klebsiella pneumoniae*, în anul 2016, a fost identificat un număr de 24

izolate producătoare de betalactamaze (11,01%).

Distribuția pe grupe de vârstă pediatrice a pacienților cu infecții la care au fost izolate tulpini de *Klebsiella pneumoniae* BLSE a arătat că cele mai multe cazuri au fost înregistrate la sugari de 0-12 luni (18 cazuri – 75,00%), apoi la copiii de vârstă 2-5 ani și 6-11 ani, dar incomparabil mai puține, la vârste pediatrice mai mari (Figura 1).

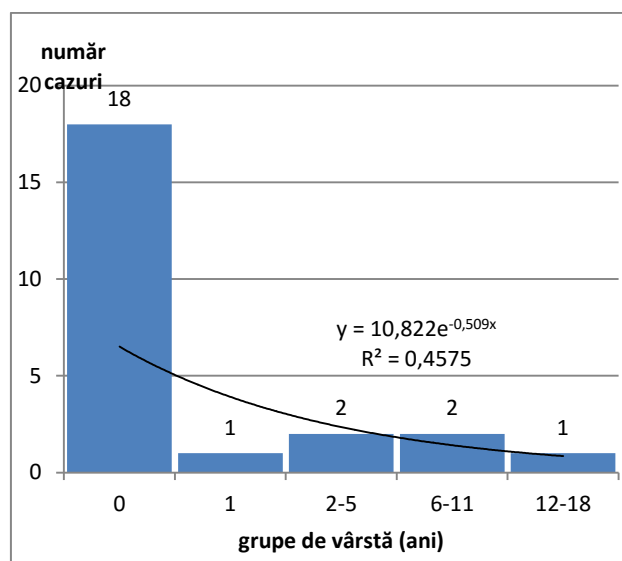


Figura 1. Histograma vârstei

Distribuția cazurilor pe trimestre a fost luată în considerare, astfel, am constatat că în trimestrul al II-lea au fost raportate cele mai multe cazuri (9 – 37,50%), iar în trimestrul IV, cele mai puține (3 cazuri – 12,50%) (Figura 2).

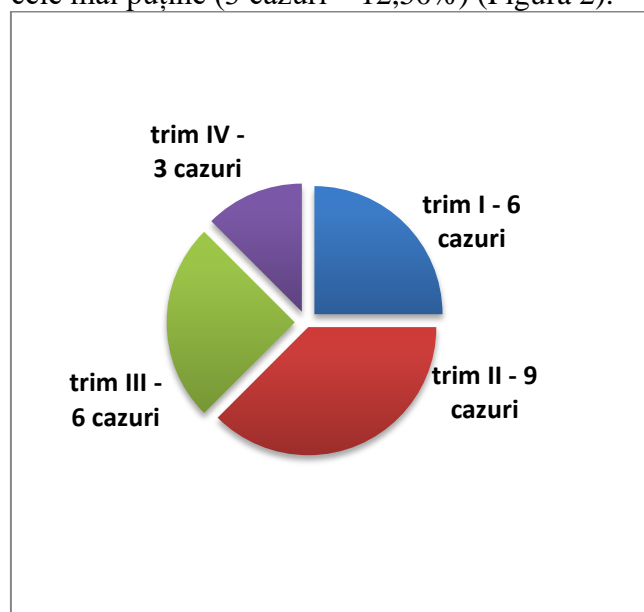


Figura 2. Distribuția cazurilor pe trimestre

Distribuția pe sexe a arătat o predominanță netă a băieților, cu un raport M / F = 2, cu un număr de 6 cazuri (66,67%) la sexul masculin în trimestrul al II-lea și 5 cazuri (83,33%) în trimestrul al III-lea.

Referitor la distribuția pe secțiile unde au fost internați pacienții din lotul studiat, se poate constata faptul că terapia acută a avut cele mai multe cazuri (7 pacienți – 29,16%), apoi secția de ATI (6 cazuri – 25,00% din care 2

cazuri internate în secția de ATI neonatologie), urmată de secțiile de pediatrie generală (5 izolate – 20,83%).

Alte secții implicate au fost nefrologia cu 2 cazuri, spitalizare de zi – 2 cazuri, chirurgia pediatrică – 1 caz și neurochirurgia pediatrică – 1 caz. Distribuția acestora pe trimestre evidențiază faptul că cele mai multe cazuri au fost internate în secția de terapie acută, în trimestrul I și trimestrul al III-lea (Tabel I).

Secția	Trim. I	Trim. II	Trim. III	Trim. IV	Total
Terapie acută	3	1	3		7
ATI	2		1	1	4
ATI neonatologie	1	1			2
Pediatrie generală		2	1	2	5
Nefrologie		1	1		2
Spitalizare de zi		1			1
Chirurgie pediatrică		1			1
Neurochirurgie		1			1
Total trimestrial	6	9	6	3	24

Tabel I. Distribuția trimestrială pe secții a pacienților incluși în studiu

Tipul prelevatelor este important, recoltările fiind efectuate din diverse produse patologice, cele mai numeroase fiind aspiratele hipofaringiene (7 pacienți), urmate de uroculturi (4 pacienți), recoltări din plagă / arsură (3 pacienți) și secreție otică (2 pacienți).

Alte tipuri de prelevate, precum hemocultură și cultură de la nivelul vârfului cateterului, cultură din lichid cefalorahidian, coprocultură, aspirat traheal și gastric, secreție conjunctivală, cu câte 1 caz, sunt prezentate în Tabelul II.

Prelevate	Trim. I	Trim. II	Trim. III	Trim. IV	Total
Aspirat hipofaringian	3	1	3		7
Urocultură		2	1	1	4
Puroi plagă / arsură	1				3
Secreție otică		2			2
Secreție conjunctivală	1				1
Aspirat traheal				1	1
Aspirat gastric	1				1
Hemocultură			1		1
Lichid cefalorahidian		1			1
Coprocultură				1	1
Tegument – cultură (CMB)		1			1
Cateter – vârf			1		1
Total	6	9	6	3	24

Tabel II. Tipul de prelevate recoltate de la pacienții pediatrici incluși în studiu

Asocierile tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* BLSE la pacienții pediatrici luați în studiu au fost considerate importante, având în vedere transferul posibil de plasmide care se

poate efectua între enterobacteriacee. Astfel, cele mai multe asocieri au fost cu *Escherichia coli* (16 prelevate), *Acinetobacter spp.* (14

prelevate), *Enterococcus spp.* (7 prelevate) și *Stenotrophomonas maltophilia* (2 prelevate).

Verificarea antibioretistenței tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* a demonstrat faptul că toate cele 24 izolate a fost găsite rezistente la ampicilină, la amoxicilină cu acid clavulanic. De asemenea, 18 (75,00%) din tulpinile izolate de *Klebsiella pneumoniae* au fost rezistente și la cefalosporine de tipul cefuroxim, ceftazidim, ceftriaxon, cefepim.

Discuții

Klebsiella pneumoniae este un microorganism patogen uman major care determină o morbiditate și o mortalitate ridicate în rândul pacienților internați în spitale. Epidemiologia genetică a infecțiilor cu *Klebsiella pneumoniae* la pacienții spitalizați din Statele Unite și din alte țări a constituit scopul a numeroase studii, utilizându-se tiparea moleculară cu rezoluție mică, cum ar fi testarea secvențelor multiloc (MLST). Rezultatele acestor studii, pe pacienți spitalizați, au raportat frecvent o prevalență a tulpinilor CG258 care a fost identificată pentru prima dată în anul 2009 ca o variantă cu un locus de tip secvență 11 (ST11) din Ungaria și, de atunci, a fost raportată la nivel mondial. Tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de carbapenemază au fost identificate pentru prima dată în Carolina de Nord în 1996 și, în prezent, produc infecții asociate asistenței medicale și spitalicești adesea multidrugrezistente, la nivel mondial [15, 18].

În Europa, prima descriere a tulpinilor producătoare de carbapenemaze a fost în Marea Britanie în anul 2003 și a fost o varianta KPC-4 de la *Enterobacter spp.* recoltat dintr-un specimen din Scoția. Prima înregistrare a unei tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de carbapenemază a fost realizată tot în Scoția, în anul 2007. Până în 2009, astfel de izolate erau confirmate sporadic în laboratoarele naționale de referință, de exemplu, în anul 2008, au fost raportate cinci izolate în patru spitale, iar în 2009, 13 izolate din 12 spitale, unde cele mai multe au fost cu *Klebsiella pneumoniae* ST258, în Grecia și Israel. Însă, în anul 2010, acest model epidemiologic s-a schimbat brusc, prin raportarea a 231 izolate pozitive pentru carbapenemază din care 216 pentru *Klebsiella spp.* În anul 2011, au fost raportate 368 izolate din care 286 cu *Klebsiella spp.*, iar în anul 2012,

un număr de 251 izolate cu *Klebsiella spp.* Studiile au subliniat faptul că măsurile de control luate în toate aceste focare de plasmide au fost nereușite și că există o circulație intensă a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* în spitale, tulpini cu plasmide de rezistență transmisibile între *Klebsiella spp.* și alți agenți patogeni. Transmiterea elementelor de rezistență a contribuit la apariția multidrogrezistenței specifice pentru *Klebsiella pneumoniae* la nivelul spitalelor mari, cu numeroase și variate secții. În ultimii ani s-a constatat creșterea numărului de astfel de focare de infecții asociate asistenței medicale spitalicești cu tulpini conținând plasmide, ele necesitând a fi luate în considerare în managementul clinic, epidemiologic și de laborator al spitalului [1, 3, 4, 20].

Un studiu efectuat în trei spitale din București a descris distribuția genelor BLSE la tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* izolate de la pacienți cu septicemii și bacteriemii simptomatice. Astfel, genele BLSE au fost găsite în 19 (70%) din cele 27 de tulpini de *K. pneumoniae* antibioretistente. Gena blaCTX-M-15 a fost găsită în 15 (79%) și blaSHV-12 în 12 (63%) izolate de *Klebsiella pneumoniae* [12].

Într-un alt studiu efectuat pe 288 izolate de *Klebsiella pneumoniae* de la pacienți din cinci spitale din Iran, a arătat că peste o treime din tulpini au fost BLSE (39,4%), iar într-unul din spitale, chiar peste 50%. De asemenea, au fost examinate pentru genele care codifică BLSE (blaSHV, TEM și CTX-M). Studiul a fost evaluat descriptiv și pe lunile calendaristice, autorii constatând că rezistența la cefalosporine de generația a treia este mai mare în timpul lunilor reci, decât în timpul lunilor calde [11], așa cum am constatat și noi în studiul de față.

Infecțiile cu microorganisme BLSE au un impact important asupra managementului clinic și farmacologic al bolilor infecțioase, mai ales în spitalele mari. Astfel de infecții sunt cunoscute ca asociind o evoluție mai severă decât cele fără tulpini BLSE, iar pacienții la care au fost izolate tulpinile sunt mai probabil să primească terapie antimicrobiană empirică și care să asocieze ulterior o evoluție gravă. *Klebsiella pneumoniae* și *E. coli* sunt cele două enterobacteriacee mai frecvent producătoare de betalactamaze, răspândite la nivel mondial, cauzând variate infecții, cum ar fi: infecții de tract urinar, infecții intraabdominale,

bacteriemii, atât în mediul spitalicesc - dovedite a fi infecții asociate asistenței medicale -, cât și în populația generală. Prevalența fenotipurilor producătoare de betalactamaze printre tulpinile izolate de la pacienții internați în spital, de *Klebsiella pneumoniae* și *Escherichia coli*, a variat, într-un studiu, între 1,5 și 29,8%, înainte de anul 2005. Fără excepție, prevalența crescândă a infecțiilor cu patogeni producători de betalactamaze a fost raportat de majoritatea spitalelor. Astfel, clinicienii ar trebui să fie informați asupra posibilului eșec al tratamentului antibiotic pentru infecții din comunitate cauzate de astfel de patogeni producători de BLSE, deoarece utilizarea empirică a cefalosporinelor pare a fi o practică frecventă în multe țări, inclusiv în țara noastră, atât ca automedicație, cât și inclusă în recomandarea medicilor din teritoriu [14].

Concluzii

Problematika infecțiilor asociate asistenței medicale la care s-au identificat tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de betalactamaze trebuie să fie în atenția oricărui clinician, mai ales în secțiile pediatrice de terapie acută, terapie intensivă, neonatologie, întrucât aceștia, pe fondul unui sistem imunitar supresat sau încă imatur, sunt pacienții cei mai expuși la dezvoltarea infecțiilor grave, dificil de controlat prin antibioticele uzuale, inclusiv cefalosporine.

Existența circulației de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de betalactamaze, într-un spital pediatric de mari dimensiuni, cum este cel din Iași, reprezintă o amenințare, dar și o oportunitate pentru profesioniștii din sănătate de a realiza, la timp și cât mai cuprinzător, cele mai potrivite ghiduri de utilizare a antibioticelor, pentru a ține sub control infecțiile cu microorganisme multirezistente.

Bibliografie:

- [1] Arnold RS, Thom KA, Sharma S, Phillips M, Johnson JK, Morgan DJ. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)-Producing Bacteria. *Southern Med J* 2011; 104(1):40-45.
- [2] Behnke M, Hansen S, Leistner R, Diaz LA, Gropmann A, Sohr D, Gastmeier P, Piening B. Nosocomial infection and antibiotic use: a second national prevalence study in Germany. *Dtsch Arztebl Int.* 2013; 110(38):627-633.
- [3] Castanheira M, Farrell SE, Wanger A, et al. Rapid expansion of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in two Texas hospitals due to clonal spread of ST258 and ST307 lineages. *Microb Drug Resist.* 2013; 19(4):295-297.
- [4] Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends in microbiology* 2014; 22(12):686-696. doi:10.1016/j.tim.2014.09.003.
- [5] Duceac LD. Ghid epidemiologic de spital, Ed. Studis, Iași, 2015.
- [6] Elemam A, Rahimian J, Mandell W. Infection with panresistant *Klebsiella pneumoniae*: A report of 2 cases and a brief review of the literature. *Clin Infect Dis.* 2009; 49(2): 271-274.
- [7] Exner M, Bhattacharya S, Christiansen B, et al. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hygiene and Infection Control.* 2017; 12:Doc05.
- [8] Fair RJ, Tor Y. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry.* 2014; 6:25-64.
- [9] Falup-Pecurariu O., Bleotu L., Zavarache C., Peled N., Anton O., Robu M., Falup-Pecurariu Cristian, Rogozea L., Porat N., Greenberg D., Dagan R., Leibovitz E., *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal colonization in children in Brasov, Central Romania: high antibiotic resistance and coverage by conjugate vaccines. *The Pediatric infectious disease journal*, 2011, 30.1: 76-78.
- [10] Fischbach MA, Walsh CT. Antibiotics for emerging pathogens. *Science.* 2009; 325(5944): 1089-1093.
- [11] Ghafourian S, Sekawi Z, Neela V, Khosravi A, Rahbar M, Sadeghifard N. Incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with urinary tract infection. *Sao Paulo Med*

- J. 2012; 130(1):37-43.
- [12] Hristea A, Olaru ID, Adams-Sapper S, Riley LW. Characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from bloodstream infections in three hospitals in Bucharest, Romania: a preliminary study. *Infect Dis (Lond)*. 2015; 47(1): 46-51.
- [13] Landman D, Babu E, Shah N, et al. Activity of a novel Aminoglycoside, ACHN-490, against clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from New York City. *J Antimicrob Chemother*. 2010; 65(10):2123–2127.
- [14] Lee JC, Lee EJ, Lee JH, et al. *Klebsiella pneumoniae* secretes outer membrane vesicles that induce the innate immune response. *FEMS Microbiology Letters* 2012; 331 (1): 17-24.
- [15] Long SW, Olsen RJ, Eagar TN, Beres SB, Zhao P, Davis JJ, Brettin T, Xia F, Musser JM. Population genomic analysis of 1,777 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates, Houston, Texas: unexpected abundance of clonal group 307. *mBio* 2017; 8:e00489-17.
- [16] Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18(3):268–281.
- [17] Manole M, Duma O, Gheorma A, Manole A, Păvăleanu I, Velenciuc N, Chelaru L, Duceac LD. Self-medication - a public health problem in Romania nowadays. The first quests. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iași* 2017; 121, 3:608-615.
- [18] Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(9): 785-796.
- [19] Puia P, Miron A, Gheorghinca S, Ancuta-Vasilica Puia AV, Pricop V. Multidrug resistant urinary tract infection – is *Klebsiella* spp the first enemy to fight with? *Rev Med Chir Soc Med Nat Iași* 2017; 121, (2): 366-373.
- [20] Richter SN, Frasson I, Franchin E, et al. KPC-mediated resistance in *Klebsiella pneumoniae* in two hospitals in Padua, Italy, June 2009 - December 2011: massive spreading of a KPC-3-encoding plasmid and involvement of non-intensive care units. *Gut Pathog*. 2012; 16;4(1):7.
- [21] Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25(4):682-707.