

CZU 619:579.8

ASPECTE MICROBIOLOGICE PRIVIND REZISTENȚA UNOR TULPINI BACTERIENE UROPATOGENE ÎN CAZUL SINDROMULUI UROLOGIC CANIN

Rita GOLBAN*Universitatea Agrară de Stat din Moldova*

Abstract. The researches reflected in this study has the purpose to study the resistance behavior of bacterial uropathogenic strains towards antibiotic substances in canine urologic syndrome and interpreting the microbiological aspects that define them. AntibioGrams were performed by diffusimetric method for evaluating the sensibility/resistance of microbial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis*), isolated from urine samples collected from canines infected with cystitis. The resistance to the following classes of antibiotics were tested: penicillins, cephalosporins, fluoroquinolones, tetracyclines and aminoglycosides.

Key words: Bacterial strains; AntibioGram; Urological syndrome; Antimicrobial resistance

Rezumat. Cercetările reflectate în acest studiu au avut ca scop studierea rezistenței unor tulpini bacteriene uropatogene față de substanțele antibiotice în cazul sindromului urologic canin și interpretarea aspectelor microbiologice care definesc comportamentul respectiv. Pentru evaluarea sensibilității/rezistenței la antibiotice a tulpinilor microbiene (*Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* și *Enterococcus faecalis*), izolate din mostrele de urină prelevate de la caninele infectate de cistită, au fost realizate antibiograme prin metoda difuzimetrică. S-a testat rezistența la următoarele clase de antibiotice: peniciline, cefalosporine, fluorochinolone, tetracicline și aminoglicozide.

Cuvinte-cheie: Tulpini bacteriene; Antibiogramă; Sindrom urologic; Rezistență antimicrobiană.

INTRODUCERE

Infecțiile tractului urinar (ITU) sunt cele mai comune infecții bacteriene întâlnite în medicina clinică medicală și veterinară. Microorganismele *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* etc. sunt agenții microbieni patogeni cel mai frecvent izolați în aceste infecții. Studiul de monitorizare a tendinței de rezistență la antimicrobiene (SMART) este un program de supraveghere la nivel mondial a rezistenței la antibiotice, fiind în curs de desfășurare și urmărind susceptibilitatea bacteriilor Gram negative și Gram pozitive din infecții intraabdominale începând cu anul 2002 (Bronzwaer, S., Lonroth, A., Haigh, R. 2004; Golban, R. 2015; Josan, N. 2002).

În ultimii ani au fost publicate rezultatele finale ale studiului privind rezistența microbiană la antibiotice în cazul infecțiilor urinare la diverse specii de animale. Din punct de vedere epidemiologic, rezistența bacteriilor la antibiotice variază de la o regiune geografică la alta, de la o specialitate la altă specialitate, de la un tip de infecție la altul, de la un an la altul. Iată de ce am considerat că studierea rezistenței unor bacterii este o problemă de cercetat importantă și de actualitate (Carp-Carare, C. 2014; Guguianu, E. 2002).

S-a constatat că cele mai frecvente afecțiuni dintre cele generate de *E. Coli* și celelalte microorganisme studiate sunt pielonefritele, cistitele și uretritele. Sindromul urologic canin este o inflamație a peretelui vezicii urinare. În marea majoritate a cazurilor, această inflamație este cauzată de o infecție bacteriană, dar poate fi provocată și de prezența pietrelor urinare, traumatisme ale vezicii urinare, inflamații cronice etc. Maladia se manifestă prin unul sau mai multe dintre următoarele simptome: dificultate la urinare (disurie), prezența sângelui în urină (hematuria), semne de durere la urinare (strangurie); o creștere a frecvenței urinării (pollakiuria), incontinență urinară. Foarte des există un motiv sau un factor care favorizează apariția sindromului la câini și pe care medicul veterinar va încerca să îl afle dacă se repetă. Sunt cunoscute mecanismele fiziologice care apără organismul împotriva infecțiilor tractului urinar, dar atunci când acestea sunt afectate de o patologie, anomalie sau traumă, ele nu mai pot exercita funcția de apărare și infecțiile tractului urinar evoluează. Astfel, studiul aspectelor microbiologice în cazul acestor afecțiuni se impune în planul cercetării rezistenței la antibiotice în infecțiile urinare, motivată și de indicația dată de Jansen W.T.M. și colab. în 2006, care arată că o astfel de cercetare este necesară pentru a determina nivelul de rezistență și tendința acestei manifestări într-o arie geografică (Golban, R. 2015; Rapuntean, Gh., Rapuntean, S. 2005).

Rezistența microbiană la antibiotice constituie o problemă complexă la nivel mondial, care necesită intervenții în timp util, având în vedere impactul potențial enorm asupra sănătății animale și umane. Organizațiile naționale și internaționale în domeniu (OMS, UE, CDC, ECDC, IDSA) au dezvoltat strategii care recomandă prudență în utilizarea antibioticelor la om și animal, de asemenea subliniază importanța măsurilor de igienă în îngrijirea sănătății. Recent, Comisia Europeană a înaintat Strategia de combatere a rezistenței microbiene, axată pe 4 componente-cheie: supraveghere, prevenire, cercetare și dezvoltarea de produse antibiotice și vaccinuri. UE contează mult pe cooperarea internațională, în special cu OMS, prin care să promoveze utilizarea rațională a antibioticelor. Un alt pas important către o abordare unitară împotriva rezistenței microbiene este întemeierea în 2005 a ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), care are competențe și în domeniul rezistenței microbiene (Jacobsen, S., Stickler, D., Mobley, H. 2008; Perianu, T. 2011).

Multe studii științifice au demonstrat că, până în anul 2050, în lipsa unor acțiuni concrete, rezistența antimicrobiană va genera anual, la nivel global, un număr de 10 milioane de decese premature. Lucrarea de față are drept scop studierea rezistenței la antibiotice a unor tulpini bacteriene uropatogene în cazul sindromului urologic canin și interpretarea aspectelor microbiologice care o definesc.

MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetările științifice s-au efectuat în laboratorul de microbiologie al Facultății de Medicină Veterinară a Universității Agrare de Stat din Moldova.

Au fost testate comportamentele a 3 tulpini microbiene identificate din mostrele de urină prelevate de la caninele infectate de cistită față de diferite substanțe antibiotice. Pentru a studia rezistența față de substanțele antibiotice au fost efectuate investigații privind determinarea sensibilității tulpinilor microorganismelor, metoda folosită fiind cea difuzimetrică.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Drept obiect de studiu au servit următoarele tulpini microbiene uropatogene identificate din prelevatele urologice: *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*. Determinarea rezistenței tulpinilor microbiene la antibiotice prin metoda rondelilor a urmărit efectuarea însămânțării pe plăcile cu geloză a culturilor microbiene din medii lichide (bulion-1,0ml).

Tabelul 1. *Antibiograma tulpinii microbiene uropatogene Escherichia coli*

Substanțele antibiotice	Gradul de sensibilitate (mm)
Amoxicilina AMX	S - 20
	I - 0
	R - 0
Ampicilina AM	S - 20
	I - 0
	R - 0
Ampicilina Sulfactam	S - 21
	I - 0
	R - 0
Cefaclor CEC	S - 25
	I - 0
	R - 0
Cefoperazon CFP	S - 28
	I - 0
	R - 0
Ceftazidim	S - 27
	I - 0
	R - 0
Doxaciclină	S - 22
	I - 0
	R - 0

În acest scop, pe suprafața mediului lichid s-au aplicat 6 rondelile îmbibate cu diverse substanțe antibiotice. Plăcile au fost incubate în termostat timp de 16-17 ore la temperatura de 37 °C.

După expirarea timpului, pe plăcile examinate au fost măsurate zonele inhibiției microorganismelor din jurul rondelilor.

Dimensiunile zonelor au fost determinate de gradul de sensibilitate a tulpinilor la antibioticul corespunzător: intermediar (I); rezistent (R); sensibil (S). Evaluarea chimiorezistenței germeilor capătă o semnificație mai largă decât o simplă analiză pentru alegerea unui tratament și de aceea necesită abordări mai ample privind tehnica de executare și de interpretare a rezultatelor din mai multe puncte de vedere.

Conform rezultatelor antibiogramelor prezentate în tabelul 2, cea mai eficace substanță antibiotică în cazul tulpinii microbiene *Escherichia coli* s-a dovedit a fi cefoperazon, cu 28 mm, după care a urmat ceftazidim, cu 27 mm, și cefaclor, cu 25 mm.

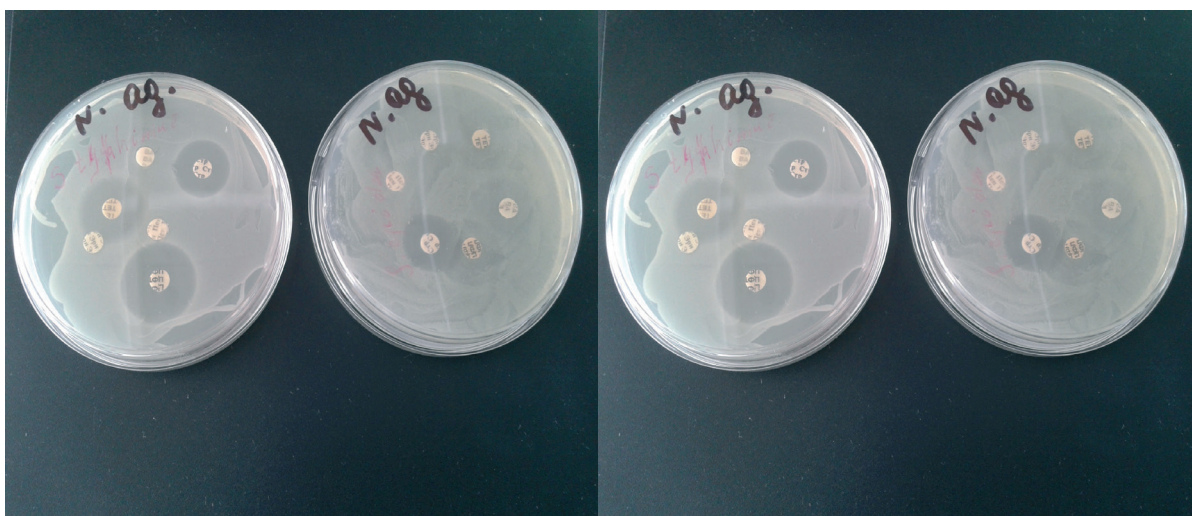


Figura 1. Sensibilitatea *Escherichia coli* la substanțele antibiotice

Conform studiilor bibliografice, *E. coli* uropatogenă (UPEC) este responsabilă de circa 90% din infecțiile tractului urinar. Clonele de *E. coli* uropatogenă provin din flora persistentă fecală care colonează introitusul vaginal și, ulterior, infectează tractul urinar. *E. coli* uropatogenă folosește fimbria P (pili în pielonefrită) pentru a se lega de celulele epiteliale ale tractului urinar și vezicii urinare, pe care le colonează. Genomul ExPEC este, în general, mai larg decât al *E. coli* K12 sau comensală, probabil prin conținutul mai mare de gene necesare supraviețuirii în afara tractului intestinal. În rândul tulpinilor UPEC există diferențe considerabile în ceea ce privește repertoriul și nivelul de expresie al factorilor de virulență care pot afecta creșterea bacteriană și persistența în tractul urinar.

Aceste interpretări indică asupra mecanismelor rezistenței *E. coli* uropatogene la antibiotice și se traduce prin capacitatea acestui microorganism de a supraviețui în prezența antibioticelor sau chimioterapicelor antibacteriene.

Conform cercetărilor, rezistența bacteriană se poate manifesta genetic, genotipic sau fenotipic. Rezistența genetică cromozomială apare ca urmare a unor mutații în secvența nucleotidelor cromozomului bacterian, care determină sinteza de proteine sau alte macromolecule, diferite de structurile chimice inițiale, astfel încât acțiunea antibioticului nu se mai poate realiza, aceasta reprezentând 10% din rezistența bacteriană dobândită.

Cu certitudine, aceste aspecte reprezintă totodată rezistența la antibiotice care poate fi obținută prin transferul orizontal al genei de rezistență, prin transformare sau prin vectori. Transferul orizontal al genei joacă un rol important în evoluția bacteriei.

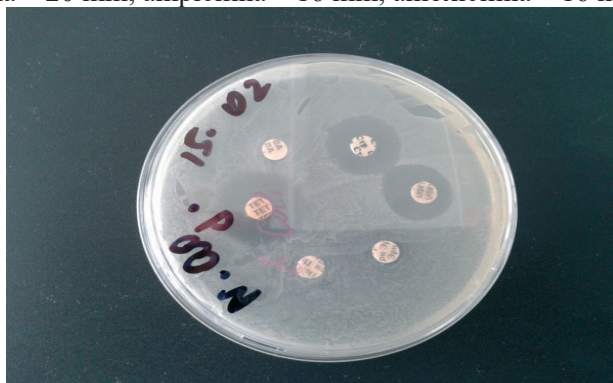
Cele mai importante transportoare pentru transferul genelor rezistenței de la o bacterie la alta sunt plasmidele, transpozonii și integronii. Genele care conferă rezistență sunt transferate de la o bacterie la alta într-o manieră orizontală prin conjugare, transducție sau transformare.

Tabelul 2. *Antibiograma tulpinii microbiene uropatogene Staphylococcus epidermidis*

Substanțele antibiotice	Gradul de sensibilitate (mm)
Amoxicilina AMX	S - 0 I - 0 R - 16
Ampicilina AM	S - 0 I - 0 R - 16
Cefoperazon CFP	S - 22 I - 0 R - 0
Cefazolină	S - 26 I - 0 R - 0
Moxifloxacină	S - 0 I - 0 R - 20
Oxacilină	S - 0 I - 0 R - 10
Tetracilină	S - 20 I - 0 R - 0

Aspecte științifice importante sunt confirmate prin rezultatele antibiogramei tulpinii microbiene uropatogene *Staphylococcus epidermidis*, redată în tabelul 2. Astfel, cele mai înalte grade de sensibilitate observate în acest caz sunt la cefazolină (26 mm), cefoperazon (22 mm) și tetracilină (20 mm).

Date relevante sunt evidențiate în ceea ce privește unele aspecte ale rezistenței unor substanțe antibiotice față de specia microbiană *Staphylococcus epidermidis* prin remarcarea zonelor substanțelor antibiotice: moxifloxacină – 20 mm, ampicilina – 16 mm, amoxicilina – 16 mm, oxacilina – 10 mm.

**Figura 2.** Sensibilitatea *Staphylococcus epidermidis* la substanțele antibiotice

Confirmăm că, potrivit studiului efectuat, rezistența la unele antibiotice se asociază cu modificările enzimelor care neutralizează aceste substanțe. Tipul respectiv de rezistență este rezultatul expresiei enzimelor care modifică covalent aceste antibiotice prin acetilare cu ajutorul aminoglicozid-acetiltransferazei, fosforilare prin aminoglicozid-fosfotransferaze sau adenilare prin aminoglicozid-adeniltransferaze. Aceste enzime sunt, de obicei, codificate plasmidic, dar pot fi implicate și elemente transpozabile. Diferite fenotipuri bacteriene provenite de la specii variate pot să apară și prin schimbul plasmidic sau diseminarea facilitată de transpozoni.

Tabelul 3. *Antibiograma tulpinii microbiene uropatogene Enterococcus faecalis la substanțele antibiotice*

Substanțele antibiotice	Gradul de sensibilitate (mm)
Amoxicilina AMX	S -20 I - 0 R - 0
Ampicilina AM	S -20 I - 0 R - 0
Doxaciclină	S -23 I - 0 R - 0
Penicilină	S -20 I - 0 R - 0
Tetraciclină	S -24 I - 0 R - 0
Norfloxacină	S -18 I - 0 R - 0
Gentamicină	S -17 I - 0 R - 0

În urma evaluării rezultatelor antibiogramei tulpinii microbiene uropatogene *Enterococcus faecalis* la substanțele antibiotice (tab. 3), cele mai înalte grade de sensibilitate la substanțe antibiotice se prezintă după cum urmează: tetraciclina – 24 mm, doxaciclina – 23 mm, amoxicilina, ampicilina, penicilina – 20 mm.

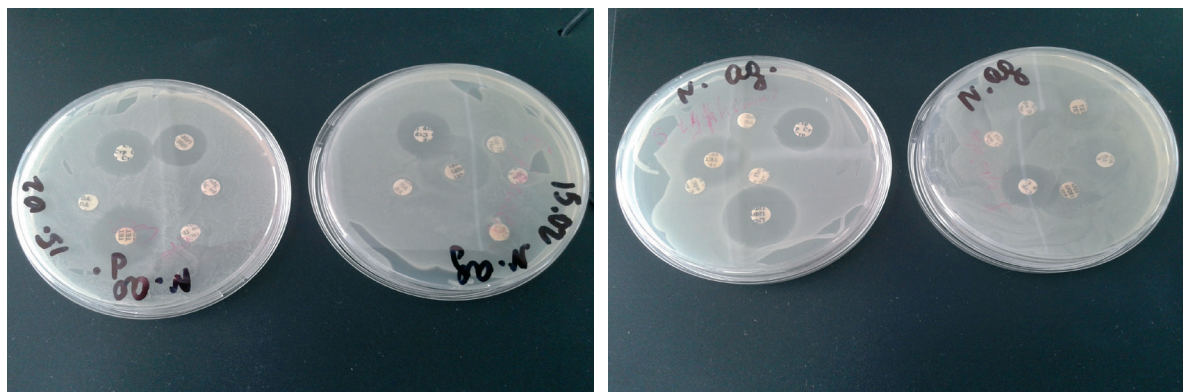


Figura 3. Sensibilitatea *Enterococcus faecalis* la substanțele antibiotice

Conform aspectelor științifice ulterior relatate, inițierea acestor cercetări a condus la interpretarea unor aspecte ale mecanismelor de virulență în infecții cu *Escherichia coli* uropatogenă și cu alte tulpini importante studiate. Astfel, la momentul actual, dintre cele 5 tipuri diferite de fimbrii ce au fost recunoscute, două sunt considerate mai importante și anume fimbriile de tip 1 (sensibile la manoză) și fimbriile P (rezistente la manoză). Prezența fimbriilor determină o infecție simptomatică a tractului urinar, iar absența lor indică bacteriuria asimptomatică.

Putem menționa că supraviețuirea microorganismelor uropatogene și creșterea rezistenței acestora față de reacțiile de apărare imunitară s-au dezvoltat în ultimul timp pe mai multe căi, determinând supraviețuirea și în medii mai puțin favorabile și sărace în nutrienți. Iată de ce toxinele bacteriene deter-

minante de virulență suplimentară, găsite în tulpinile UPEC, sunt molecule importate. Acestea includ hemolizine, citotoxine, proteine care leagă fier (siderofori). Cel puțin trei toxine diferite (Hemolizina, CNF-1 și SAT-1) și cel puțin trei grupe diferite de siderofori au fost recunoscute în *E. coli* uropatogenă.

Remarcăm și faptul că tulpinile bacteriene studiate, care induc bacteriurie asimptomatică, au evoluat populând mai multe luni sau chiar ani tractul urinar fără a provoca simptome evidente clinic. Aceste bacterii seamănă oarecum cu bacteriile comensale, având cu gazda o relație prin care, în unele cazuri, par a proteja tractul urinar de colonizarea prin alte tulpini patogene.

Bacteriologia infecției urinare cu *Escherichia coli* și alte tulpini bacteriene uropatogene reprezintă cele mai importante investigații ale sindromului urologic la animale și om, acesta fiind și cea mai comună infecție după bolile tractului respirator superior.

Deși diferite microorganisme pot determina ITU, inclusiv virusurile sau fungii, bacteriile sunt prevalente și sunt responsabile de 95% din infecțiile tractului urinar. Dintre acestea, *E. coli* este singura care determină circa 80% din cazuri. Infecțiile pot fi asimptomatice sau simptomatice, iar netratarea lor poate provoca sechele importante. S-a estimat că, pe plan mondial, tulpinile UPEC afectează 150 milioane de oameni anual și cauzează 70-80% îmbolnăviri.

Rezistența la antibiotice a tulpinilor cercetate în studiu constituie o problemă importantă în investigarea sindromului urologic canin, care trebuie să fie luată în considerare în tratamentul infecțiilor urologice produse de acestea, fiind și o problemă de securitate a sănătății publice, pentru care trebuie luate angajamente la nivel național și internațional.

CONCLUZII

Studiul efectuat confirmă o rezistență mai înaltă a tulpinii speciei microbiene *Staphylococcus epidermidis* la substanțele antibiotice în comparație cu speciile microbiene *Escherichia coli* și *Enterococcus faecalis*, care nu manifestă rezistență.

Bacteriologia infecției urinare cu *Escherichia coli* și alte tulpini bacteriene uropatogene reprezintă cele mai importante investigații ale sindromului urologic la animale și om, acesta fiind cea mai răspândită infecție după bolile tractului respirator superior.

Recunoașterea precoce a infecției urinare cu microorganisme asigură urmărirea eventuală a bacteriuriei asimptomatice și tratamentul adecvat, în funcție de sensibilitatea la antibiotice, prevenindu-se astfel accelerarea deteriorării funcției renale.

Infecțiile urinare survin pe fondul reducerii funcției de apărare a organismului, contribuind la agravarea patologiilor renale.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. BRONZWAER, S., LONNROTH, A., HAIGH, R. (2004). The European Community strategy against antimicrobial resistance. In: Euro Surveillance, pp. 30-34. ISSN 1560-7917.
2. CARP-CĂRARE, C. (2014). Microbiologie generală. Iași: Ion Ionescu de la Brad. ISBN 978-973-147-153-2. 245 p.
3. GOLBAN, R. (2015a). Microbiologie generală: curs de prelegeri. Chișinău: UASM. Disponibil: uasm.moodle.md
4. GOLBAN, R. (2015b). Microbiologie specială: curs de prelegeri. Chișinău: UASM. Disponibil: uasm.moodle.md
5. GUGUIANU, E. (2002). Bacteriologie generală. Iași: Jenus. 248 p.
6. IVANOV, A., CIUPE, M., SAȘCA, C. et al. (1982). Microbiologie. București: Ed. didactică și pedagogică.
7. JACOBSEN, S., STICKLER, D., MOBLEY, H. (2008). Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. In: Clinical microbiology reviews, vol. 21(1), pp. 26-59. DOI 10.1128/CMR.00019-07.
8. JOSAN, N. (2002). Microbiologie și imunologie. Chișinău: UASM. 512 p. ISBN 9975-62-081-7.
9. PERIANU, T. (2011). Tratat de boli infecțioase ale animalelor. Bacterioze, vol. I. Iași: Universitas XXI. 924 p. ISBN 978-606-538-068-4.
10. RĂPUNTEAN, Gh., RĂPUNTEAN, S. (2005). Bacteriologie veterinară specială. Cluj- Napoca: Academic Pres. 365 p. ISBN 973-7950-95-X.

Data prezentării articolului: 05.02.2019

Data acceptării articolului: 10.04.2019