

Częstość zakażeń i kolonizacji *Klebsiella pneumoniae* izolowanych od chorych leczonych na oddziale anestezjologii i intensywnej terapii

The prevalence of infections and colonisation with *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in ICU patients

Alicja Sękowska¹, Eugenia Gospodarek¹, Krzysztof Kusza²

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Abstract

Background: *Klebsiella* spp. are among the bacteria most commonly isolated from patients with infections in ICUs. The source of these infections may be the microflora of the patient or the hospital environment. Increasingly, *Klebsiella* strains are also being isolated from epidemic outbreaks. This situation is largely the result of widespread, irrational antibiotic use, the virulence of the bacterial strains and their ability to survive in the hospital environment. The purpose of this dissertation was to estimate the prevalence of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients hospitalised in a single ICU.

Methods: Seventy-eight isolates of *K. pneumoniae* were studied. The identification and the susceptibility to selected antibiotics were tested by an automated system, VITEK2 Compact. For the analysed strains, the production of different beta-lactamases was noted.

Results: Production of ESBL was detected in 64.1% of the *K. pneumoniae* strains isolated from infections and 74.4% from rectal swabs. Most of the strains were susceptible to imipenem (97.7%) and meropenem (96.1%). Sixty-nine (57.0%) of the analysed strains were identified as multidrug resistant.

Conclusion: Most of the analysed *Klebsiella pneumoniae* strains produced ESBL-beta-lactamases. The frequency of colonisation and infection with multidrug resistant strains of *K. pneumoniae* in patients hospitalised in the ICU is very high.

Key words: infection, colonization; *Klebsiella*, ICU

Słowa kluczowe: zakażenie, kolonizacja; *Klebsiella*, OAIIT

Anestezjologia Intensywna Terapia 2014, tom XLVI, nr 4, 295–298

Należy cytować anglojęzyczną wersję artykułu z:

Sękowska A, Gospodarek E, Kusza K: The prevalence of infections and colonisation with *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in ICU patients. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2014; 46: 280–283

Problem zakażeń u pacjentów leczonych na oddziale anestezjologii i intensywnej terapii (OAIIT) jest przedmiotem zainteresowań nie tylko klinicystów, ale także mikrobiologów i epidemiologów. Badania dotyczą analizy mikrobiologicznej, uwzględniającej gatunki drobnoustrojów, fenotypy lekowrażliwości oraz ocenę pokrewieństwa genetycznego szczepów, a także obrazu klinicznego i stosowanej antybiotykoterapii. Każdy OAIIT charakteryzuje się szczególnym dla niego profilem drobnoustrojów wywołujących zakażenia u chorych. Jednym z ważniejszych problemów u pacjentów leczonych na OAIIT są zakażenia *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) wytwarzającymi różne rodzaje beta-laktamaz [1–4]. Są to w większości szczepy wielolekooporne (MDR, *multidrug resistant*), a w leczeniu zakażeń z ich udziałem opcje terapeutyczne są bardzo ograniczone. Pałeczki *K. pneumoniae* należą do trzech najczęstszych gatunków pałeczek Gram-ujemnych odpowiedzialnych za zakażenia u pacjentów leczonych na OAIIT [5, 6].

Mikroflora fizjologiczna chorego od czasu przyjęcia do szpitala jest zastępowana mikroflorą szpitalną, która może być przyczyną zakażenia. Istotny wpływ na kolonizację i rozwój zakażenia szczepami MDR ma długi czas leczenia w szpitalu (szczególnie na OAIIT) oraz antybiotykoterapia o szerokim zakresie. Stąd, celem niniejszej pracy była ocena częstości kolonizacji i zakażeń pałeczkami *K. pneumoniae* u chorych leczonych na OAIIT.

METODYKA

Badaniem objęto szczepy *K. pneumoniae* izolowane od chorych leczonych w Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii w okresie od stycznia 2010 roku do grudnia 2012 roku. Każdy szczep pochodził od innego chorego. Chorzy byli w wieku 29–94 lat. Szczepy izolowano z popłuczyn pęcherzykowo-oskrzelowych (BAL, *bronchoalveolar lavage*) — 38 (48,7%), moczu — 15 (19,2%), wymazów z ran — 10 (12,8%), krwi — 8 (10,2%), cewnika naczyniowego i płynu z jamy otrzewnej — po dwa szczepy oraz po jednym szczepie z płynu z jamy opłucnej, płynu z jamy brzusznej i płwociny. Od 46 chorych pobrano także wymaz z odbytu w celu oceny kolonizacji przewodu pokarmowego szczepem *K. pneumoniae*. Dla szczepów izolowanych z innych próbek niż wymaz z odbytu oznaczono wrażliwość na wybrane antybiotyki: amoksycylinę z kwasem klawulanowym, piperacylinę z tazobaktamem, ceftazydym, cefepim, imipenem, meropenem, amikacynę, tobramycynę i ciprofloksacynę przy użyciu kart AST-N259 w automatycznym systemie VITEK2 Compact (bioMérieux). Identyfikację do gatunku przeprowadzono stosując karty GN w ww. systemie. Identyfikację gatunkową i ocenę lekowrażliwości przeprowadzono zgodnie z zaleceniami producenta. Dla każdego badanego szczepu oznaczono zdolność do wytwarzania beta-laktamaz o szerokim zakresie działania (ESBL, *extended*

spectrum beta-lactamases). Dla szczepów *K. pneumoniae* o zmniejszonej wrażliwości lub opornych na przynajmniej jeden karbapenem dokonano oceny wytwarzania metallo-beta-laktamaz (MBL, *metallo-beta-lactamase*) oraz karbapenemaz typu KPC (KPC, *carbapenemase*) według wytycznych Europejskiego Komitetu ds. Oznaczenia Lekowrażliwości (EUCAST, *European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing*) [7] i Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów [8].

WYNIKI

Badaniem objęto 578 chorych: w 2010 roku – 206 (35,6%), w 2011 roku 180 (31,2%), a w 2012 roku 192 (33,2%). Od 78 (13,5%) chorych izolowano szczepy *K. pneumoniae* z różnych próbek materiału: w 2010 roku – 19 (24,3%) szczepów, w 2011 roku – 23 (29,5%) szczepy, w 2012 roku – 36 (46,2%) szczepów. Spośród 78 badanych szczepów *K. pneumoniae* 50 (64,1%) szczepów wytwarzało enzymy typu ESBL: w 2010 roku – 10 (20,0%) szczepów, w 2011 roku – 12 (24,0%) szczepów, w 2012 roku – 28 (56,0%) szczepów.

Z 43 (93,5%) próbek z wymazu z odbytu wyhodowano szczepy *K. pneumoniae*, spośród których 32 (74,4%) wytwarzały enzymy typu ESBL. Wśród 43 (55,1%) chorych, od których z wymazu z odbytu i z innej próbki materiału klinicznego hodowano szczepy *K. pneumoniae*, w 31 (67,4%) przypadkach izolowano szczepy o fenotypie ESBL-dodatnim i w 8 (17,4%) przypadkach szczepy o fenotypie ESBL-ujemnym. Spośród szczepów o różnym fenotypie od trzech chorych izolowano szczepy ESBL-dodatnie z moczu i krwi i ESBL-ujemne z wymazu z odbytu oraz od jednego chorego – szczep ESBL-ujemny z wymazu z rany i ESBL-dodatni z wymazu z odbytu.

Antybiotyki w czasie pobierania próbek do badania mikrobiologicznego otrzymywało 82 (94,3%) pacjentów. Dwudziestu dziewięciu (37,2%) chorych otrzymywało trzy lub więcej leków przeciwdrobnoustrojowych. Najczęściej chorym podawano: imipenem (24 — 30,8% chorych), wankomycynę (22 — 28,2% chorych) i kolistynę (14 — 17,9% chorych). Trzydziestu sześciu (46,1%) pacjentów otrzymywało karbapenemy lub cefalosporyny III/IV generacji — leki istotne w selekcji szczepów ESBL-dodatnich. Wszystkie badane szczepy *K. pneumoniae* oceniano także pod względem obecności beta-laktamaz innych niż ESBL. Wśród 82 (67,8%) szczepów ESBL-dodatnich cztery wytwarzały równocześnie beta-laktamazy typu AmpC (szczepy izolowano z BAL, krwi, wymazu z rany i z wymazu z odbytu), a dwa (izolowane z BAL i z krwi) — MBL. U żadnego z badanych szczepów nie wykryto zdolności do wytwarzania karbapenemaz typu KPC.

Wśród szczepów *K. pneumoniae* wytwarzających różne mechanizmy oporności 69 (57,0%) określono jako MDR, 29 szczepów izolowano z wymazu z odbytu.

Spośród badanych szczepów *K. pneumoniae* najwięcej było wrażliwych na karbapenemy: 76 (97,4%) szczepów na

imipenem i 75 (96,1%) na meropenem. Wobec pozostałych antybiotyków odsetki szczepów wrażliwych przedstawiały się następująco: 27 (34,6%) wrażliwych na cefepim; 26 (33,3%) na amikacynę; 24 (30,8%) na tobramycynę; 23 (29,4%) na ceftazidim; 20 (25,6%) na ciprofloksacynę oraz 16 (20,5%) na piperacylinę z tazobaktamem. Nie wykryto żadnego szczepu, który byłby wrażliwy na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, a 31 (39,8%) szczepów określono jako średniowrażliwe. W okresie prowadzonych badań zmieniły się wytyczne dotyczące kryteriów lekowrażliwości dla amoksycyliny z kwasem klawulanowym. Lek ten otrzymywało 4 chorych.

Pośród badanych szczepów *K. pneumoniae* izolowanych z BAL i krwi dwa były wrażliwe tylko na jeden z ocenianych antybiotyków, a kolejne dwa izolowane z moczu były odporne na wszystkie antybiotyki zastosowane w ocenie.

DYSKUSJA

Według niektórych autorów pałeczki *K. pneumoniae* są drugim, po *Escherichia coli*, gatunkiem pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* odpowiedzialnym za zakażenia u chorych leczonych na OAIIT [5, 6, 9]. Główne postaci zakażeń tymi bakteriami to: zakażenia krwi, układu moczowego, odrespiratorowe zapalenie płuc, zakażenia miejsca operowanego [10].

Jednym z najczęstszych mechanizmów oporności na antybiotyki u pałeczek *Klebsiella* spp. jest wytwarzanie beta-laktamaz typu ESBL. Mimo że pierwszy szczep o takim fenotypie opisano w 1983 roku [11], stanowią one nadal istotne problemy diagnostyczny, kliniczny i epidemiologiczny. Fakt ten jest związany z powstawaniem nowych wariantów ESBL, często o szerszym zakresie działania, niepodatnych na działanie inhibitorów beta-laktamaz. Początkowo szczepy o takim fenotypie były odporne na penicyliny oraz cefalosporyny niższych generacji. W toku ewolucji beta-laktamaz szczepy posiadające zdolność ich wytwarzania okazują się coraz częściej odporne na wszystkie antybiotyki beta-laktamowe, z wyjątkiem karbapenemów. Wpływ na taką sytuację ma również nakładanie się różnych mechanizmów oporności.

Leczenie zakażeń wywołanych przez pałeczki wytwarzające ten mechanizm oporności na antybiotyki wiąże się z coraz większymi kosztami leczenia. Celowana antybiotykoterapia nie gwarantuje wyleczenia, a zakażenia szpitalne szczepami ESBL-dodatnimi często obciążone są dużą śmiertelnością. Także środowisko szpitalne sprzyja utrzymywaniu się tych bakterii. W badanym okresie siedmiokrotnie izolowano szczepy *K. pneumoniae* ze środowiska trzech klinik (kardiochirurgii, chirurgii naczyniowej i angiologii oraz pediatrii, hematologii i onkologii) w 2010 roku – 5 szczepów i w 2012 roku – dwa szczepy. Szczepy *K. pneumoniae* izolowano także od chorych z powyższych klinik. Trzy spośród 7 szczepów izolowanych ze środowiska wytwarzały beta-lak-

tamazy typu ESBL. Badania Mączyńskiej i wsp. [12] potwierdzają, że epidemiczne klony szczepów *K. pneumoniae* mogą utrzymywać się w środowisku nawet kilkanaście miesięcy.

Duży wpływ na sytuację epidemiologiczną ma częste, z uwagi na stan chorego, stosowanie cefalosporyn III i IV generacji oraz karbapenemów. Dodatkowy problem stanowi wspomniana już różnorodność tych enzymów oraz łatwy sposób ich przekazywania nie tylko w obrębie szczepów jednego gatunku, ale także rodziny czy grup bakterii. Znanymi jest ponad 300 wariantów beta-laktamaz ESBL [13]. Najczęściej izolowane są szczepy gatunków z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzające beta-laktamazy typu ESBL z rodzin: CTX-M, TEM i SHV [14]. Szczepy wytwarzające beta-laktamazy CTX-M dominują w Europie, Kanadzie, Ameryce Południowej i Azji [14–16]. Mimo że mechanizm warunkuje oporność na beta-laktamy, należy pamiętać, że często na tym samym plazmidzie kodującym beta-laktamazy typu ESBL zlokalizowane są geny warunkujące oporność na antybiotyki z innych grup, tj. aminoglikozydy, chinolony, tetracykliny. W takiej sytuacji często wykrywa się szczepy określane jako MDR. Coraz częściej, także w naszym ośrodku, izolowane są szczepy *K. pneumoniae* ze zmniejszoną wrażliwością lub odporne na karbapenemy. Wobec powyższego konieczne jest monitorowanie lekowrażliwości szczepów należących do gatunków szczególnie łatwo nabywających geny oporności. Dodatkowy problem stanowi także eradykacja szczepów *K. pneumoniae* ze względu na miejsce bytowania. Nie bez znaczenia jest również fakt, że pacjenci OIT trafiają po wcześniejszej hospitalizacji na innych oddziałach.

Uzyskane wyniki wskazują, że częstość kolonizacji przewodu pokarmowego szczepami *K. pneumoniae* u chorych leczonych na OIT jest duża. Ponad 93% spośród badanych chorych miało skolonizowany przewód pokarmowy szczepami *K. pneumoniae*. W przeprowadzonych badaniach u ponad 70% szczepów izolowanych równocześnie z miejsca zakażenia i z wymazu z odbytu od tego samego chorego szczepy posiadały ten sam fenotyp lekowrażliwości. Wcześniejsze badania [17] potwierdzają, że szczepy izolowane z przewodu pokarmowego i z miejsca zakażenia od jednego pacjenta o takim samym fenotypie lekowrażliwości są identyczne lub blisko spokrewnione genetycznie.

Kolonizacja przewodu pokarmowego szczepem *K. pneumoniae* ESBL-dodatnim stanowi istotny czynnik ryzyka zakażeń szczepami o takim fenotypie z uwagi na łatwość przekazywania genów kodujących ten fenotyp, utrzymywaniu się tych szczepów w środowisku szpitalnym, a więc trudności w ich eradykacji.

WNIOSKI

- Większość szczepów *K. pneumoniae* izolowanych od chorych leczonych na OAIIT wytwarza beta-laktamazy typu ESBL.

2. Częstość zakażeń i kolonizacji wielolekoopornymi szczepami *K. pneumoniae* u chorych leczonych na OAIIT jest duża, dlatego wskazane jest monitorowanie tego zjawiska.

Piśmiennictwo:

1. *Brusselsaers N, Vogelaers D, Blot S*: The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit. *Ann Intensive Care* 2011; 1: 47.
2. *van der Donk CFM, Beisser PS, Hoogkamp-Korstanje JAA, Bruggeman CA, Stobberingh EE and on behalf of the Antibiotic Resistance Surveillance Group*: A 12 year (1998–2009) antibiotic resistance surveillance of *Klebsiella pneumoniae* collected from intensive care and urology patients in 14 Dutch hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 855–858.
3. *Pitout JD*: Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs* 2010; 70: 313–333.
4. *Zhanel GG, DeCorby M, Laing N et al.*: Antimicrobial resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) Study, 2005–2006. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 1430–1437.
5. *Lockhart SR, Abramson MA, Beekmann SE et al.*: Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the United States between 1993 and 2004. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3352–3359.
6. *Rotimi VO, Al-Sweih NA, Feteih J*: The prevalence and antibiotic susceptibility pattern of Gram-negative bacterial isolates in two ICUs in Saudi Arabia and Kuwait. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30: 53–59.
7. Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości. Rekomendacje EUCAST. <http://www.korid.edu.pl/pdf/eucast>
8. Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów. <http://www.korid.edu.pl>
9. *Wójkowska-Mach J, Chmielarczyk A, Borszewska-Kornacka M et al.*: Enterobacteriaceae infections of very low birth weight infants in Polish neonatal intensive care units: resistance and cross-transmission. *Pediatr Infect Dis J* 2013; 32: 594–598.
10. *Rutkowska K, Przybyła M, Misiołek H*: Healthcare-associated infections in a newly opened intensive care unit. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2013; 45: 62–66.
11. *Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S*: Transferable resistance of cefotaxime, ceftazidime, cefamandole and cefturoxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11: 315–317.
12. *Mączyńska B, Neumann K, Junka A et al.*: Analiza cech warunkujących selekcję i przeżywalność w środowisku szpitalnym u szczepów *Klebsiella* izolowanych z ognisk epidemicznych. *Forum Zakażeń* 2013; 4: 77–97.
13. *Sharma M, Pathak S, Srivastava P*: Prevalence and antibiogram of extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing Gram negative bacilli and further molecular characterization of ESBL producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Diagn Res* 2013, 7: 2173–2177.
14. *Qureshi ZA, Paterson DL, Peleg AY et al.*: Clinical Characteristics of Bacteremia Due to Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae in the Era of CTX-M and KPC-type β -Lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 887–893.
15. *Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C*: The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (Suppl 1): 33–41.
16. *Parveen RM, Manivannan S, Harish BN, Parija SC*: Study of CTX-M type of extended spectrum β -lactamase among nosocomial isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in South India. *Indian J Microbiol* 2012; 52: 35–40.
17. *Sękowska A, Gospodarek E, Kamińska D*: Antimicrobial susceptibility and genetic similarity of ESBL-positive *Klebsiella pneumoniae* strains. *Arch Med Sci* 2012, 8: 993–997.

Adres do korespondencji:

dr n. med. Alicja Sękowska
Katedra i Zakład Mikrobiologii CM UMK
ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85–094 Bydgoszcz
e-mail: asekowska@cm.umk.pl

Otrzymano: 14.03.2014 r.

Zaakceptowano: 30.05.2014 r.