

Antimikrobna osjetljivost najčešćih mikroorganizama izoliranih iz krvi

Antimicrobial susceptibility of the most common microorganisms isolated from blood

Sabina Cviljević, Dobrinka Petković, Božica Lovrić, Tihomir Jovanović, Ljubica Farkaš*

Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi učestalost i antimikrobnu osjetljivost najčešćih mikroorganizama izoliranih iz krvi na području Požeško-slavonske županije, te usporedba dobivenih rezultata s podacima iz Hrvatske i Europe.

Materijali i metode: U ovom retrospektivnom istraživanju ukupno je obrađeno 2536 uzoraka krvi uzetih u razdoblju od 1. 1. 2015. do 31. 12. 2016. Uzorci krvi uzimani su na odjelima, u dvije bočice za hemokulturu (aerobnu i anaerobnu), po 10 ml krvi. Dječje hemokulture uzimane su u jednu bočicu, po 5 ml krvi. Bočice su zatim stavljene u Bact/Alert 3D aparat (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, Francuska), gdje su inkubirane na 37°C kroz 7 dana. Identifikaciju poraslih mikroorganizama i antimikrobnu osjetljivost određivali smo pomoću Vitek 2 uređaja (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, Francuska).

Rezultati: Od 2536 uzoraka krvi, pozitivno je bilo njih 89 (3,5%). Gram-pozitivne bakterije (stafilokoki i streptokoki) činile su 77%, a gram-negativne (enterobakterije) 22%, dok je jedan izolat bio bio *Candida albicans* (1%). Statistički je značajno veća učestalost gram-pozitivnih mikroorganizama izoliranih iz krvi ($p < 0,001$). Najčešće izolirani mikroorganizmi su bili koagulaza negativni stafilokoki (KNS), 57%. Od gram-negativnih bakterija, najčešći izolat je bila *Escherichia coli* (*E. coli*), 13%.

Rasprava: Antimikrobna osjetljivost *E. coli* je bila najveća na karbapeneme, treću i četvrtu generaciju cefalosporina, ko-amoksiklav i ciprofloksacin, a najmanja na amoxicilin, dok je osjetljivost na ko-trimoksazol i gentamicin umjerena.

Zaključak: Vrlo niska prevalencija (3,5%) mikroorganizama izoliranih iz krvi ukazuje na nekritično uzimanje hemokultura. Najveći broj izolata su bili KNS (57%) koji se normalno nalaze na koži, stoga je prije vađenja krvi za hemokulturu, potrebno dobro dezinficirati kožu i pažljivo izvaditi krv kako se ne bi kontaminirala bakterijama s kože. Podaci o antimikrobnoj osjetljivosti uzročnika izoliranih iz krvi mogu poslužiti u planiranju empirijske terapije u liječenju sepsa.

Ključne riječi: antimikrobna osjetljivost, sepsa, enterobakterije

Summary

The aim of this study was to determine the prevalence and antimicrobial susceptibility of the most common microorganisms isolated from the blood in the Pozega-Slavonia County and to compare it with data from Croatia and Europe.

Materials and methods: In this retrospective study, we processed 2,536 blood samples taken from January 2015 to December 2016. Blood samples were taken in medical wards, in two vials for blood cultures (aerobic and anaerobic), 10 ml blood in each. Children's blood cultures were taken into one vial, 5 ml of blood. Vials were incubated at 37°C for 7 days in the Bact/Alert 3D system (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France). Identification and antimicrobial testing were performed using commercially available automated Vitek 2 system (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France).

Results: Out of the 2,536 submitted blood samples, 89 samples (3.5%) were positive for bacterial growth. Gram-positive bacteria (*Staphylococcus spp* and *Streptococcus spp*) were 77% and the gram-negative (*Enterobacteriaceae*) 22%, and one isolate was *Candida albicans* (1%). The most commonly isolated

* Opća županijska bolnica Požega, Odjel za kliničku mikrobiologiju (Sabina Cviljević, dr. med.), Odjel za infektologiju (Dobrinka Petković, dr. med.), Odjel za kontrolu kvalitete (Božica Lovrić, mag. med. techn., Tihomir Jovanović, mag. med. techn.), Odjel za kliničku mikrobiologiju (Ljubica Farkaš, mag. med. lab.)

Adresa za dopisivanje / Correspondence address: Sabina Cviljević, dr. med., Opća županijska bolnica Požega, Odjel za kliničku mikrobiologiju, Osječka 107, 34 000 Požega, E-mail: sabina.cviljevic@po.t-com.hr

Primljeno/Received 2017-04-04; Ispravljeno/Revised 2017-05-14; Prihvaćeno/Accepted 2017-06-08

organisms were coagulase-negative staphylococci (KNS), 57%. Of the gram negative bacteria, the most common isolate was *E. coli* (13%).

Discussion: Antimicrobial susceptibility of *E. coli* was the highest to carbapenems, third and fourth generation cephalosporins, co-amoxiclav and ciprofloxacin.

Conclusion: Very low prevalence (3.5%) of microorganisms isolated from the blood indicates uncritical blood culture sampling. The most common isolates were KNS (57%), which are normally found on the skin, so before sampling blood cultures, it is essential to disinfect the skin and carefully take the blood sample. These resistance data can serve as a clinical tool in the prescription of empiric antimicrobial therapy.

Keywords: antimicrobial susceptibility, blood stream infection, Enterobacteriaceae

Med Jad 2018;48(4):201-205

Uvod

Bakterijemija označava prisutnost bakterija u krvi koja se dokazuje pozitivnim hemokulturama. Sepsa je generalizirana upalna reakcija koja nastaje kao posljedica prodora i umnožavanja mikroorganizama ili njihovih toksina u krvotok i posljedičnog općeg upalnog odgovora kao rezultat stvaranja raznih citokina i interleukina. Rezultat je interakcije mikroorganizma (sa svojim čimbenicima virulencije) i obrambenog sustava domaćina. Pojam sepsa koristi se i za opis bolesnika sa simptomatskom bakterijemijom.¹ Najčešće izolirani mikroorganizmi iz krvi su koagulaza negativni stafilocoki (KNS) i enterobakterije od kojih je najčešća *Escherichia coli* (*E. coli*).^{2,3,4} Antimikrobno liječenje je od presudne važnosti za ishod bolesti. Ciljana terapija smanjuje smrtnost bolesnika oboljelih od gram-negativnih sepsa.⁵ Porast rezistencije enterobakterija na antibiotike predstavlja sve veći problem u svijetu.^{2,6,7}

Cilj

Cilj istraživanja je bio utvrditi učestalost i antimikrobnu osjetljivost najčešćih mikroorganizama izoliranih iz krvi na području Požeško-slavonske županije i usporedba dobivenih rezultata s podacima iz Hrvatske i Europe.

Materijali i metode

U ovom retrospektivnom istraživanju obrađeno je 1368 bolesnika, od kojih su 850 bili odrasli, a 518 djeca. Ukupno je obrađeno 2536 uzoraka krvi uzetih u vremenu od 1. 1. 2015. do 31. 12. 2016. Uzorci krvi uzeti su prilikom sumnje na sepsu, u dvije bočice za hemokulturu (aerobnu i anaerobnu), po 10 ml krvi. Dječje hemokulture uzimane su u jednu bočicu, po 5 ml krvi. Bočice su potom stavljane u Bact/Alert 3D aparat (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, Francuska), gdje su inkubirane na 37°C kroz 7 dana. Aparat signalizira porast mikroorganizama zvučnim i svjetlosnim

signalom, nakon čega se pozitivne bočice vade iz aparata i dalje obrađuju po standardnom laboratorijskom protokolu. Iz pozitivnih bočica, uzorak smo nasadili na krvni agar, kromogeni agar i Sabouraud agar. Identifikaciju poraslih mikroorganizama smo radili ispitivanjem biokemijske aktivnosti bakterija i pomoću Vitek 2 uređaja (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, Francuska). Antimikrobnu osjetljivost smo ispitivali Kirby-Bauer disk difuzijskom metodom i pomoću Vitek 2 uređaja (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, Francuska). Za gram-negativne bakterije testirali smo dvanaest antibiotika: ciprofloxacin, amoxicillin-klavulanska kiselina ko-amoksiklav, ceftazidim, ceftriaxon, cefepim, imipenem+cilastatin, meropenem, cefuroxim, piperacillin-tazobactam, gentamicin, sulfametoxazol+trimetoprim (SXT), amoxicillin. Za stafilokoke smo testirali osam antibiotika: eritromicin, klindamicin, amoxicillin+klavulanska kiselina (ko-amoksiklav), gentamicin, sulfametoxazol+trimetoprim, ciprofloxacin, cefoxitin, vankomicin i jedanaest antibiotika za streptokoke (amoksicilin, ko-amoksiklav, ceftriakson, vankomicin, cefuroksim, klindamicin, eritromicin, azitromicin, klaritromicin, ciprofloksacin i SXT).⁸

Rezultati i rasprava

Od 2536 uzoraka krvi, pozitivno je bilo 89 uzoraka (3,5%).^{9,10} Gram-pozitivne bakterije (stafilokoki i streptokoki) činile su 77%, a gram-negativne (enterobakterije) 22%, dok je jedan izolat bio *Candida albicans* (1%). Statistički je značajno veća učestalost gram-pozitivnih mikroorganizama izoliranih iz krvi ($p < 0,001$ /razina značajnosti je $p < 0,05$).

Najčešće izolirani mikroorganizmi su bili koagulaza negativni stafilocoki (KNS), 57%. Oni se normalno nalaze na koži i često kontaminiraju uzorke prilikom vađenja krvi, te je stoga njihova uloga u nastanku sepsa upitna. Mogu izazvati sepsu povezanu s intravaskularnim kateterima koja se dokazuje s najmanje dvije pozitivne hemokulture.^{11,12} U praksi najčešće nalazimo jednu pozitivnu hemokulturu, pa je

interpretacija nalaza otežana. Zbog svega navedenog KNS smo isključili iz daljnje analize. *Staphylococcus aureus* izolata je bilo 11%, a izolata *Streptococcus species* je bilo 8%. Od gram-negativnih bakterija, najčešći izolat je bila *E. coli* (13%), potom *Klebsiella pneumoniae* (5%) i ostale enterobakterije s po jednim izolatom (6%) (Tablica 1).

Tablica 1. Najčešći mikroorganizmi izolirani iz krvi
Table 1 The most frequent microorganisms from the blood

Mikroorganizmi <i>Microorganisms</i>	Postotak (%) <i>Percentage</i>
Koagulaza negativni stafilokoki <i>Coagulase negative staphylococci</i>	57
<i>Escherichia coli</i>	13
<i>Staphylococcus aureus</i>	11
<i>Streptococcus species</i>	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
Ostalo / <i>Other</i>	6

Antimikrobna osjetljivost

Staphylococcus aureus je bio dobro osjetljiv na testirane antibiotike. Uočena je nešto manja osjetljivost na eritromicin (71,4%) i SXT (71,4%) (Tablica 2).

Tablica 2. Antimikrobna osjetljivost *Staphylococcus aureus*

Table 2 antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>	S (%)	R (%)
eritromicin	71,4	28,6
klindamicin	85,7	14,3
ko-amoksiklav	85,7	14,3
gentamicin	100,0	0,0
ko-trimoksazol	71,4	28,6
oksacilin	80,0	20,0
ciprofloksacin	100,0	0,0
vankomicin	100,0	0,0

Legenda: S = osjetljivo R = rezistentno
Legend: S = sensitive R = resistant

Udio MRSA sojeva je iznosio 20%, što je manje u odnosu na Hrvatsku (25%) (13), ali značajno više u odnosu na zemlje sjeverne Europe (Nizozemska 0,9%,

Norveška 1,0%, Švedska 1,0%, Danska 2,5%, Finska 2,6%, Engleska 11,3%, Njemačka 11,8%).¹⁴

Streptococcus species je dobro osjetljiv na ko-amoksiklav, amoxicilin, ceftriakson, cefuroksim, klindamicin, ciprofloksacin i ko-trimoksazol, dok je osjetljivost na eritromicin, azitromicin i klaritromicin 50% (Tablica 3).

Tablica 3. Antimikrobna osjetljivost *Streptococcus species*

Table 3. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus species*

<i>Streptococcus species</i>	S (%)	R (%)
ko-amoksiklav	100	0
amoxicilin	100	0
ceftriakson	100	0
cefuroksim	100	0
klindamicin	100	0
ciprofloksacin	100	0
ko-trimoksazol	100	0
eritromicin	50	50
azitromicin	50	50
klaritromicin	50	50
vankomicin	100	0

Legenda: S = osjetljivo R = rezistentno
Legend: S = sensitive R = resistant

Antimikrobna osjetljivost *E. coli* je najveća na karbapeneme, treću i četvrtu generaciju cefalosporina, ko-amoksiklav i ciprofloksacin, a najmanja na amoxicilin, dok je osjetljivost na ko-trimoksazol i gentamicin umjerena (Tablica 4). *E. coli* je najčešći gram-negativni uzročnik izoliran iz krvi.^{2,3,4,5} Rezistencija naših izolata *E. coli* na aminopeniciline je 50%, što je nešto manje u odnosu na Hrvatsku (56%).¹³ U Europi, rezistencija invazivnih izolata *E. coli* na aminopeniciline varira (Finska 34,7%, Norveška 41,8%, Danska 44,9%, Nizozemska 46%, Austrija 50,4%, Njemačka 51,7%, Grčka 55,7%, Francuska 55,9%, Belgija 58,9%, Mađarska 59,1%, Engleska 62,7%, Španjolska 64,9%, Italija 65,4%, Bugarska 73%).¹⁴ Nije izoliran niti jedan Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) soj *E. coli*. Udio invazivnih ESBL sojeva *E. coli* u Hrvatskoj je 13%¹³ dok se u Europi kreće od 3,3% u sjevernoj do 40,4% u jugoistočnoj Europi.¹⁴ Nismo izolirali niti jedan soj *E. coli* rezistentan na karbapeneme (KRE). Općenito, u cijeloj Europi vrlo je niska rezistencija invazivnih

Tablica 4. Antimikrobna osjetljivost *Escherichie coli*
 Table 4 Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i>	S (%)	R (%)
ciprofloksacin	100	0
ko-amoksiklav	100	0
ceftazidim	100	0
ceftriakson	100	0
cefepim	100	0
imipenem	100	0
meropenem	100	0
cefuroksim	83,3	16,7
piperacillin-tazobactam	90,9	9,1
gentamicin	75	25
ko-trimoksazol	75	25
amoksicillin	50	50

Legenda: S = osjetljivo R = rezistentno
 Legend: S = sensitive R = resistant

izolata na karbapeneme. *Klebsiella pneumoniae* je dobro osjetljiva na karbapeneme i piperacillin+tazobactam, umjereno osjetljiva na 3. i 4. generaciju cefalosporina, a najmanje osjetljiva na ciprofloksacin (Tablica 5).

Tablica 5. Antimikrobna osjetljivost *Klebsielle pneumoniae*
 Table 5 Antimicrobial susceptibility of *Klebsiella pneumoniae*

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S (%)	R (%)
ciprofloksacin	25	75
ko-amoksiklav	50	50
ceftazidim	75	25
ceftriakson	75	25
cefepim	66,7	33,3
imipenem	100	0
meropenem	100	0
cefuroksim	50	50
piperacillin-tazobactam	100,0	0
gentamicin	50	50
ko-trimoksazol	50	50
amoksicillin	0	100

Legenda: S = osjetljivo R = rezistentno
 Legend: S = sensitive R = resistant

Udio ESBL sojeva *Klebsiella pneumoniae* iznosio je 25%, što je manje u odnosu na Hrvatsku (47%) dok u Europi varira od 2,4% do 74,8% idući od sjevera Europe prema jugu i jugoistoku.¹⁴ Nismo izolirali niti jedan soj rezistentan na karbapeneme. Rezistencija invazivnih sojeva *Klebsiella pneumoniae* na karbapeneme u Hrvatskoj iznosi 3%,¹³ dok se u Europi kreće od 0% u sjevernoj, do 62,3% u Grčkoj, kao zemlji s najvećim udjelom karbapenem rezistentnih sojeva.

Zaključak

Vrlo niska prevalencija (3,5%) mikroorganizama izoliranih iz krvi ukazuje na nekritično uzimanje hemokultura iako su indikacije dobro poznate (sumnja na sepsu, akutni i subakutni endokarditis, nejasno febrilno stanje). Najveći broj izolata su KNS (57%), koji se normalno nalaze na koži, te je stoga prije vađenja krvi za hemokulturu potrebno dobro dezinficirati kožu i pažljivo izvaditi krv, kako ne bi došlo do kontaminaze bakterijama s kože. Nakon KNS, najčešći izolat je *E. coli* (13%). Nismo izolirali ESBL sojeve *E. coli*, niti sojeve rezistentne na karbapeneme. U empirijskoj terapiji, kod sumnje na gram-negativnu sepsu preporučujemo cefalosporine druge i treće generacije, te ko-amoksiklav. Kod sumnje na ESBL sojeve preporučujemo karbapeneme. Kod sumnje na gram pozitivnu sepsu preporučujemo ciprofloksacin + gentamicin ili ko-amoksiklav + gentamicin, a kod sumnje na methicillin rezistentne *Staphylococcus aureus* (MRSA) sojeve, vankomicin.

Literatura

1. Baršić B, Krajinović V. Sepsa-patogeneza, klinička slika i liječenje. Medix. 2005;11:39-42.
2. Wong PH, von Krosigk M, Roscoe DL, Lau TT, Yousefi M, Bowie WR. Antimicrobial co-resistance patterns of gram-negative bacilli isolated from blood-stream infections: a longitudinal epidemiological study from 2002-2011. BMC Infect Dis. 2014;14:393.
3. Tariq TM. Bacteriologic profile and antibiogram of blood culture isolates from a children's hospital in Kabul. J Coll Physicians Surg Pak. 2014;24:396-399.
4. Shabbir S, Jamil S, Hafiz S. Pattern of polymicrobial isolates and antimicrobial susceptibility from blood. J Coll Physicians Surg Pak. 2016;26:585-8.
5. Bochud PY, Glauser MP, Calandra T; International Sepsis Forum. Antibiotics in sepsis. Intensive Care Med 2001;27: Suppl 1:S33-48.
6. Seboxa T, Amogne W, Abebe W, et al. High mortality from blood stream infection in Adis Ababa, Ethiopia, Is due to antimicrobial resistance? Dostupno na adresi: <http://www.journals.plos.org>. Datum pristupa informaciji 28. ožujka 2017.

7. Shah PG, Shah SR. Treatment and outcome of carbapenem-resistant gram-negative bacilli. Blood-stream infections in a tertiary care hospital. *J Assoc Physicians India*. 2015;63:14-8.
8. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016. <http://www.eucast.org>.
9. Coburn B, Morris AM, Tomlinson G, Detsky AS. Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures? *JAMA*. 2012;308:502-11.
10. Cham G, Yan S, Heng BH, Seow E. Predicting positive blood cultures in patients presenting with pneumonia at an emergency department in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 2009;38:508-7.
11. Maina D, Omuse G, Revathi G, Adam RD. Spectrum of microbial diseases and resistance patterns at a private teaching hospital in Kenya: implications for clinical practice. Dostupno na adresi: <http://www.journals.plos.org>. Datum pristupa informaciji 27. ožujka 2017.
12. Singh S, Dhawan B, Kapil A et al. Coagulase-negative staphylococci causing blood stream infection at an Indian tertiary hospital: Prevalence, antimicrobial resistance and molecular characterisation. *Indian J Med Microbial*. 2016; 34:500-505.
13. Tambić Andrašević A, Tambić T, Katalinić-Janković V i sur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2015. g., Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, Zagreb 2016.
14. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, November 2015.