

Universitatea de Medicină și Farmacie  
"Carol Davila"

Studiu farmacoepidemiologic asupra multirezistentei la  
antibiotice a uropatogenilor și riscul de apariție a  
infecției cu Clostridium Difficile  
- rezumat -

Îndrumător: Prof. Dr. Viorel Jinga

Doctorand: As. Iulia Sandu

București 2020

Cuprins:

Introducere .....	03
Parte Generală	
<b>1. Bacterii uropatogene si rezistenta la antibiotice .....</b>	<b>04</b>
1.1 Noțiuni introductive - epidemiologie	
1.2 Microorganismele implicate în etiologia ITU	
1.2.1 Gram pozitive	
1.2.2 Gram negative	
1.3 Fenotipuri de rezistență naturală	
1.4 Rezistenta la antibiotice	
<b>2. Ingrijirea pacientilor cu infecții ale tractului urinar .....</b>	<b>12</b>
2.1 Caracteristici generale ale infecțiilor de tract urinar (ITU)	
2.2 Clasificarea ITU	
2.3 Factori de risc	
2.4 Diagnostic de nursing	
2.5 Plan de ingrijire	
<b>3. Infecția cu Clostridium Difficile .....</b>	<b>14</b>
3.1. Bacteriologie	
3.2. Epidemiologie	
3.3. Factori de risc	
3.3. Diagnostic și tratament	
Parte Specială - Contribuții personale	
<b>4. Identificarea tulpinilor bacteriene implicate în etiologia ITU la pacienții urologici ...</b>	<b>18</b>
4.1 Materiale și metode	
4.2 Rezultate și discuții	
4.3 Concluzii	
<b>5. Studiu pilot al rezistenței la carbapenemi prin producția de carbapenemaze .....</b>	<b>25</b>
5.1 Materiale și metode	
5.2 Rezultate și discuții	
5.3 Concluzii	
<b>6. Impactul infecției cu Clostridium Difficile în patologia urologică .....</b>	<b>29</b>
6.1 Materiale și metode	
6.2 Rezultate și discuții	
6.3 Concluzii	
<b>Concluzii finale .....</b>	<b>31</b>
Bibliografie	

## INTRODUCERE

Rezistența la antimicrobiene este o amenințare din ce în ce mai mare pentru sănătatea publică, la nivel mondial. Se estimează ca 700.000 de oameni mor în fiecare an, din cauza infecțiilor cu bacterii multirezistente, dintre care 33.000 în Uniunea Europeană. O estimare efectuată cu datele comunicate pentru anul 2015 plasează România pe locul 3 între statele UE privind impactul infecțiilor produse de bacterii rezistente la antibiotic.

Potrivit raportului elaborat de către Centrul European de Control al Bolilor (ECDC) în România, în anul 2017 se remarcă o tendință ușoară de reducere a consumului total de antibiotice în medicina umană (cu 12% față de anul 2015), însă cu păstrarea consumului crescut de antibiotice de rezervă și a celor cu risc sporit de selectare de bacterii rezistente, în special în sectorul spitalicesc.

Rezultatele preliminare ale studiului de prevalență (2017) indică o persistență a prescrierii exagerate de antibiotice (profilaxie perioperatorie cu durată de peste 24 de ore în peste 80% din cazuri, 43% dintre pacienții internați într-o anumită zi primesc antibiotice).

Consumul de antibiotice este principalul determinant al apariției de noi mecanisme de rezistență microbiană, infecțiile nosocomiale reprezentând zona cea mai vizibilă a manifestării rezistenței microbiene la antibiotice, întrucât ele sunt cel mai adesea determinate de germeni cu rezistență la antibiotice de prima linie și tot mai frecvent și la antibiotice de rezervă; îngrijirea pacienților cu infecții nosocomiale presupune utilizarea mai frecventă a unor antibiotice de rezervă; ce amplifică astfel nivelul rezistenței microbiene față de acestea.

În România consumul de antibiotice este excesiv. Acest model de comportament social, cu consum mult exagerat de antibiotice este similar zonei sud-estice europene și, mai general, societăților slab reglementate și cu inegalități mari de venituri (precum cele din subcontinentul indian, Africa de Sud, s.a.). Acest fenomen apare datorită unei lipse de informare și/sau informare eronată a populației privind rolul, beneficiile și riscurile administrării de antibiotice (viziunea "antibiotic = panaceu"). Accesibilitatea nepermis de facilă la antibiotice, prin nerespectarea reglementărilor privind eliberarea lor doar pe bază de prescripție

În România utilizarea antibioticelor se face în mod eronat pe scară largă. Au putut fi identificate câteva trăsături ale utilizării eronate a antibioticelor cu utilizarea preferențială a categoriilor de antibiotice cu spectru larg în detrimentul celor cu spectru îngust (cefalosporine 2-4 vs 1; macrolide cu spectru mai larg vs eritromicină; peniciline legate cu inhibitori de beta-lactamază vs peniciline sensibile la beta-lactamaze). S-a observat de asemenea utilizarea excesivă a unor categorii de antibiotice (de ex chinolone, aminoglicozide) și neglijarea aproape completă a altora (cicliline, cotrimoxazol, fosfomicină, nitrofurantoin).

Consumul exagerat și eronat de antibiotice se reflectă într-un nivel extrem de ridicat al rezistenței bacteriene. Un alt efect advers al abuzului de antibiotice în România este creșterea incidenței infecției determinate de *Clostridium difficile*.

Rezistența la antibiotice este capacitatea naturală sau dobândită a unui microorganism de a rezista la acțiunea unuia sau mai multor antibiotice și putem vorbi de o rezistență naturală - capacitatea intrinsecă a unor bacterii de a rezista la anumite antibiotice sau de o rezistență dobândită - aparută prin selecție naturală sau prin mutații (factori de mediu mutageni - antibiotice - sau erori în procesul de replicare a ADN)

Lucrarea de față își propune să evalueze tulpinile uropatogene izolate în cadrul Clinicii de Urologie a Spitalului Th Burghele, din punct de vedere al gradului de rezistență la antibiotice și a potențialului de patogenitate și virulență. S-a studiat și apariția infecției *Clostridium Difficile* la pacienții tratați.

# Cap. 1. Bacterii uropatogene și rezistența la antibiotice

## 1.1 Noțiuni introductive – epidemiologie

Infecțiile tractului urinar (ITU) sunt o sursă comună de infecții în populația generală, reprezentând o cauză importantă de morbiditate și mortalitate la pacienți fără alte patologii asociate [1]. Acestea reprezintă cea mai comună cauză de infecții în populația feminină și a doua cea mai comună cauză infecțioasă de prezentare la medic, după infecțiile tractului respirator [2].

ITU reprezintă o cauză mai comună de infecție la femei, comparativ cu populația generală, considerându-se că jumătate dintre femei vor suferi un episod de cistită acută de-a lungul vieții, în unul din trei cazuri până la vârsta de 24 de ani [6]. Prevalența în rândul femeilor peste 65 de ani este de aproximativ 20%, în contrast cu 11% în populația generală [7]; 10% din femeile aflate la menopauză susțin că au suferit un episod de ITU în ultimul an [8]. Prevalența ITU în rândul femeilor crește cu vârsta, cu excepția intervalului 18-39 de ani când se înregistrează un vârf al incidenței, datorat activității sexuale crescute [9]. Recurența ITU este de asemenea un diagnostic comun în rândul femeilor tinere; 27% din femeile active sexual care prezintă un episod de ITU vor suferi o recurență a acestei afecțiuni în următoarele 6 luni, iar 2,7% dintre acestea vor suferi un alt episod în alte următoare 6 luni [8].

### 1.2.1 Bacterii gram pozitive

#### A. Staphylococcus – etimologie și scurt istoric

Denumirea de „Staphylococcus” este atribuită unui gen de bacterii din ordinul Bacillales, clasa Bacilli, încrengătura Firmicutes, domeniul Bacteria. Această denumire provine din traducerea în limba latină a doi termeni din limba greacă. Astfel, prin combinarea prefixului „staphilos”, însemnând „ciorchine de strugure” și „coccus”, însemnând granulă, s-a obținut titulatura acestui gen bacterian. Numele a fost dat în 1882 de către Alexander Ogston, profesor de bacteriologie al Universității din Aberdeen, păstrând tiparul stabilit cu cinci ani înainte, atunci când *Streptococcus* și-a căpătat numele. Acest gen cuprinde 40 de specii și alte 25 de subspecii. Morfotinctorial, este un coc Gram pozitiv care are tendința de a se grupa. Structura peretelui celular este una tipică, prin prezența de peptoglicani și acid teichoic.

#### Modul de acțiune al betalactaminelor asupra stafilococilor

Betalactaminele sunt antibiotice bactericide, cu acțiune dependentă de timp, ce acționează în faza de creștere bacteriană. Acestea afectează metabolismul peptidoglicanilor, care sunt constituenții principali ai peretelui celular al stafilococilor, în special în faza finală a transpeptidării. Inhibă enzimele PBP (*penicilin binding proteins* – proteinele de legare a penicilinei) care sunt implicate în sinteza și modificarea peptidoglicanilor. *S. aureus*, de exemplu, are 4 enzime PBP: 3 cu greutate moleculară mare (PBP1, PBP2, PBP3) și una cu greutate moleculară mică (PBP4). Primele 3 sunt esențiale pentru supraviețuirea celulei bacteriene.

Acțiunea bactericidă a betalactamilor asupra *S. aureus* este direct proporțională cu afinitatea pentru PBP1 și PBP3. În cazul stafilococilor coagulonegativi există între 2 și 5 PBP. Împotriva tulpinilor sălbatice de stafilococ, care nu produc penicilază, cei mai activi betalactami sunt penicilina G, ampicilina și amoxicilina. Din cauza prevalenței mari a producției de penicilază în rândul stafilococilor, penicilinele M rămân cele mai active.

### **Modul de acțiune al glicopeptidelor asupra stafilococilor**

Inducerea *in vitro* a rezistenței la vancomicină, antibiotic descoperit în 1956, a stafilococilor s-a dovedit dificilă. A fost nevoie de aproximativ o sută de pasaje a acestei bacterii în medii lichide ce conțineau vancomicină pentru o creștere minimă a CMI. Aceste teste efectuate în urmă cu 60 de ani au fost confirmate de timpul lung scurs până la apariția primelor tulpini de stafilococi rezistenți la activitatea vancomicinei. În anii 1980 a apărut un nou glicopeptid, numit teicoplanină, care în scurt timp nu a mai prezentat activitate bactericidă împotriva stafilococilor coagulazo-negativi.

Glicopeptidele sunt antibiotice cu molecula foarte mare, ceea ce face ca difuzia lor în mediul cu agar să fie deficitară. Acest lucru duce la o dilemă în ceea ce privește încadrarea în vancomicin-susceptibil versus vancomicin-intermediar a *S. aureus*. Același lucru este valabil și pentru stafilococii coagulazo-negativi. Din această cauză, unele instituții în domeniu recomandă calcularea CMI pentru testarea susceptibilității la vancomicină a stafilococilor, în detrimentul metodei difuzimetrice.

### **Stafilococii coagulazonegativi. *Staphylococcus saprophyticus***

*Staphylococcus saprophyticus* provoacă infecții ale tractului urinar, inclusiv pielonefrită și sepsis. *S. saprophyticus* este susceptibil la cele mai multe antibiotice. Rezistența la meticilină și producția de  $\beta$ -lactamază au fost descrise la *S. saprophyticus*; deși mecanismele de rezistență nu a fost investigate în profunzime, se pare că au legătură cu enzima PBP [13].

#### **1.2.2 Bacterii gram negative**

**Familia *Enterobacteriaceae*** cuprinde o vastă unitate taxonomică, incluzând peste 40 de genuri și peste 100 de specii. Sunt bacili Gram negativi, majoritatea mobili (cu flageli peritrihi), unele specii sunt capsulate (*Klebsiella sp.*), aerobi, facultativ anaerobi, fermentează glucoza, unele specii producând gaz, nepretențioși nutritiv, catalază pozitivi, oxidază negativi. Din familia *Enterobacteriaceae* fac parte specii care sunt componente ale microbiotei normale a omului, și doar în anumite condiții produc infecții și specii care sunt strict patogene. Cele 13 mai frecvente specii izolate la om aparțin următoarelor genuri: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter* (Heroven și colab., 2016). *Enterobacteriaceaele* determină peste 90% din cazurile de infecții urinare necomplicate.

##### **A. *Escherichia coli* – Etimologie și scurt istoric**

*Escherichia coli* este un bacil Gram negativ aerob, facultativ anaerob, care se găsește în corpul uman, adesea în intestinal gros dar și în tractul uro-genital. Este o bacterie glucozo- și lactozo-pozitivă. A fost descoperită în anul 1919 de bacteriologul german Theodor Escherich al cărui nume îl poartă. Bacteria este inofensivă până se produce un dezechilibru și îmbolnăvește gazda.

*E. coli* uropatogenă (UPEC) este responsabilă de circa 90% din infecțiile tractului urinar (ITU). Clonele de *E. coli* uropatogenă sunt selectate din flora persistentă fecală care colonizează introitusul vaginal și ulterior infectează tractul urinar.

### **Modul de acțiune al betalactaminelor asupra *E. coli***

Având în vedere toxicitatea scăzută și spectrul de acțiune foarte larg, beta-lactaminele sunt cei mai răspândiți agenți terapeutici împotriva infecțiilor cu bacterii Gram negative, în special *Enterobacterii*. Eficacitatea acestora depinde de contactul cu agentul infecțios, de contactul cu proteina care leagă penicilina (*Penicillin Binding Protein*, PBP) acestuia și de producerea de betalactamaze. Împreună, acești trei factori pot duce la rezistență, care poate fi

intrinsecă și prezentă la nivelul tuturor tulpinilor, sau poate fi dobândită de anumite tulpini ca și consecință de anumite mutații genetice.

### **B. *Klebsiella pneumoniae* – Etimologie și scurt istoric**

În 1882 Karl Frindlander a descris pentru prima dată bacilul *Klebsiella* ca fiind unul încapsulat. Acesta a fost izolat din plămâni unui pacient care a decedat de pneumonie. În 1886 bacteria purta numele de bacilul lui Frindlander, ulterior numele a devenit *Klebsiella pneumoniae*. Această bacterie Gram-negativă, încapsulată nu prezintă motilitate și se găsește în mediul înconjurător. A fost asociată cu pneumonia la pacienții alcoolici și diabetici.

Bacteria colonizează mucoasele tractului respirator superior, ajungând ulterior în plămâni. Odată ajunsă la acest nivel poate prezenta grad ridicat de virulență și rezistență crescută la antibioterapie. În prezent *K. pneumoniae* este cauza cea mai frecventă de pneumonie asociată îngrijirilor medicale în SUA, fiind reprezentată de un procent cuprins între 3% și 8% din totalul pneumoniilor.

#### ***Modul de acțiune al betalactamilor asupra Klebsiella***

*Klebsiella pneumoniae* sau *K. oxytoca* pozitivă la indol este de obicei rezistentă la peniciline, ca urmare a producerii unei beta-lactamaze cromozomiale cu un nivel scăzut de sinteză (activitate specifică de aproximativ 50 până la 100 mU / mg). Deși majoritatea tulpinilor sunt susceptibile la cefalosporine, unele tulpini prezintă rezistență la cefalosporine, inclusiv față de cele de generația a treia. Aceste tulpini rezistente produc o beta-lactamază cromozomială cu un nivel ridicat de sinteză (activitate specifică de aproximativ 5000 mU/mg sau mai mare).

#### ***Modul de acțiune al carbapenemazelor în infecția cu Klebsiella pneumoniae***

Infecțiile datorate bacteriilor multi drog rezistente reprezintă o problemă de sănătate publică la nivel global. *K. pneumoniae* dobândește în mod obișnuit rezistență codificată la nivel genetic, chiar și față de carbapeneme. Bacteria transportă un astfel de material genetic incluzând atât *blaKPC*, cât și genele care codifică metalo-beta-lactamaze. *K. pneumoniae* este rezistentă la multe clase de antibiotice, dincolo de betalactamine, incluzând tetraciclonele, aminoglicozidele, fluorchinolonele. Tratamentul optim în infecția cu *K. pneumoniae* este neclar, dar în mod paradoxal, se apelează frecvent la carbapenem.

### **C. *Myroides odoratimimus*- etimologie si istoric**

*Myroides odoratimimus* este o bacterie Gram-negativă aerobă. Deși a fost izolată dintr-o serie de fluide corporale, acesta este un agent patogen oportunist rar. Speciile de *Myroides* se găsesc în mod obișnuit în mediul înconjurător iar infecțiile pot apărea de obicei după contact cu apa contaminată [21].

În ansamblu, descoperirile recente au arătat că *M. odoratimimus* poate forma cantități relevante de biofilm rezistent la antibiotice, în condiții relevante pentru locul plăgii, sugerând astfel un rol în patogenizarea infecțiilor cronice ulcerate [26].

Toate rapoartele despre infecții cu genul *Myroides* din China au indicat că *Myroides* sp. este o sursă de temut de infecții nosocomiale și are potențialul de a provoca o pandemie. Finalizarea secvențierii genomice pentru *Myroides* spp. și analiza bioinformatică detaliată sunt imperative pentru înțelegerea mecanismelor sale de rezistență la antibiotice și patogeneză [27].

### **D. *Enterococcus faecalis*. *Enterococcus faecium*- etimologie si istoric**

Pang și colaboratorii evidențiază cum în ultimii douăzeci de ani s-au raportat infecții comunitare cu enterobacterii producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (ESBLs) unde tratamentul necesar a presupus folosirea carbapenemelor. Prin urmare s-au dezvoltat tulpini rezistente și reprezintă o problemă reală atât pentru pacient, cât și pentru medic [28]. Din cele

12 specii de *Enterococcus* descrise doua sunt responsabile pentru majoritatea infectiilor fie nosocomiale sau comunitare. Acestea sunt *Enterococcus faecalis* care este responsabil pentru 80-90% si *Enterococcus faecium* care reprezinta doar 5-15% din infectiile cu aceasta clasa. Restul de 5% din infectiile cu *Enterococcus* sunt cauzate de specii precum *Enterococcus gallinarium*, *E. caseliflavus*, *E. durans*, *E. avium*, *E. raffinosus* [29].

### ***E. Enterobacter cloacae-etimologie si istoric***

*Enterobacter cloacae* este un bacil, gram negativ din familia Enterobacteriaceae cu o dimensiune de 0,3-0,5x0,8-2,0  $\mu\text{m}$  [37]. Pentru a se putea deplasa foloseste un flagel, iar temperatura optima pentru supravietuirea acestuia este 37°C. Infectiile cu acest germene patogen au cea mai mare mortalitate comparative cu alte infectii cu enterobacter. Fiind greu de diferentiat fata de alte infectii bacteriene secventierea genomului poate fi utila in tratarea acestora [38].

### **F. *Morganella morganii*- Etimologie si istoric**

*Morganella morganii* aparține familiei Enterobacteriaceae și poartă numele celui care a izolat-o pentru prima dată, în 1906, Morgan. Este o bacterie oportunistă, facultativ anaerobă și Gram-negativă, care cauzează infecții de tract urinar și infecții de plagă post-operatorie. Împreună cu *Proteus* și *Providencia*, aparține tribului Proteeae. Există argumente genetice care individualizează *Morganella* de alte specii aparținând aceleiași clase. Specia *Morganella* are, în prezent, două subspecii identificate: *morganii* și *sibonii* [43]. *Morganella morganii* este răspândită în mediul înconjurător și este considerată a fi o bacterie producătoare de urează. De obicei colonizează tractul intestinal al oamenilor, mamiferelor și reptilelor [44]. În ultimii ani s-a remarcat creșterea numărului de bacterii rezistente la antibiotice, tendință urmată și de specia *Morganella*. Poate sintetiza factori de virulență, cum ar fi urează, hemolizine și lipopolizaharid, implicate în infecțiile de plagă și de tract urinar.

### **G. *Pseudomonas aeruginosa*- etimologie si istoric**

*Pseudomonas aeruginosa* este o bacterie Gram-negativă care poate fi întâlnită într-o varietate de medii și care este, în principal, incriminată în infecții intraspitalicești [46]. Mecanismul de acțiune constă în producerea de endotoxine, exotoxine și enzime proteolitice. Genomul *Pseudomonas* este similar unor alte bacterii, cum ar fi *E. coli*, *Bacillus subtilis* și *Mycobacterium tuberculosis* și este considerat a avea o capacitate de codare superioară, responsabilă pentru versatilitatea metabolică și adaptabilitatea la mediu [47]. Această bacterie este asociată unor cazuri de infecții nosocomiale.

### **H. *Proteus* – etimologie și istoric**

*Proteus* reprezintă un grup de bacili Gram negativi care fac parte din clasa Enterobacteriaceae, frecvent întâlniți în flora tractului intestinal (împreună cu *E. coli* și *Klebsiella*) încadrate ca fiind condiționat-patogene; ocupă al doilea loc în cadrul infecțiilor tractului urinar după *E. coli*. Denumirea de *Proteus* derivă de la Zeul Mării (care își poate schimba forma după voie), tradus aici prin fenomenul de invazie și mare mobilitate a microorganismului, sugerând versatilitatea acestei specii. Tulpinile de *Proteus* importante în patologie sunt *P. vulgaris*, *P. mirabilis* și *P. penneri*. Caracterele de patogenitate ale acestor bacili se manifestă atât prin multiplicare, cât și prin secreția de endotoxine. Totodată, aceștia sunt caracterizați printr-o producție mare de urează ce va descompune ureea în CO<sub>2</sub> și NH<sub>3</sub>, pH-ul urinar crește consecutiv cu posibilitatea mare de formare a calculilor urinari. Creșterea pH-ului are efect toxic asupra epitelului tractului urinar.

### ***I. Acinetobacter baumannii- etimologie si istoric***

*Acinetobacter baumannii* este un cocobacil Gram-negativ non-fermentativ, catalazo-pozitiv, oxalazo-negativ, aerob. În cele mai multe cazuri acest microorganism infectează pacienții imunocompromisi, pacienții critici cu porți de intrare la nivel cutanat și nu în ultimul rând pacienții supuși ventilației mecanice, însă în ultimii ani s-a raportat creșterea incidenței cazurilor de infecții ale sistemului nervos central, tegumentelor și țesuturilor moi [49]. Este de departe cel mai întâlnit germen asociat infecțiilor nosocomiale în sistemul medical modern.

Acest cocobacil este considerat ca fiind slab patogen, însă este asociat infecțiilor oportuniste tegumentare, de cai urinare sau bacteriemiei [50]. *A. baumannii* s-a răspândit printre civili de la militarii plecați în zonele de război. Chiar dacă majoritatea cazurilor de infecție cu acest microorganism sunt în legătură cu secțiile de terapie intensivă, în ultimii ani s-au înmulțit cazurile de infecții comunitare [51]. Mai mulți factori de virulență au fost descriși folosindu-se tehnici de analiză genomică și fenotipică, printre care cei mai importanți sunt: porinele membranare externe, fosfolipaze, proteaze, lipopolizaharide, polizaharide capsulare, sistemul de secreție proteic și sistemele chelatoare de fier [52].

### ***J. Serratia marcescens - etimologie și istoric***

*Serratia marcescens* face parte din genul *Serratia*, care este inclus în familia Enterobacteriaceae. Deși inițial considerată un agent saprofit nepatogen, acest germen este recunoscut ca un important agent patogen oportunist. Acest germen Gram-negativ este izolat de rutina din sânge și din plăgi, pe mediul de cultură agar-sânge, dar și din tractul respirator sau urinar folosind diverse medii de cultură selective, cum ar fi agar MacConkey sau agar chromogen [54].

### ***K. Providencia stuartii și Providencia rettgeri- etimologie și istoric***

*Providencia stuartii* și *Providencia rettgeri* sunt bacterii Gram negative ce aparțin familiei Enterobacteriaceae și care sunt strâns înrudite cu genul *Morganella*. În prezent sunt recunoscute 8 specii: *Providencia alcalifaciens*, *Providencia burhodogranaeriae*, *Providencia heimbachae*, *Providencia rettgeri*, *Providencia rustigianii*, *Providencia sneebia*, *Providencia vermicola* și *Providencia stuartii* [59-62]. Ca și alți membri ai acestei familii, *Providencia* produce o enzimă numită fenilalanină deaminază, care catalizează conversia fenilalaninei la fenilpiruvat.

#### **Mecanisme de acțiune**

În conformitate cu rolul de agent patogen nosocomial, tulpinile de *P. Stuartii* și *P. Rettgeri* sunt de obicei rezistente la multipli agenți antimicrobieni. Un studiu din Etiopia a raportat că 75% din tulpinile de *Providencia* izolate au fost multidrog rezistente [68], iar alt studiu a identificat tulpinile de *Providencia* ca fiind cele mai multidrog rezistente bacterii responsabile de infecții de tract urinar [69].

Peste 90% din probele izolate sunt rezistente la aminoglicozide (amikacină, gentamicină, isepamicină și netilmicină), cefalosporine de generația 1 (cefazolin și cefradin) și amoxicilină. Aproximativ 20% din probele izolate au fost rezistente la alte peniciline (augmentin, piperacilină/tazobactam și pivmecilinam), fluoroquinolone (ciprofloxacin, lomefloxacin, norfloxacin și ofloxacin) și sulfonamide (cotrimoxazol). Circa 10% din probele izolate au fost rezistente la cefalosporine de generația a 2a (cefoxitin și cefuroxim) și 5% au fost rezistente la aztreonam. În principiu 99% din probe au rămas susceptibile la carbapenemi (imipenem), cefalosporine de generația a 3a (cefadizim, ceftazidim și ceftibuten) și la cefalosporinele de generația a 4a (cefepim). Totuși este important de notat că aceste probe izolate au fost colectate între 1999 și 2009 ceea ce poate induce o subestimare a nivelului actual de rezistență antibiotică.

### 1.3 Fenotipuri de rezistență naturală

Enterobacteriile produc, în mod intrinsec, diverse betalactamaze, permițând clasificarea lor. Din acestea, prezint doar cele mai importante în clinica de urologie.

*E. coli* se înscrie în Grupul 1 – microorganismele "susceptibile" al speciei produc în mod intrinsec o cefalosporinază de clasă C. *E. coli* și *Shigella* spp. sunt intrinsec sensibile la aminopeniciline, carboxipeniciline, ureidopeniciline. aztreonam, carbapenemi. Cu toate acestea, ele produc niveluri foarte scăzute cefalosporinaze cromozomiale neinductibile (unele tulpini, pot prezenta o sensibilitate redusă la aminopeniciline, combinație aminopenicilină-clavulanat și / sau Cefalosporine de generația întâi (C1G), mediate de cefalosporinază cromozomială de tip AmpC).

Grupul 2 – Microorganismele din speciile *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus* și *Escherichia hermannii* sunt producători constitutivi, intrinsec, de enzime de clasă A cromozomiale (nu există inducție de către betalactami, cu excepția *C. amalonaticus*) sensibile la inhibitori:

- SHV-1 (grup funcțional 2b) sau LEN-1 (grup 2a) în cazul *K. pneumoniae*,
- Enzime OXY (grupa 2be) în cazul *K. oxytoca*,
- enzime CKO pentru *C. koseri*,
- enzimă CdiA (grupa 2b) pentru *C. amalonaticus*,
- enzima HER-1 (grupa 2b) pentru *E. hermannii*.

Aceste enzime conferă rezistență la aminopeniciline și carboxipeniciline, dar deseori imperceptibile rezistență la ureidopeniciline. Aceasta este așa-numitul fenotip de rezistență prin „penicilinazei de nivel scăzut”.

Grupul 3 - Enterobacteriile din acest grup includ producătorii din cefalosporinaza clasa cromozomială C (AmpC, grup funcțional 1) inductibil de betalactamaze (inductorii puternici includ cefoxitin, imipenem, acidul clavulanic). Aceste cefalosporinaze sunt destul de larg răspândită în izolatele clinice de enterobacterii: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens* (și alte specii din aceasta gen), *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Providencia stuartii*, *P. stuartii* și *P. agglomerans*.

Fenotipul „sălbatic” al acestor specii, adesea numită „cefalosporinază sintetizată la nivel scăzut”, prezintă rezistență la aminopeniciline, combinații de inhibitori de betalactamază și CIG. Comportamentul lor față de C2G și cefaminicele le diferențiază în trei subgrupuri:

(i) specii susceptibile de obicei la cefuroxime (C2G) și cefoxitin (o cefalicină): *H. alvei*, *P. rettgeri*, *P. stuartii* și *P. agglomerans*;

(ii) specii mai rezistente la cefoxitină decât la cefuroximă: *E. cloacae*, *E. aerogenes* și *C. freundii*; și

(iii) specii mai rezistente la cefuroxime decât la cefoxitin: *S. marcescens* și *M. morganii*.

Prevalența fenotipului „de tip sălbatic” variază în funcție de specie și situația epidemiologică la locală. Cu toate acestea, fenotipul de tip sălbatic este mai frecvent în *H. alvei*, *P. rettgerii*, *Providencia* spp. și *M. morganii* decât în *C. freundii*, *E. cloacae* și *E. aerogenes*.

Speciile *Proteus vulgaris* și *Proteus penneri* aparțineau inițial acestui grup, dar pe baza fenotipic și molecular date este acum mai potrivit să le includem într-o nouă grupă (5, corespunzătoare fazei „cefuroximazei”).

### 1.4. Rezistența la antibiotice

Este bine cunoscut faptul ca dezvoltarea mecanismelor bacteriene de rezistență la antibiotice reprezintă o problema stringenta care afectează și totodată pune la grea încercare sistemele de sanătate publică din lumea întreagă.

Nu sunt puține situațiile în care utilizarea antibioticelor este lipsită de fundament, optându-se pentru această soluție terapeutică deși diagnosticul de infecție bacteriană este adesea

neclar. De foarte multe ori pacientii se astepta sa primeasca si chiar cer tratament antibiotic in aceste situatii de incertitudine diagnostica.

Agentii antibacterieni pot actiona in sens *bactericid* prin distrugerea directa a microbilor din spectrul lor de activitate sau pot fi *bacteriostatice*, blocand mecanismele de multiplicare bacteriana [71]. De multe ori substantele bacteriostatice sunt eficiente in tratarea infectiilor, inasa in unele situatii este necesara administrarea unor antibiotice cu efect bactericid pentru rezolutia completa a starii infectioase.

Antibioticele actioneaza asupra bacteriilor printr-o serie de mecanisme care au ca rezultat final eliminarea infectiei din organism. Principalele mecanisme de actiune sunt inhibarea sintezei peretelui bacterian, inhibarea sintezei proteice bacteriene (ribozomal, tARN), inhibarea metabolismului celular (blocarea sintezei acidului folic), inhibarea sintezei acizilor nucleici, blocarea sintezei de ADN, distrugerea membranei celulare.

Rezistenta bacteriana la antibiotice apare ca efect al abilitatii bacteriei de a-si dezvolta mecanisme specializate in anihilarea caii de actiune a substantei antibiotice, reusind astfel sa supravietuiasca efectelor unui medicament care anterior gestiona infectia, distrugand bacteriile.

Tulpinile de bacterii cu rezistenta se dezvoltă cu rapiditate in special in zonele unde se utilizeaza pe scara larga multe clase de antibiotice, construindu-se astfel conditiile prielnice pentru achizitii selective.

Rezistenta achizitionata se poate dezvolta prin *mutatii ale unor gene proprii* ale bacteriei sau poate aparea prin *achizitia de noi gene* de la alte tulpini bacteriene. Aceste noi elemente genice implicate in codificarea informatiei legate de rezistenta se pot transmite interbacterian prin intermediul plasmidelor, bacteriofagilor [70].

Rezistenta multipla la antibiotice este o realitate a zilelor noastre tot mai prezenta, avand rate in crestere in special in zonele unde sunt folosite pe scara larga multe clase de antibiotice [74].

Sunt cunoscute doua mecanisme principale care intervin in dezvoltarea rezistentei multiple si anume mutatii la nivelul mai multor gene diferite care sunt implicate in rezistenta fata de multiple substante si dezvoltarea mai multor mutatii ce implica o singura gena sau complex genic ce presupun aparitia rezistentei fata de mai multe antibiotice diferite.

Dezvoltarea rezistentei prin mutatii diferite la nivelul mai multor gene este un proces ce implica existenta mai multor etape de modificari genice, etape care se succed secvential necesitand o anumita perioada de timp pana la achizitia multirezistentei, in vreme ce mutatiile multiple de la nivelul unei singure gene reprezinta un proces ce se poate realiza intr-o singura etapa. Aceste mutatii au ca rezultat o serie de modificari la nivelul membranei bacteriene ducand la scaderea acumularii intracelulare a antibioticelor, in cazul bacteriilor gram-negative precum quinolone,  $\beta$ -lactamice, tetraciclone, aminoglicozide.

Achizitia multirezistentei este un proces in continua crestere si pune mari probleme terapeutilor din intreaga lume, identificandu-se tulpini bacteriene rezistente chiar si la toate antibioticele disponibile [70,75].

Pentru E.Coli si K.Pneumoniae ratele de rezistenta au fost destul de ridicate pentru anumite clase de antibiotice. Aproximativ 58% dintre tulpinile de E.Coli au aratat rezistenta la cel putin un antibiotic din clasele testate (cefalosporine generatia III, aminopeniciline, carbapeneme, fluorochinolone, aminoglicozide). In cazul E.Coli ratele de rezistenta la cefalosporinele de generatia a III-a au fost usor in crestere de la 14,2% in 2014 la 14,9% in 2017. In ceea ce priveste K. Pneumoniae ratele de rezistenta au fost relativ similare pentru aceeasi perioada [76].

Datele ECDC au aratat o rezistenta scazuta la carbapeneme a E.Coli si aproximativ 10% dintre tulpinile de K.Pneumoniae au aratat rezistenta fata de acest antibiotic. Deasemenea s-au raportat rate mai ridicate de rezistenta la carbapeneme a tulpinilor de P. Aeruginosa si Acinetobacter [76].

Pentru *Stafilococcus Aureus* rezultatele au aratat o scadere a tulpinilor MRSA (metilicilin rezistente) de la 19.6% in 2014 la 16.9% in 2017, in schimb in ceea ce priveste *Enterococcus Faecium* datele prezentate au identificat o crestere alarmanta a tulpinilor rezistente la vancomicina de la 10,4% in 2014 la 14.9% in 2017, ratele fiind in crestere in aproximativ o treime dintre tarile incluse in studiu.

## **Rezistența la antibiotice în cazul Stafilococului**

### **Mecanismele de rezistență ale stafilococilor împotriva betalactaminelor**

Sunt două tipuri de mecanisme de rezistență ale stafilococilor împotriva antibioticelor betalactamice:

- producția de betalactamaze
- modificarea substratului țintă al antibioticului.

Cel de-al doilea mecanism poate fi reprezentat de achiziția unei PBP exogene (mai frecvent) sau alterarea unei PBP deja prezente (mai rar).

## **Rezistența la antibiotice în cazul Fam. Enterobacteriaceae**

### **I. Mecanisme de rezistență**

**Impermeabilitate** Membrana exterioră a enterobacteriilor este compusă din lipopolizaharide (LPS), a cărei structură este hidrofilă, datorită sarcinilor sale electrice de suprafață, și a cărei bază este foarte compactă datorită prezenței acizilor grași nesaturați. Această organizare explică rezistența intrinsecă la antibioticele hidrofobe și/sau cu greutate moleculară mare (peniciline, macrolide, rifampicină, acid fusidic și glicopeptide). Porinele mediază schimbul de substanțe nutritive și alte substanțe între periplasm și mediul extern prin difuzie pasivă. Betalactaminele hidrofile pot, de asemenea, să traverseze membrana exterioră prin canalele porinice (porinele OmpF și OmpC pentru *E. coli* și echivalenții lor OmpK36, OmpD și Omp36 pentru *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* (de curând reclasificat ca *Klebsiella aerogenes*, *Salmonella Typhimurium*).

### **II. Eliminarea prin sisteme de eflux**

Sistemele eflux ale enterobacteriilor sunt în general compuse din trei proteine care acționează ca o unitate: una încorporată în membrana citoplasmatică, a doua secțiune încorporată în membrana exterioră pentru a asigura extrudarea în mediul extern, proteina periplasmică care formează o punte între pompă și canalul porinic. Într-adevăr, sistemele de eflux sunt adevărate pompe »care elimină în mod activ produsele metabolice sau toxice, cum ar fi antibioticele, folosind forța protonică-motrică (*proton-motive force*, PMF), ca cea codificată de genele *marRAB* pentru *E. coli*. Aceasta cauzează, în general, rezistență încrucișată de nivel diferit la, diferite antibiotice, inclusiv la lactamice, chinolone, cloramfenicol și tetraciline.

### **III. Producția de Beta-lactamaze**

Producția de enzime inactivatoare este mecanismul cel mai important al rezistenței la betalactamice la enterobacterii. Cele mai comune enzime acționează prin enzime dependente de ioni metalici și folosesc un mecanism bazat pe zinc (unul sau doi ioni de Zn). În ambele cazuri inactivarea betalactaminelor se datorează scindării hidrolitice a inelului betalactam la nivelul legăturii amidice, după incorporarea unei molecule de apă. În prezent sunt utilizate două clasificări: clasificarea structurală a lui R. P. Ambler, pe baza secvenței primare de aminoacizi a elementelor conservate în situsul activ. și clasificarea funcțională a lui K. Bush și G.A. Jacoby (bazată pe activitatea hidrolitică și susceptibilitatea la inhibitori de lactamaze, cum ar fi clavulanatul și acid etilendiaminetetraacetic (*Ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA), un chelator de cationi divalenți.

## Cap. 2. Îngrijirea pacienților cu infecții ale tractului urinar

### 2.1 Caracteristici generale ale infecțiilor de tract urinar (ITU)

ITU sunt caracterizate de colonizarea cu microorganisme, cel mai frecvent bacterii, a aparatului urinar. Un element important în dinamica infecțiilor urinare este reprezentat de relația agent patogen-gazda. Gazda este caracterizată de starea arborelui urinar, capacitatea generală și specifică de apărare sau de existență unor condiții subiacente ce pot facilita multiplicarea microorganismelor în cadrul infecțiilor urinare. Agentul patogen este caracterizat prin prisma existenței unor mijloace specifice de agresiune precum pili, endotoxinele excretate sau antigene membranare de adeziune [119].

Semnele și simptomele generale ale ITU necomplificate sunt reprezentate de durerea la urinare (disurie), urinări frecvente (polakiurie), deficiența în inițierea urinării (ezitare), nevoia urgentă de a urina (imperiozitate) și prezența sângelui în urină (hematurie). La acestea, în cazul ITU complicate se pot dauga în proporții variabile greață, varsături, febră, frison, dureri suprapubiene sau dureri lombare la care adesea se asociază afectarea renală precum în cazul pielonefritei [120]. Abcese renale și perirenale pot fi cauza de febră persistentă, masă palpabilă voluminoasă sau sensibilitate la palpare. În cazul populației vârstnice simptomele pot fi adesea mult reduse ca intensitate și frecvență precum disconfort epigastric sau abdominal sau pot chiar lipsi. Pacienții cateterizați pot prezenta bacteriurie asimptomatică, dar febră cauzată de bacteriemie poate apărea rapid, putând chiar pune în pericol viața [1].

### 2.2 Clasificarea ITU

În funcție de topografia infecției, acestea se împart în: pielonefrite, cistite, uretrite sau prostatite. Ghidul European de Urologie al infecțiilor urinare [6] le clasifică în funcție de gravitate în: complicate și necompllicate – Tabel 2.1.

**Tabel 2.1 Clasificare ITU conform ghidului european de urologie (EAU Guidelines 2020)**

<i>ITU necompllicate</i>	Acute, sporadice sau recurente infecții urinare joase (cistita necompliată) sau înalte (pielonefrita necompliată), limitate la femeile în afara sarcinii, fără anomalii anatomice sau funcționale ale tractului urinar sau alte afecțiuni asociate
<i>ITU complicate</i>	Femeile gravide, toți bărbații, pacienții cu anomalii anatomice sau funcționale ale tractului urinar, pacienții cateterizați, boli renale asociate sau alte afecțiuni imunodeprimante precum diabetul zaharat
<i>ITU recurente</i>	Se definesc ca prezența a cel puțin 2 episoade de ITU/ 6 luni sau 3 episoade ITU/ an
<i>ITU asociate cateterizării</i>	Se definesc ca ITU la un pacient cateterizat sau care a fost cateterizat în ultimile 48h
<i>Urosepsis</i>	Se definește ca o disfuncție a unui organ amenințătoare de viață cauzată de un răspuns anormal al gazdei la o infecție cu originea la nivelul tractului urinar

### 2.3 Factori de risc

Variați factori de risc sunt incriminați în apariția ITU atât la femei, cât și la bărbați sau copii, în timp ce alții sunt specifici fiecărei categorii de pacienți. Factori de risc ce afectează toate categoriile de indivizi sunt reprezentati de reducerea ingestiei de lichide, retenția prelungită de urină ce favorizează multiplicarea microorganismelor prin stază urinară prelungită, litiaza renală ce favorizează obstrucția tractului urinar și tulburări concomitente în drenajul urinar, constipatia cronică prin translocatia bacteriana din tractul digestiv, traumatisme ale maduvei spinării sau diabetul zaharat care crește nivelul de glucoză în sânge (glicemia) și concomitent și glucoza în urină (glicozuria) antrenând o dezvoltare accelerată a bacteriilor în

urina; de asemenea, cateterizarea recenta si istoricul de infectie urinara sunt factori predispozanti in aparitia ITU.

Factorii de risc specifici in aparitia ITU in randul femeilor sunt reprezentati de activitatea sexuala care favorizeaza translocatia bacteriana din regiunea perianala catre regiunea vulvara iar de acolo considerand uretra scurta a doamnelor ca particularitate anatomica creste ascensiune bacteriana catre vezica urinara favorizand colonizarea acesteia si aparitia ITU; de asemenea in corelatie cu activitatea sexuala, folosirea spermicidelor sau a dispozitivelor intrauterine de contraceptie precum diafragma pot favoriza colonizarea tractului urinar cu bacterii patogene, concomitent cu depopularea florei comensale cu rol deosebit de important in homeostazia bacteriana a tractului genito-urinar.

#### **2.4 Diagnostic de nursing**

Ingrijirea pacientilor diagnosticati cu infectii de tract urinar este un capitol in desfasurarea procesului de ameliorare, vindecare al acestora, ce revine asistentilor medicali din serviciul de urologie, parte importanta a echipei medicale.

Diagnosticul de nursing reprezinta diagnosticul de ingrijire care are la baza definirea celor 14 nevoi fundamentale prin care asistenta medicala are rolul de ingrijire a ceea ce pacientul nu poate face singur. Stabilind acest diagnostic pentru nevoile afectate precum si obiectivele, interventiile autonome si delegate pentru fiecare obiectiv de comun acord cu pacientul daca acesta este in stare de constienta, realizam evolutia favorabila de vindecare, propusa acestuia.

#### **2.5 Plan de ingrijire**

Nevoile fundamentale nesatisfacute sunt cele care dicteaza, diagnosticalele de ingrijire:

- eliminarea urinara neadecvata din cauza infectiei urinare, manifestata prin disurie.
- alterarea somnului din cauza durerilor lombare, manifestata prin somn insuficient, treziri frecvente.
- alterarea tegumentelor din cauza febrei , manifestata prin tegumente transpirate, umede.
- postura inadecvata din cauza durerii , manifestata prin pozitie antalgica.
- hipertermia din cauza procesului inflamator , manifestata prin febra moderata (38,2).
- eliminarea inadecvata din punct de vedere al emisiei din cauza infectiei urinare, manifestata prin polakiurie.
- alimentatie inadecvata din cauza durerii , manifestata prin greturi, varsaturi.

In planul de ingrijire obiectivele sunt:

- durerile la mictiune sa se reduca, cat si durerile suprapubiene insotite de tenesme vezicale; durerea lombara , polakiuria, disuria, febra 38,7, frison, inapetenta, greturi, varsaturi.
- pacientul sa prezinte somn odihnitor si linistitor.
- sa prezinte o buna postura.
- sa prezinte tegumente roz, caldute, fara transpiratii.
- sa prezinte eliminari urinare fiziologice normale.
- sa fie echilibrat hidroelectrolitic si nutritional in decurs de 5-6 zile.
- sa deprinda cunostinte despre sanatate si boala sa.
- sa aiba o evolutie buna fara complicatii.

## Cap. 3. Infecția cu Clostridium Difficile

Clostridium difficile (C. difficile) este o bacterie anaerobă gram-pozitivă, oportunistă, care are capacitatea de a forma spori. A fost descrisă în 1935 sub numele de Bacillus difficilis de Ivan Hall și Elizabeth O'Toole, care l-au izolat de tracturile intestinale ale bebelușilor sănătoși (<10 zile). Deși inițial s-a crezut că acest organism este comensal, ulterior C. difficile a apărut ca un agent patogen digestiv principal cu distribuție la nivel mondial.

Infecția determinată de Clostridium difficile (ICD) se manifestă de regulă printr-un sindrom diareic; există cazuri în care evoluția este severă, cu dilatarea colonului și afectarea întregului organism de către substanțele eliberate de la acest nivel (megacolon toxic) situație asociată cu un prognostic prost.

### 3.1 Bacteriologie

C. difficile este un bacil gram pozitiv, anaerob, care formează spori și produce toxine, aparținând clusterului XI al genului Clostridium și poate fi izolat în apă, legume, mediiu spitalicesc precum și la nivelul aparatului digestiv al oamenilor și animalelor domestice.

Cele două toxine majore, TcdA și TcdB, au fost studiate intens de la recunoașterea lor inițială drept factori majori de virulență C. difficile. Studiile sugerează cu tărie că analiza detaliată a activității TcdA și TcdB oferă una dintre cele mai rapide incursiuni în înțelegerea bolii legate de C. difficile. În plus față de contribuția lor la boală, TcdA și TcdB sunt markerii primari pentru diagnosticul bolii C. difficile și sunt depistați în scaunele pacienților prin teste bazate pe anticorpi și citotoxicitate. Aceste toxine, care sunt codificate pe locusul de patogenitate, sunt toxine multi-domeniu cu activități glicoziltransferază, care transferă reziduuri de glicozil în GTPazele omologante Ras și duc consecutiv la o pierdere a integrității membranei intestinale și la moartea celulelor [137]. Astfel se declanșează inflamația colonului asociată cu pierderi masive de lichide în intestinul gros, prezentându-se clinic ca diaree acută.

Colonizarea poate fi prevenită prin proprietățile de barieră ale microbiotei fecale; slăbirea acestei rezistențe prin antibiotice este factorul de risc major pentru boală. Vârsta înaintată, chimioterapia și bolile subiacente severe contribuie, de asemenea, la creșterea riscului. Simptomele de colită nu se dezvoltă la toate persoanele colonizate. Organismul însuși este noninvaziv, iar infecția în afara colonului este extrem de rară. Cei doi factorii care exercită o influență majoră asupra expresiei clinice a bolii sunt virulența tulpinii infectante și răspunsul imun al gazdei.

### 3.2 Epidemiologie

În momentul de față, infecția cu C. difficile a devenit o problemă de sănătate publică la nivel mondial. C. difficile este o bacterie care se întâlnește în intestinul a 1-3% din populația adultă; la cea mai mare parte a acestora nu se produc manifestări clinice deoarece existența florei intestinale obișnuite reușește să împiedice multiplicarea.

Incidența infecției cu C. difficile printre pacienții spitalizați variază mult de la an la an și în funcție de locație, dar în general a crescut, până la aproape 15 cazuri la 1000 pacienți externați conform lui Steiner și colab. [139]. În comunitate, s-au raportat aprox. 20 cazuri la 100000 persoane pe an, numărul de cazuri fiind în creștere în Statele Unite ale Americii [140].

În România, incidența infecției cu C. difficile a crescut începând cu 2011, concomitent cu creșterea la nivel european [142], fiind întâlnite cazuri la aprox. toate spitalele de pe teritoriul țării [143].

### 3.3 Factori de risc

Compoziția florei intestinale variază de-a lungul tubului digestiv fiind totodată diferită de la individ la individ; se poate modifica în timp și poate suferi variații majore în funcție de

tipul de alimentație, bolile asociate și tratamentele administrate, în special cu antibiotice. Bacteriile de la nivelul intestinului aduc beneficii multiple gazdei umane. Acestea intervin și ajută la definitivarea proceselor de digestie, favorizează sinteza și absorbția unor vitamine esențiale, stimulează maturarea și antrenarea răspunsului imun. Totodată, asigură o barieră împotriva infecției cu alte bacterii patogene, producând diferite substanțe care inhibă multiplicarea patogenilor intestinali. Dezechilibrele florei intestinale favorizează colonizarea, selectarea și multiplicarea bacteriilor patogene competitive, ca de exemplu *C. difficile*.

Cel mai important factor de risc pentru infecția cu *C. difficile* rămâne consumul de antibiotice. Ampicilina, amoxicilina, cefalosporinele, clindamicină și fluorochinolonele sunt antibioticele care sunt cel frecvent asociate cu boala, dar aproape toate antibioticele au fost incriminate [146] (Tabelul 3.1).

Infecția interesează frecvent persoanele cu vârsta peste 60 de ani, la care evoluția poate fi uneori severă. S-a stabilit că o persoană de peste 65 de ani are risc de 10 ori mai mare de infecție cu *C. difficile*, comparativ cu adultul tânăr [147].

### 3.4 Diagnostic

Simptomatologia sugestivă pentru ICD și pentru existența riscului de colonizare și a factorilor favorizanți apariției ICD constă în diaree nosocomială fără alte cauze sau diaree post-antibiotică cu origine comunitară, mai ales la un pacient vârstnic, în sezonul rece. Totodată dacă pacientul a primit antibiotice, imunosupresoare sau antisecretorii gastrice și dacă nu aparține unui focar de boală diareică acută din comunitate, orientarea este spre infecție cu *C. difficile*.

Diagnosticul etiologic (Fig. 3.1) aduce argumente în favoarea abordării cazului drept infecție cu *C. difficile* și permite evaluarea intensității fenomenului epidemiologic. Boala se manifestă numai în cazul producerii toxinelor, de aceea diagnosticul are drept scop evidențierea prezenței acestora (direct din materii fecale sau din culturi de *C. difficile*). Tulpinile netoxigene nu se consideră cauze ale bolii diareice.

### Metode de diagnostic

Se efectuează la pacienții cu manifestări clinice evocatorii de ICD (nu și la persoane asimptomatice):

- a) Cultivare. Izolarea *C. difficile* este o metodă cu sensibilitate crescută (potențial screening, dar durata de prelucrare o face puțin operantă în îngrijirea pacienților).
- b) Detectarea enzimei GDH (glutamat dehidrogenaza). Metoda are sensibilitate ridicată, însă specificitate redusă; de aceea poate fi utilizată drept test screening și necesită un test care să confirme prezența toxinelor (nu face diferența între tulpinile toxigene și netoxigene)
- c) Determinarea toxinelor A și B din scaun prin tehnici imunoenzimatică – este cea mai folosită metodă, are sensibilitate de cca 75%-95% și specificitate crescută (80%-98%) [154];
- d) Determinarea genei toxinei A și B prin PCR – are sensibilitate și specificitate ridicată și reprezintă gold standard-ul de diagnostic;
- e) În situații particulare – se poate efectua cu prudență colonoscopia, care evidențiază aspectul de colită pseudomembranoasă;

### 3.5 Tratament

În absența unui vaccin eficient, metodele de reducere ale infecției s-au concentrat pe administrarea rațională a antibioticelor, prevenirea răspândirii în unitățile de asistență medicală și pe tratamentul cu probiotice. Minimizarea consumului de antibiotice reprezintă metoda cea mai eficientă în scăderea infecției cu *C. difficile* la pacienții spitalizați [155]. Un studiu realizat în Scoția pe aproximativ 450 pacienți a arătat că interzicerea folosirii combinate a ceftriaxonei cu ciprofloxacina, a redus rata infecției cu *C. difficile* cu aprox. 77% [156].

Utilizarea probioticelor pentru a preveni infecția cu *C. difficile* ar putea reprezenta o strategie sigură și ușor de adoptat, dar puține studii care arată că probioticele au oferit o protecție semnificativă în cohorte cu rate mari de infecție cu *C. difficile* [158] și un alt studiu nu arată nicio protecție în spitale care au rate mici de infecție [159].

Așadar, ca principiu general de tratament ar trebui întreruptă administrarea de antibiotic și de antisecretor gastric deoarece acești agenți reprezintă factori favorizanți. Totodată, nu se administrează medicație antiperistaltică (factor agravant) și se aplică inițierea terapiei etiologice și a măsurilor de limitare a transmiterii interumane cât mai rapid.

### Tratamentul primului episod

Metronidazolul și vancomicina administrată pe cale orală au fost elementele de bază ale tratamentului pentru infecția cu *C. difficile* încă din anii 1970 și, în ciuda utilizării lor de către milioane de pacienți, nu a fost raportată rezistența importantă din punct de vedere clinic. Pentru tratamentul formelor severe, vancomicina este mai bună decât metronidazolul, dar pentru infecții ușoare până la moderate, cele două antibioticele au fost considerate echivalente.

**Tabel 3.4** Tratamentul infecției cu *C. difficile*

	<b>Simptomatologie</b>	<b>Tratament</b>
<b>Formă ușoară</b>	Diaree ușoară (3 - 5 scaune pe zi), stare afebrilă, ușor disconfort abdominal sau sensibilitate, fără anomalii de laborator notabile	Întreruperea tratamentului antibiotic Hidratare Metronidazolul 500 mg la fiecare 8 ore, oral
<b>Formă moderată</b>	Diaree moderată non-sanghinolentă, disconfort abdominal moderat disconfort, greață cu vărsături ocazionale, deshidratare, leucocite > 15.000 / mm <sup>3</sup> și uree sau creatinină ușor crescute	Metronidazolul 500 mg la fiecare 8 ore, oral sau Vancomicina 125 mg la fiecare 6 ore, oral, timp de 10-14 zile
<b>Formă severă</b>	Diaree severă sau sanghinolentă, colită pseudomembranoasă, dureri abdominale severe, vărsături, ileus, temperatură > 38,9 ° C, leucocite > 20.000 / mm <sup>3</sup> , albumină < 2,5 mg/dl și insuficiență renală acută	Vancomicină 500 mg la fiecare 6 ore, oral, la care se adaugă metronidazol 500 mg iv la fiecare 8 ore.

### Tratamentul recurenței

Riscul reapariției infecției cu *C. difficile* variază de la 20% după un episod inițial la 60% după recurențe multiple [160]. Reapariția este cel mai adesea datorată reexpunerii sau reactivării sporilor la pacienții cu imunitate afectată și prezintă o funcție de barieră slabă a microbiotei colonice.

Pentru prima recidivă se folosesc aceleași opțiuni și doze ca la episodul inițial; de la a doua recidivă: vancomicină oral, 125 mg la fiecare 6 ore, 10-14 zile, apoi 125 mg la fiecare 12 ore, 7 zile. În continuare se administrează vancomicină oral 125 mg zilnic, 7 zile, apoi 125 mg la fiecare 2-3 zile, 14-56 de zile.

## PARTEA SPECIALĂ - CONTRIBUȚII PERSONALE

**Scopul** acestui studiu a fost reprezentat de caracterizarea tulpinilor uropatogene izolate în cadrul Clinicii de Urologie a Spitalului Th Burghel, din punct de vedere al gradului de rezistență la antibiotice și a potențialului de patogenitate și virulență. S-a studiat și apariția infecției Clostridium Difficile la pacienții tratați.

**Obiective:**

1. Identificarea tulpinilor bacteriene implicate în etiologia ITU la pacienți urologici.
2. Studiu pilot al rezistenței la carbapenemi prin producția de carbapenemaze
3. Impactul infecției cu Clostridium Difficile în patologia urologică

## Cap. 4. Identificarea tulpinilor bacteriene implicate în etiologia ITU la pacienții urologici

### Material si Metodă

Studiul a fost realizat în perioada 01.03.2018 - 31.05.2018 în cadrul laboratorului de Microbiologie din Spitalul Clinic „Prof. Dr. Theodor Burghel” unde au fost analizate 5192 uroculturi provenite de la pacienți din Clinica de Urologie.

### Rezultate și discuții

În perioada 01.03.2018 - 31.05.2018 s-au efectuat 5192 uroculturi (mediană = 1685; interval = 1529 - 1974) dintre care aprox. 72 % la femei și 28 % la bărbați. Vârsta medie a lotului studiat a fost de  $59 \pm 4$  ani.

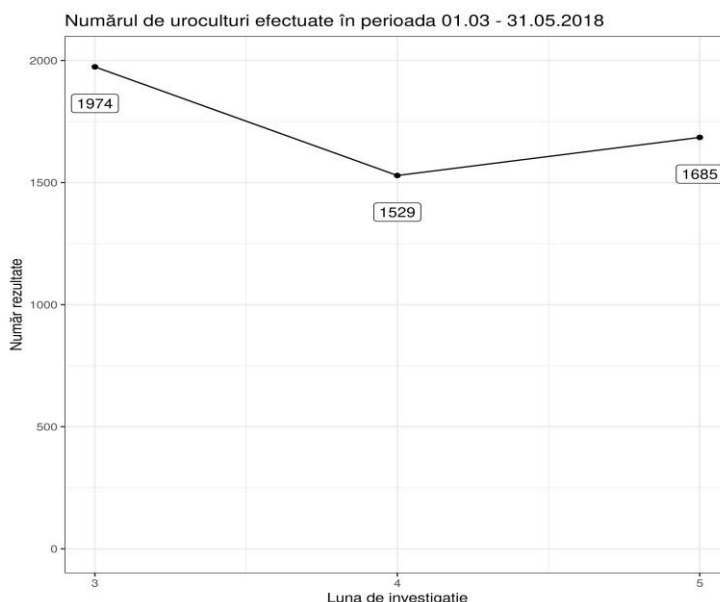


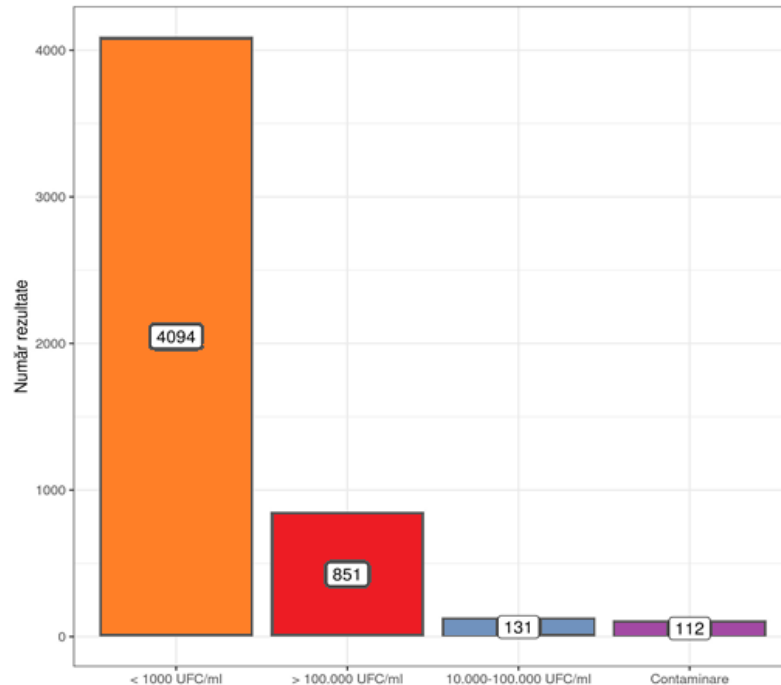
Figura 4.1 Numărul de uroculturi efectuate in cele 3 luni

În luna martie a fost înregistrată cea mai mare pondere de uroculturi prelucrate în laboratorul spitalului nostru (Fig.4.1).

Dintre culturile efectuate în perioada de investigație, interpretarea a fost după cum urmează:

- n = 4094 (78,82%) de uroculturi negative (< 1000 UFC/mL)
- n = 851 (16,39%) de uroculturi cert pozitive ( $\geq 100.000$  UFC/mL)

- n = 131 (2,52%) de uroculturi cu număr de germeni între 10.000 - 100.000 UFC/mL. În aceste condiții, germenii izolați trebuie să fie interpretați în context clinic, putând reprezenta izolate importante în anumite contexte clinice(**Fig. 4.2**).
- n = 112 (2,15%) culturi au prezentat elemente de contaminare (multiple tipuri de germeni).



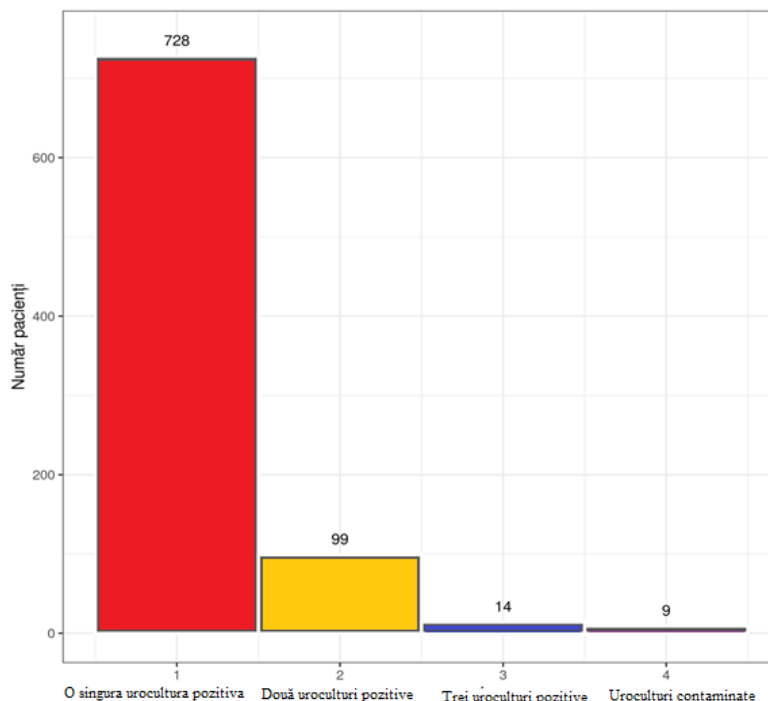
**Figura 4.2** Numărul de colonii izolate obținute pentru uroculturile prelucrate  
Pe abscisă sunt înscrise numărul de colonii, iar pe ordonată numărul de uroculturi care intră în fiecare categorie.

Rezultatele reprezintă cumulul pentru toată perioada studiului. Atunci când s-au întâlnit mai mult de 2 morfologii bacteriene s-a considerat Contaminare.

Pentru a explica numărul de uroculturi pozitive, s-au examinat numărul de uroculturi pozitive per pacient (**Fig. 4.3**). Astfel, din acest punct de vedere:

- n = 728 (85,54%) pacienți au prezentat o unică urocultură pozitivă
- n = 99 (11,63%) pacienți au avut două uroculturi pozitive.
- n = 20 (2,34%) pacienți au avut trei sau patru uroculturi pozitive.

Când profilul microorganismului a fost același (același gen și specie, profil de susceptibilitate la antibiotice), s-a înregistrat o singură instanță pentru analiză.



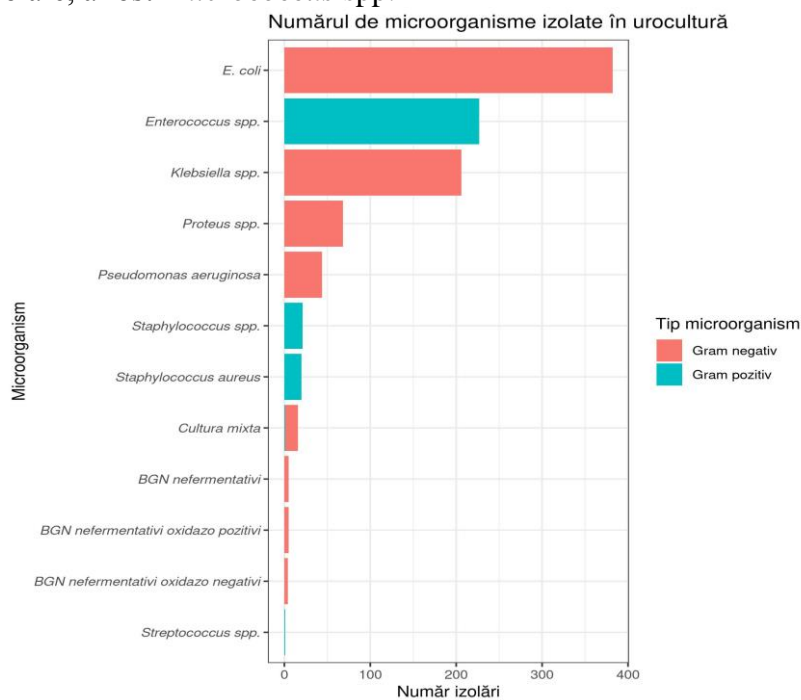
**Figura 4.3 Distribuția numărului de uroculturi pozitive efectuate per pacient**

Pe abscisă sunt înscrise numărul de uroculturi pozitive, iar pe ordonată numărul pacienților reprezentativi pentru fiecare categorie. Rezultatele reprezintă cumulum pentru toată perioada studiului.

O primă împărțire a germenilor este clasificarea Gram (în funcție de modul de organizare a peretelui celular), iar apoi în funcție de diagnosticul bacteriologic de laborator (ce ia în considerare proprietățile fenotipice și biochimice a microorganismelor).

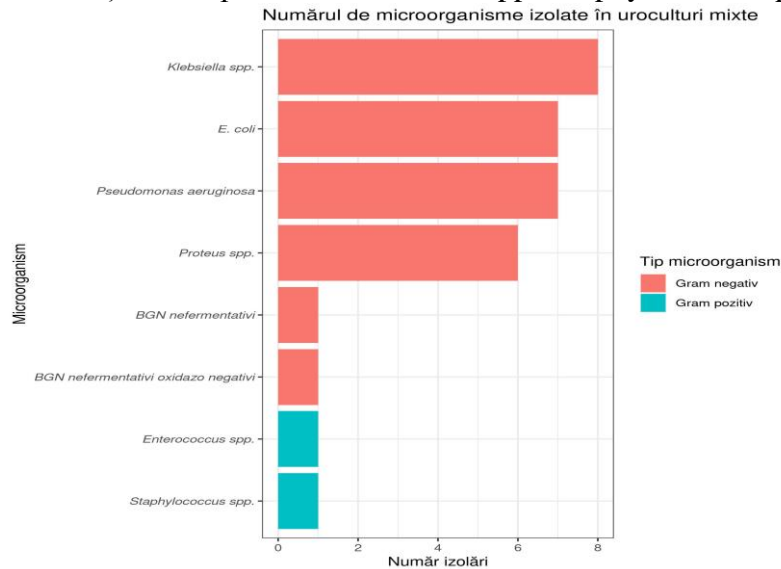
Majoritatea microorganismelor izolate au fost de tip bacili Gram negativi de tip enterobacterii (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.) (Fig. 4.4).

Microorganismul cel mai frecvent izolat a fost *Escherichia coli*. Următorul izolat în ordinea frecvenței de izolare, a fost *Enterococcus* spp.



**Figura 4.4 Distribuția uroculturilor pozitive în funcție de bacterii gram pozitive sau negative**

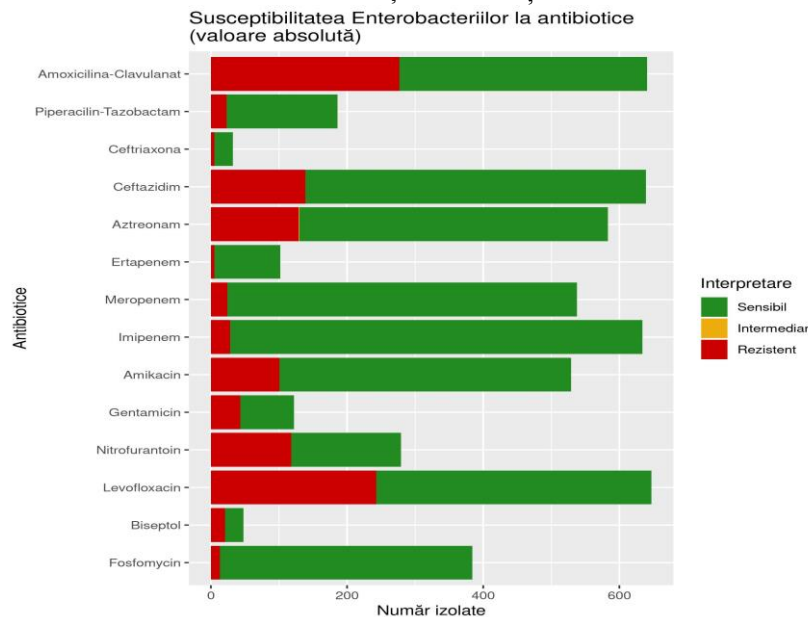
Rezultatele microbiologice reprezintă diagnosticul fenotipic efectuat. Pe abscisă sunt înscrise numărul izolări ale germeului în cauză, iar pe ordonată sunt prezentați, în ordinea frecvenței, germeni izolați. Culoarea coloanei marchează tipul germeului: fie Gram pozitiv, fie Gram negativ. Un procent important din uroculturile izolate o reprezintă bacteriile gram negative dintre care E. Colli se află pe primul loc, urmată de Klebsiella spp. Dintre bacteriile gram pozitive se diferențiază în special Enterococcus spp., Staphylococcus spp. și aureus.



**Figura 4.5 Distribuția germeilor gram pozitivi și negativi izolați din uroculturile „mixte”**

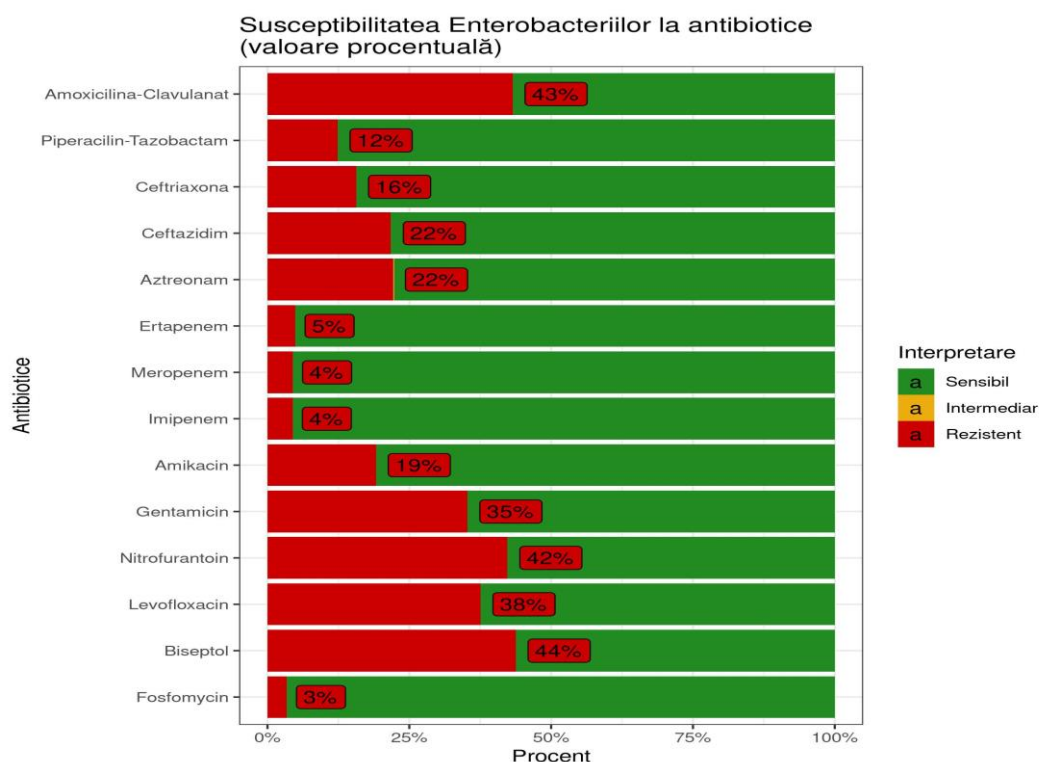
Rezultatele microbiologice reprezintă diagnosticul fenotipic efectuat. Pe abscisă sunt înscrise numărul izolări ale germeului în cauză, iar pe ordonată sunt prezentați, în ordinea frecvenței, germeni izolați. Culoarea coloanei marchează tipul germeului: fie Gram pozitiv, fie Gram negativ.

Rezultatele privind testarea susceptibilității la antibiotice prin efectuarea antibiogramei difuzimetrice standardizate a arătat o distribuție variată și conform studiilor recente (Fig. 4.6).



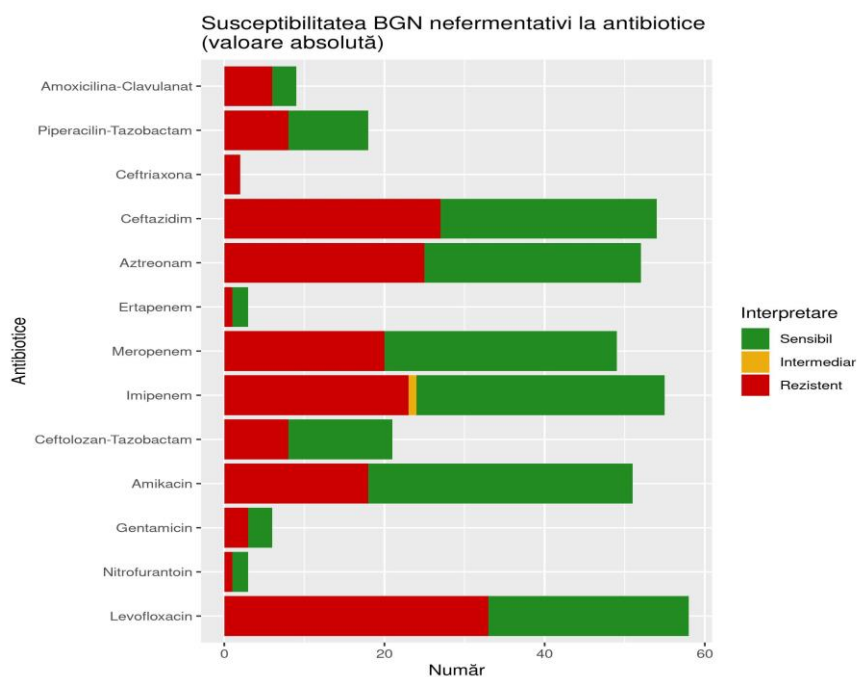
**Figura 4.6 Distribuția susceptibilității bacteriilor din familia Enterobacteriilor la antibiotice**

Rezultatele reprezintă rezultatele înscrise în caietul de laborator și raportate clinicienilor. Pe abscisă sunt înscrise numărul de germeni testați, iar pe ordonată sunt reprezentate antibioticele testate. Culoarea coloanei marchează interpretarea rezultatului pentru fiecare germen: Sensibil, Intermediar sau Rezistent. Interpretarea s-a făcut conform ghidului Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018. Din graficul de mai sus se observă că acești germeni au o sensibilitate crescută la fosfomicinum, carbapeneme și azitromicinum și o rezistență mai ridicată la flurorochinolone(levofloxacinum), cefalosporine și amoxicilina-clavulanată (Fig. 4.6).



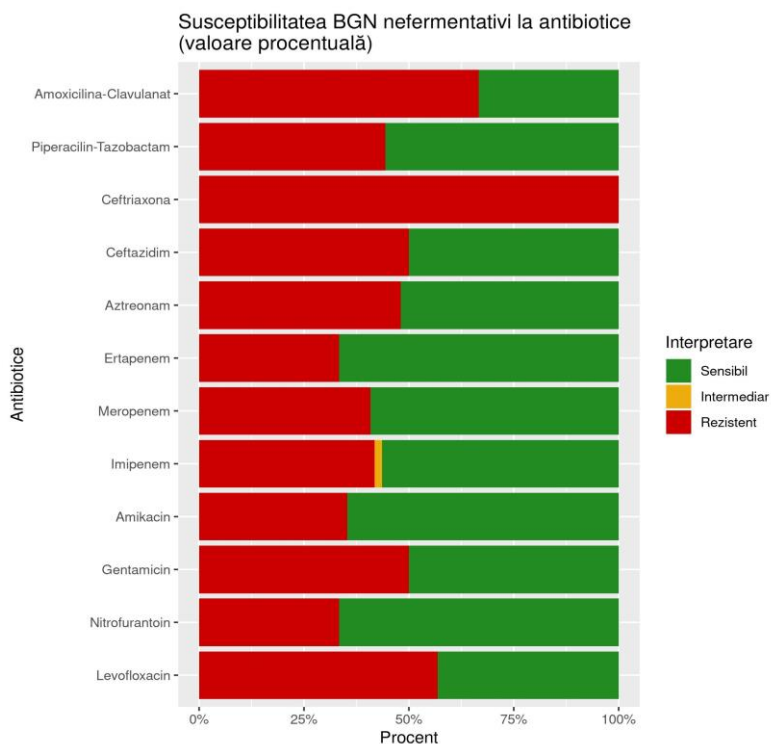
**Figura 4.7 Evaluare procentuală a rezultatelor de testare a susceptibilității la antibiotice a germenilor din familia Enterobacterales**

Rezultatele reprezintă rezultatele înscrise în caietul de laborator și raportate clinicienilor. Pe abscisă sunt înscrise numărul de germeni testați, iar pe ordonată sunt reprezentate antibioticele testate. Culoarea coloanei marchează interpretarea rezultatului pentru fiecare germen: Sensibil, Intermediar sau Rezistent. Interpretarea s-a făcut conform ghidului Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018.



**Figura 4.8** Suscetabilitatea la antibiotice a germeilor non-fermentativi (bacili Gram negativi ce nu metabolizează fermentativ glucoza)

Rezultatele (Fig.4.8) reprezintă rezultatele înscrise în caietul de laborator și raportate clinicienilor. Pe abscisă sunt înscrise numărul de germeni testați, iar pe ordonată sunt reprezentate antibioticele testate. Culoarea coloanei marchează interpretarea rezultatului pentru fiecare germen: Sensibil, Intermediar sau Rezistent. Interpretarea s-a făcut conform ghidului Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018. Bacilii Gram negativi



**Figura 4.9** Suscetabilitatea la antibiotice a germeilor non-fermentativi (bacili Gram negativi ce nu metabolizează fermentativ glucoza)

Culoarea coloanei marchează interpretarea rezultatului pentru fiecare germeni: Sensibil, Intermediar sau Rezistent. Interpretarea s-a făcut conform ghidului Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018.

## CONCLUZII

□ Tulpinile de *E. coli* au fost izolate în peste 70% din cazurile de infecții de tract urinar în ambulator, rata de izolare obținută fiind în general mai mare decât cea raportată în alte zone ale globului, urmate de tulpinile de *Klebsiella sp.* (10.05%) și speciile de *Proteus* (3.28%).

□ Dintre cocii Gram pozitivi, *Str. agalactiae* a fost izolat în 5.97% din cazurile de ITU, cel mai frecvent la femeile însărcinate, iar *Enterococcus sp.* în 4.81% din cazuri, acesta afectând atât bărbații, cât și femeile din toate grupele de vârstă. În schimb, incidența ITU cu *S. saprophyticus* a fost de 0.84%, fiind izolat cu precădere la femeile tinere.

□ Infecția de tract urinar a fost semnificativ mai ridicată la femei (88.29% din ITU diagnosticate în ambulator), iar incidența recurențelor în cadrul acestui studiu, a fost de 46.92%, jumătate din acestea reprezentând reinfecții.

## Cap. 5. Studiu pilot al rezistenței la carbapenemi prin producția de carbapenemaze

Scopul studiului a fost evaluarea tulpinilor de bacili Gram negativi izolați în laboratorul de Microbiologie din cadrul Clinicii de Urologie a Spitalului Clinic „Prof. Dr. Theodor Burghele” într-o perioadă de 3 luni.

### Material si Metoda

Tulpinile au fost reînsămânțate pe mediu de cultură diferențial (mediu CLED sau mediul cromogen UriSelect 4). Acest pas s-a introdus datorită unui inocul multibacterian pentru multe dintre tulpinile evaluate. Datorită imposibilității de standardizare a concentrației inoculului de testat, s-a încercat separarea tulpinilor și testarea separată a bacililor Gram negativi.

### Rezultate

Infecțiile tractului urinar reprezintă cele mai comune și cele mai numeroase infecții investigate în laboratorul de microbiologie. Deoarece în ambulator, de cel mai multe ori aceste infecții sunt tratate empiric, investigarea lor în laboratorul clinic prin identificarea tulpinilor uropatogene circulante și prin stabilirea corectă a sensibilității la antibiotice, contribuie la stoparea emergenței tulpinilor MDR și pan-rezistente.

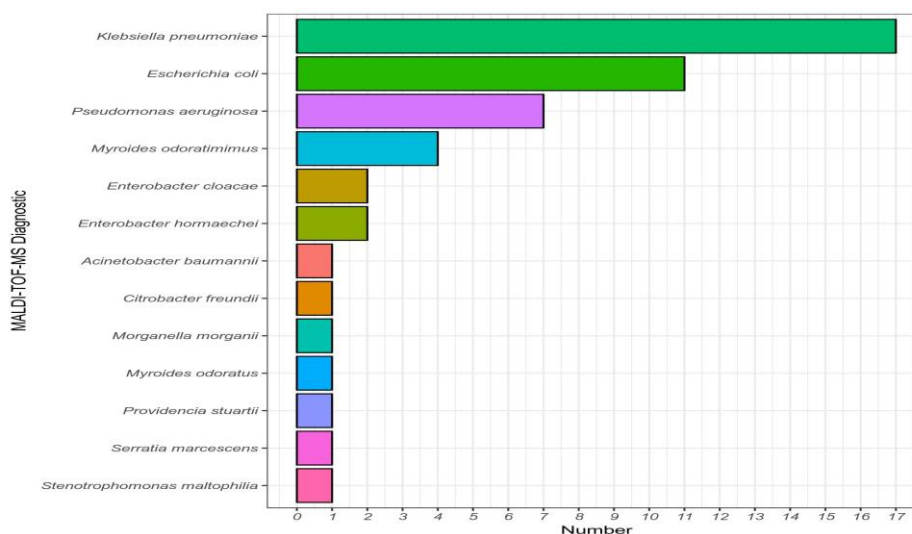
Termenul de MDR semnifică rezistența unei tulpini bacteriene la cel puțin un antibiotic din trei sau mai multe clase distincte de antibiotice, excepție făcând rezistența intrinsecă a fiecărei specii [170].

Rezistența extinsă (XDR), semnifică rezistența unei tulpini bacteriene la cel puțin un antibiotic din mai multe clase distincte de antibiotice, cu excepția uneia sau două clase.

PDR - pan rezistența semnifică rezistența la toți agenții antimicrobieni din toate clasele de antibiotice.

În intervalul de timp al studiului, au fost izolați și evaluați 50 de bacili negativi. Diagnosticul de laborator clasic a identificat următoarele specii bacteriene: Escherichia, Klebsiella, Pseudomonas și Acinetobacter. Bacilii nefermentativi sunt cei ce nu metabolizează fermentativ glucoza și au fost caracterizați ca fiind oxidază pozitivi sau negativi.

Identificarea MALDI-TOF-MS arată un spectru mai mare de genuri bacteriene decât ceea ce ar putea fi identificat prin tehnici clasice (**Figura 5.9**). Astfel, avem o diversitate mai mare care stă la baza speciilor Enterobacter, Citrobacter, Morganella, Providencia și Serratia.



**Figura 5.9** Identificarea speciilor prin metoda MALDI-TOF-MS

Tulpinile au fost evaluate folosind o antibiogramă restrânsă, folosită pentru identificarea tulpinilor potențial producătoare de carbapenemaze (Fig. 5.10).

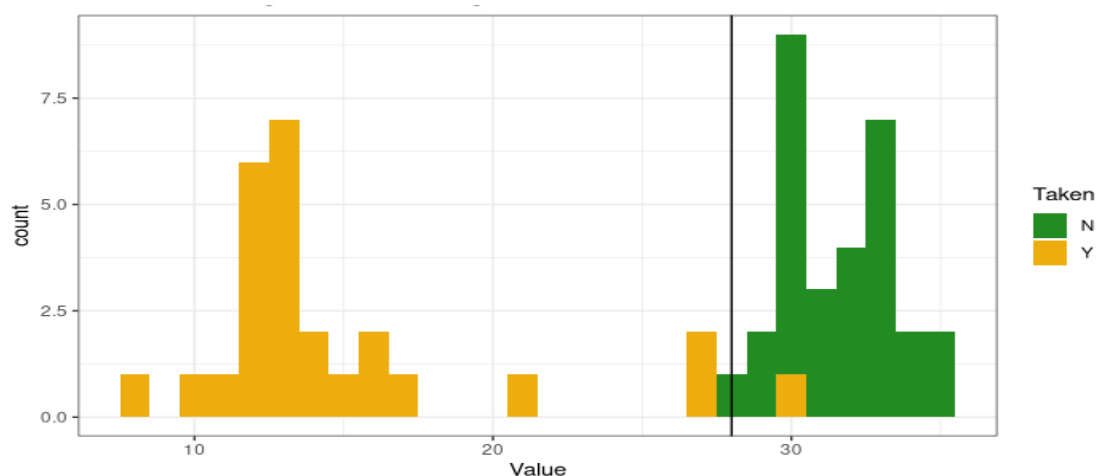


Figura 5.10 Evaluările tip screening cu Meropenem

Rezultate ale evaluării tulpinilor, conform criteriului de screening (depistare) cu Meropenem. Linia verticală reprezintă limita criteriului de screening (Fig 5.11).

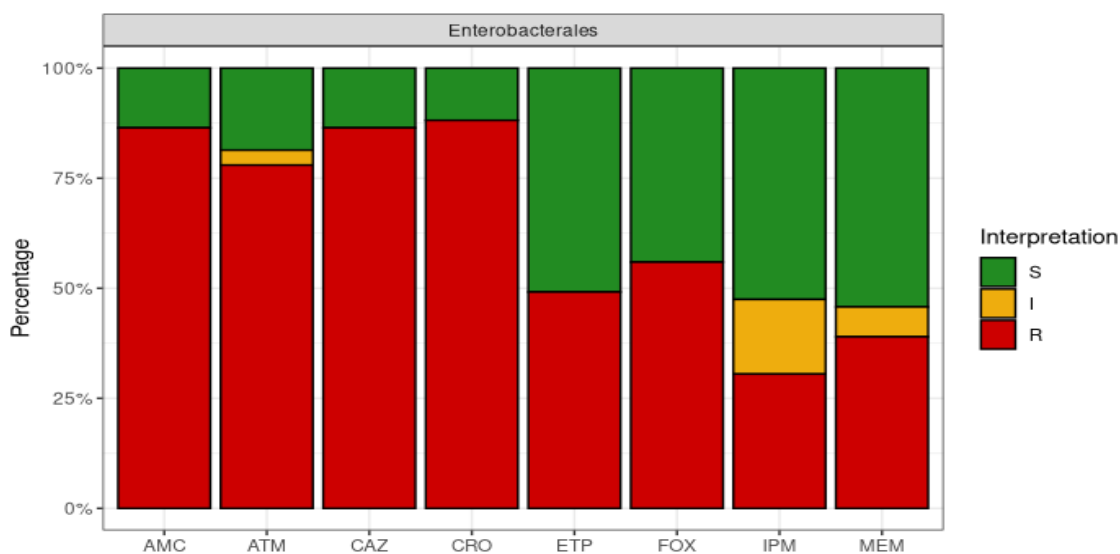


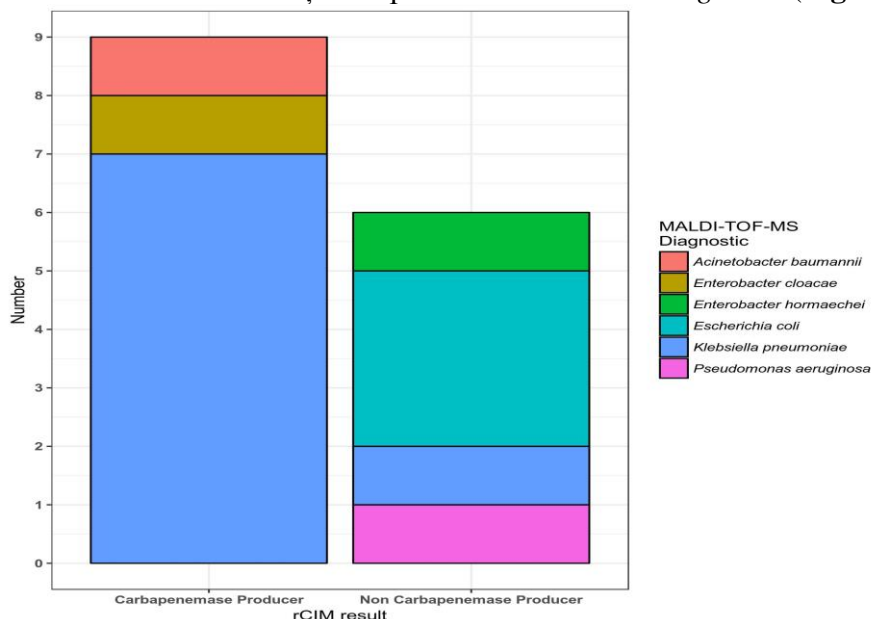
Figura 5.11 Antibiogramă de screening conform criteriilor EUCAST

Din punct de vedere al evaluării antibiogramelor conform criteriilor EUCAST observăm că apare o rezistență marcată la Amoxicilină cu ac clavulanic de peste 80 % posibil datorită unui cost per medicament mai mic și indicația frecventă a acestuia. În contrast antibioticele care au sensibilitatea cea mai ridicată sunt imipenemul și meropenemul (65-70%) antibiotice de indicație și modalitate de administrare limitată.

Interpretarea rezultatelor se face automat folosind software-ul de analiză hybriSoft. Următoarea schemă arată aranjamentele sondelor de pe cipul AMR.

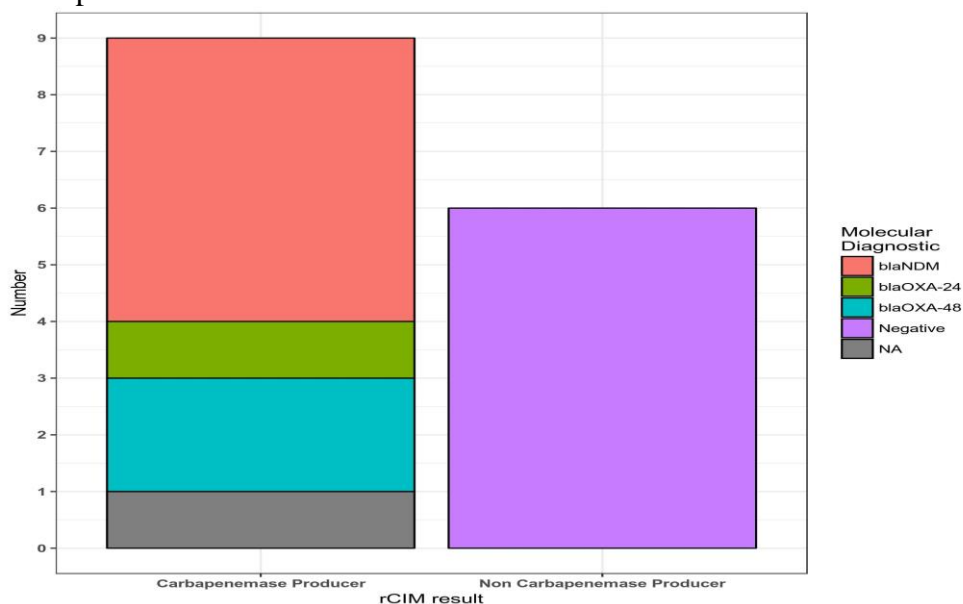
Nouă izolate au fost identificate ca producători de carbapenemază: 7 tulpini *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae* și 1 tulpină *Acinetobacter baumannii*. Au fost alese șase tulpini de control pentru a evalua prezența carbapenemazelor care ar fi negative în cadrul testelor fenotipice de detecție a carbapenemazelor: 3 *Escherichia coli*, 1 *Enterobacter*

*hormachei*, 1 *Enterobacter cloacae* și 1 tulpină *Pseudomonas aeruginosa* (Fig.5.13).



**Figura 5.13 Distribuția bacteriilor în funcție de producția de carbapeneme**

Diagnosticul molecular a arătat prezența blaNDM în 5 izolate, blaOXA-48 în 2 izolate și blaOXA-24 în 1 izolat. Astfel, 4 tulpini *Klebsiella pneumoniae* precum și tulpina *Enterobacter cloacae* au fost pozitive pentru blaNDM, 2 K. tulpinile pneumoniae au fost pozitive ca BlaOXA-48. Tulpina *Acinetobacter baumannii* a fost pozitivă pentru blaOXA-24 și blaOXA-51, aceasta din urmă fiind o carbapenemază naturală. O tulpină de *Klebsiella pneumoniae* hiper-mucoidă nu a dat un rezultat lizibil.



**Figura 5.14 Distribuția genelor carbapenemazelor**

Genele carbapenemazelor identificate în tulpinile pozitive rCIM și controalele negative investigate simultan. O tulpină de *Klebsiella pneumoniae* hiperproducătoare de mucus nu a prezentat rezultate interpretabile (Fig. 5.14).

Acest studiu pilot investighează rezistența la carbapenemele identificate la tulpinile clinice izolate dintr-o clinică de urologie terțiară din București, România. În timp ce un număr mic de tulpini au fost evaluate, acesta arată prezența blaNDM într-un număr de izolate clinice atât din genurile *Klebsiella* cât și din *Enterobacter*. Aceasta se poate datora răspândirii clonale

în comunitate sau transmisiei locale. Izolatele *Klebsiella pneumoniae* au de asemenea un fel de *blaOXA48*, care este carbapenemazul dominant întâlnit în studiile epidemiologice recente din România.

### **Concluzii**

Acest studiu pilot arată peisajul producției de carbapenemază în izolate clinice obținute de la un centru de îngrijire terțiară. Rezultatele trebuie confirmate printr-un studiu mai amplu, inclusiv mai multe probe, într-o perioadă mai largă de timp și metodologie diferită pentru a investiga rezistența.

## Cap. 6. Studiul retrospectiv al incidenței Infecției cu Clostridium Difficile în patologia urologică

**Obiectivul studiului** a fost evaluarea cazurilor cu infecție cu *C. difficile* care au survenit la pacienții urologici internați pentru varii motive.

### Material și Metodă

Am realizat un studiu retrospectiv observațional din Ianuarie 2015 până în Martie 2017 cu includerea a 134 de pacienți care au fost internați pentru patologii urologice și non-urologice și au prezentat diaree asociată cu administrarea de antibiotice. Toți pacienții care au prezentat simptome (definite de mai mult de 2 scaune diareice pe zi, cu sau fără distensie abdominală/durere) le-a fost recoltat probă din scaun și testarea pentru *C. difficile* a fost realizată.

Metoda prin care au fost testate probele a fost utilizând CerTest Clostridium Difficile GDH + Toxina A+B, bazată pe principiul unui test imunogromatografic calitativ pentru determinarea Clostridium Difficile Glutamat Dehidrogenaza (GDH), toxina A și toxina B din probele de scaun [171].

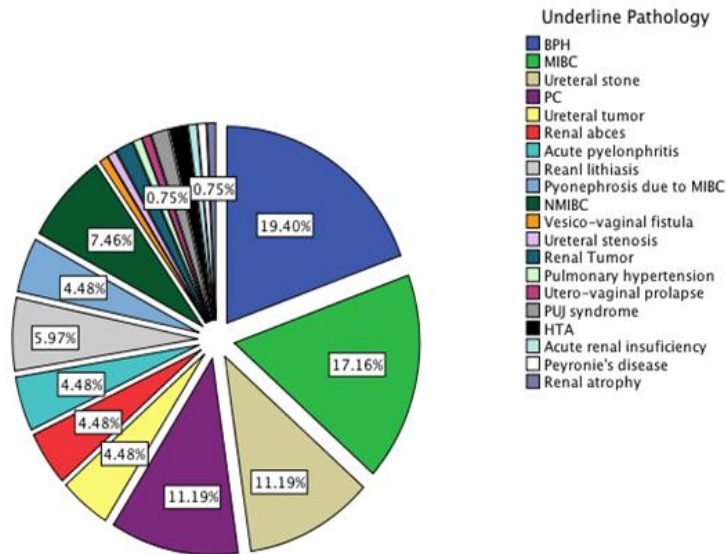
La toți cei 134 de pacienți incluși au fost înregistrate variabile ca vârsta, sexul, patologia concomitentă care a condus la diaree asociată tratamentului antibiotic, numărul de zile de administrare de antibiotic până la apariția simptomelor gastrointestinale, clasa de antibiotice administrată, rezultatul testului Cer Test cu prezența toxinei A, toxinei B sau GDH. Spre deosebire de ghidurile naționale și europene pentru diagnosticul și managementul infecțiilor cu *C. difficile*, am luat în considerare și inclus în studiu pacienții care prezentau diaree și au avut pozitiv doar GDH. Pentru analiza statistică numărul de administrare de antibiotic până la apariția simptomelor a fost grupat în trei categorii: mai puțin de 5 zile, între 6 și 10 zile și mai mult de 11 zile. După analiza grafică, înregistrarea variabilelor în baza noastră de date, s-a făcut analiza statistică folosind IBM SPSS v22.

### Rezultate și Discuții

Analiza statistică a bazei noastre de date care cuprinde 134 de pacienți internați și tratați în spitalul nostru care au dezvoltat infecție cu *C. difficile*, a relevat că au fost 34 (25.4%) femei și 100 (76.4%) bărbați cu vârsta medie de 66.85 ani și o deviație standard de 12.187 ani. Analiza numărului de zile de tratament antibiotic a arătat că au fost necesare 4.77 zile până la debutul simptomelor, cu o deviație standard de 3.02 zile, acest lucru semnificând o gamă largă de variație (Tabelul 6.2).

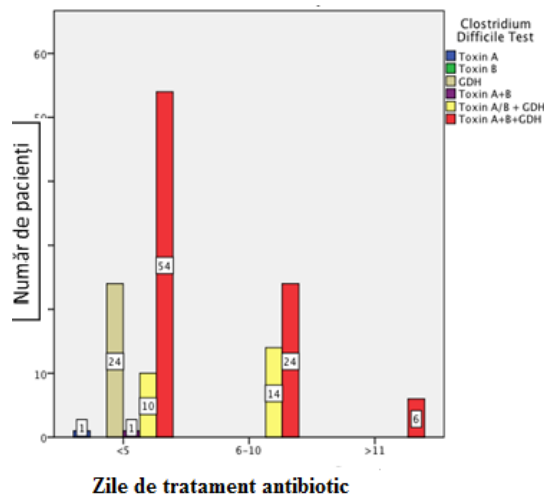
La revizuirea graficului am observat patologia pentru care pacienții au fost internați în spitalul nostru. Rezultatele arată că am avut cu predominanță cazuri urologice de natură obstructivă cu unele forme de infecții de tract urinar asociate. Am identificat ca și cauze principale de internare pacienții cu hiperplazie benignă de prostată (19.4%), cancer vezical invaziv în musculară (17.16%), litiază ureterală (11.19%) și de asemenea cancer de prostată (11.19%) (**Fig. 6.1**).

Există o probabilitate mare de subiectivitate a selecției datorită faptului că acestea sunt patologii predominante găsite în secțiile noastre, de aceea considerăm că aceștia ar putea reprezenta o altă limitare a acestui studiu.



**Figura 6.1. Distribuția patologiei urologice în lotul studiat**

După formarea bazelor de date am grupat variabila ”Zile de tratament antibiotic” în categorii după cum urmează : test pozitiv pentru *C. difficile* în mai puțin de 5 zile de la începutul tratamentului antibiotic , test pozitiv între 6 și 10 zile , și test pozitiv după mai mult de 11 zile.



**Figura 6.2. Infecția cu C. difficile în funcție de numărul de zile de tratament antibiotic**

Un total de 44 de pacienți au fost diagnosticați cu infecție cu *C. difficile* după 6 sau mai multe zile de tratament antibiotic.

Analiza grafică a tipului de antibiotice utilizat a arătat că cele mai răspândite au fost cefalosporinele de generația a treia cu un total de 77 de cazuri (57.5%), urmate de cabapeneme cu număr total de cazuri de 21 (15.7%) și aminoglicozide 17 cazuri (12.7%). Analiza corelației antibioticelor utilizare până la dezvoltarea simptomelor și numărul de zile de tratament antibiotic după grupare a arătat un coeficient Pearson R de 0.235 cu un  $p < 0.006$ .

Efectuarea funcției ANOVA unidirecțional având ca variabile vârsta și numărul de zile de tratament antibiotic a relevat faptul că vârsta nu s-a corelat cu dezvoltarea infecției cu *C. difficile* cu rezultatul funcției ANOVA de  $F=1.434$ ,  $p < 0.226$  ceea ce înseamnă că vârsta nu este un factor de risc pentru infecția cu *C. difficile*. Funcția ANOVA a testului pentru *C. difficile* și

numărul de zile de tratament antibiotic au fost calculate  $F=3.671$ ,  $p<0.007$  ceea ce înseamnă că numărul de zile de tratament antibiotic a fost slab până la moderat asociat cu dezvoltarea infecției cu *C. difficile*.

**Tablelul 6.3.** Cele mai frecvente antibiotice asociate cu infecția cu *C. Difficile*

<b>Tratament antibiotic</b>		
	Frecvența	Procent
Aminoglicozide	17	12,7
Cefalosporine de generatia a3a	77	57,5
Carbapenemi	21	15,7
Floroquinolone	2	1,5
Cefalosporine+ Floroquinolone	8	6,0
Cefalosporine+Aminogloczide	6	4,5
Peniciline	3	2,2
Total	134	100,0

### **Concluzii.**

Majoritatea patologiilor urologice implică o obstrucție a tractului genito-urinar care poate conduce la o infecție. Tratamentul acestor complicații infecțioase implică folosirea antibioticelor cu spectru larg , care poate conduce la dezvoltarea infecției cu *C. difficile* asociată cu diaree. Studiul nostru a urmărit identificarea factorilor potențial de risc pentru dezvoltarea acestor tipuri de manifestări clinice. Au fost înrolați 134 de pacienți la care s-au analizat retrospectiv graficele și s-a descoperit că în spitalul nostru exista o înclinație pentru utilizarea de cefalosporine de generația a treia , carbapenemi și aminoglicozide, lucru care a fost impus de faptul ca majoritatea pacienților au avut infecții severe de tract urinar cu rezistență la antibiotice multiplă. Gruparea pacienților în funcție de numărul de zile până la dezvoltarea simptomatologiei a relevat faptul că majoritatea infecțiilor cu *C. difficile* au apărut in primele cinci zile de la începutul tratamentului antibiotic.

Testarea statistică a ipotezelor conform cărora clasa de antibiotice utilizate și numărul de zile de administrare vor fi direct corelate cu diagnosticul infecției cu *C. difficile* au arătat ca există o corelație statistică scăzută până la moderat în cele două variabile, demonstrând astfel ipoteza noastră. Clasa de antibiotice administrate, de asemenea, se coreleaza moderat cu dezvoltarea acestui tip de infecție nosocomială [172]. Având în vedere concluziile noastre evidențiind punctele slabe ale acestui studiu, concluzionăm că este nevoie de o utilizare mai bună și mai judicioasă a antibioticilor în secțiile de urologie, limitarea sau utilizarea atentă a cefalosporinelor și de asemenea reducerea timpului administrărilor de antibiotice per pacient la minimumul necesar

## Concluzii finale

1. Majoritatea microorganismelor izolate au fost de tip bacili Gram negativi de tip enterobacterii (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*). Microorganismul cel mai frecvent izolat a fost ***Escherichia Coli***, urmat de ***Klebsiella spp*** și ***Proteus spp***.
2. Dintre Gram pozitivi, cea mai întâlnită bacterie, în ordinea frecvenței de izolare, a fost ***Enterococcus spp***, urmată de ***Staphylococcus spp*** și ***Staphylococcus Aureus***.
3. Infecția de tract urinar a fost semnificativ mai ridicată la femei (88.29% din ITU diagnosticate), iar incidența recurențelor în cadrul acestui studiu, a fost de 46.92%, jumătate din acestea reprezentând reinfecții.
4. Identificarea MALDI-TOF-MS arată un spectru mai mare de genuri bacteriene decât ceea ce ar putea fi identificat prin tehnici clasice. Astfel, avem o diversitate mai mare care stă la baza speciilor *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Providencia* și *Serratia*.
5. Din punct de vedere al evaluării antibiogramelor conform criteriilor EUCAST observăm că apare o rezistență marcată la Amoxicilină cu acid clavulanic de peste 80% posibil datorită unui cost per medicament mai mic și indicația frecventă a acestuia. În contrast antibioticele care au sensibilitatea cea mai ridicată sunt imipenemul și meropenemul (65-70%) antibiotice de indicație și modalitate de administrare limitată.
6. Profilul molecular care stă la baza rezistenței la carbapenem devine din ce în ce mai important atât în enterobacterii cât și în non-fermentativi, datorită activității țintite a noilor antibiotice sau a noilor combinații de antibiotice și inhibitori de beta-lactamază.
7. Utilizarea unei PCR multiplex cu spectru larg, are avantajul de a viza atât carbapenemaze foarte răspândite (cele cinci mari: blaKCP, blaNDM, blaVIM, blaIMP și blaOXA-48), cât și carbapenemaze mai puțin întâlnite (carbapenemaze minore, ca blaGES, blaGIM etc.). Aceasta este, de asemenea, o dovadă a conceptului că rCIM este o metodă fezabilă care poate fi utilizată într-un cadru de resurse mediu-scăzut, pentru a completa studiul mecanismelor de rezistență.
8. Necesitatea supravegherii rezistenței bacteriene este susținută de rezultatele acestui studiu care atestă circulația unor tulpini bacteriene MDR, ceea ce poate avea un impact devastator în diseminarea complicațiilor și creșterea numărului recidivelor. Aceasta confirmă rolul important al laboratorului de microbiologie în determinarea corectă a sensibilității la antibiotice, pentru evitarea eșecului terapiei antibacteriene, cu impact favorabil pentru reducerea recurențelor, dar și în prevenirea complicațiilor severe.
9. Evaluarea in vitro a capacității de aderență și a producerii factorilor solubili de virulență la bacteriile uropatogene izolate din ambulator a evidențiat potențialul crescut al acestora de a adera la țesuturile gazdei, de a evita eliminarea lor prin urină și de a se multiplica.
10. **Cefalosporinele** de generația a treia cu un total de 77 de cazuri(57.5%), par să fie cel mai frecvent incriminate în apariția infecției cu *Clostridium Difficile*, urmate de carbapeneme și aminoglicozide.
11. Numărul de zile până la dezvoltarea simptomatologiei a relevat faptul că majoritatea infecțiilor cu *C. difficile* au apărut în primele cinci zile de la începutul tratamentului antibiotic.
12. Vârsta nu este un factor de risc pentru infecția cu *C. difficile*.
13. Este nevoie de o utilizare mai bună și mai judicioasă a antibioticelor în secțiile de urologie, limitarea sau utilizarea atentă a cefalosporinelor și de asemenea reducerea timpului administrărilor de antibiotice per pacient la minimumul necesar. Astfel se poate reduce atât apariția rezistenței la antibiotice, precum și riscul apariției unor complicații redutabile precum infecția cu *C. Difficile*.

## Bibliografie:

1. Wein J. Alan et al., Campbell-Walsh Urology, Eleventh edition, 2016, p:237-304.
2. Asadi, S.; Kargar, M.; Solhjoo, K.; Najafi, A.; Ghorbani-Dalini, S. The association of virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli* with antibiotic resistance. *Jundishapur J. Microbiol.* 2014, 7, e9936 *Intern. Med.* 2001, 135, 41–50. doi:10.7326/0003-4819-135-1-200107030-00012.
3. Stamm WE, Norrby SR, Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis.*, 2001; 183(Supplement\_1): S1-S4.
4. Wagenlehner, F.M.; Naber, K.G.; Weidner, W. Rational antibiotic therapy of urinary tract infections. *Med. Monatsschr. Pharm.* 2008, 31, 385–390
5. Gruneberg, R.N. Antibiotic sensitivities of urinary pathogens 1971–1978. *J. Clin. Pathol.* 1980, 33, 853–856
6. Benedetti P, Rassa M, Pavan G, Sefton A, Pellizzer G. Septic shock, pneumonia, and soft tissue infection due to *Myroides odoratimimus*: report of a case and review of *Myroides* infections. *Infection.* 2011, 39(2):161–5.
7. Yoon J, Maneerat S, Kawai F, et al. *Myroides pelagicus* sp. nov., isolated from seawater in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2006;56(Pt 8):1917–1920.
8. Schröttner P, Rudolph WW, Eing BR, et al. Comparison of VITEK2, MALDI-TOF MS, and 16S rDNA sequencing for identification of *Myroides odoratus* and *Myroides odoratimimus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;79(2):155-159
9. Urosepsis due to Multi Drug Resistant *Myroides odoratimimus*: A Case Report. [International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences](#), august 2017, 6(8):1930-1935.
10. Pompilio A, Galardi G, Verginelli F, Muzzi M, Di Giulio A, Di Bonaventura G. *Myroides odoratimimus* Forms Structurally Complex and Inherently Antibiotic-Resistant Biofilm in a Wound-Like in vitro Model. *Front Microbiol.* 2017;8:2591.
11. Hu S, Yuan S, Qu H, Jiang T, Zhou Y, Wang M, Ming D. Antibiotic resistance mechanisms of *Myroides* sp. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B.* 2016 Mar;17(3):188–99.
12. Pang F, Jia XQ, Zhao QG, Zhang Y. Factors associated to prevalence and treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: a seven years retrospective study in three tertiary care hospitals. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials.* 2018;17(1):13.
13. Dragere S, Vergaund M, Verdon R. Enterococcus gallinarum endocarditis occurring on native heart valves : *J Clin Microbiol* 2002 40: 2308-2310
14. Low D.E. et al 2001 Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility and geographic resistance patterns of enterococci: Results from the SENTRY Antimicrobial surveillance program 1997-1999 *Clin Infect Dis.* 32 Suppl 2:S133-145
15. Lecrecq R. et al Plasmid mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium* *N Eng J Med* 319:157-161 1988
16. Arthur M. – Glycopeptide resistance in enterococci. *Trends Microbiol* 4:401-407
17. Garcia-Carrote F.-Evaluation of a new system VTEK2 for identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci 2000 *J. Clin. Microbiol.* 38:2108-2111
18. Jean-Luc Mainardi. Balance between Two Transpeptidation Mechanisms Determines the Expression of -Lactam Resistance in *Enterococcus faecium*. *The Journal of biological chemistry* 2002, 277. 35 :801

19. Goffin C. Multimodular penicillin binding proteins: an enigmatic family of orthologs and paralogs. *Microbiol mol boil rev* 1998 : 62 1079-1093
20. Arbeloa A. Role of class A penicillin-binding proteins in PBP5s-mediated beta-lactam resistance in *Enterococcus faecalis* J. *Bacteriol*,2004 ; 186:1221-1228
21. Davin-Regli A, Bosi C, Charrel R, Ageron E, Papazian L, Grimont P, Cremieux A, Bollet C. "A Nosocomial Outbreak Due to *Enterobacter cloacae* Strains with the *E. hormaechei* Genotype in Patients Treated with Fluoroquinolones." *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 35, No. 4. Apr. 1997: p. 1008-1010.
22. Fraser, Susan L. "Enterobacter Infections." *eMedicine*. 8 Jan 2007.
23. Hopley, Lara, Schalkwyk, Jo van. "Enterobacter." 29 Sept 2001.
24. Kanemitsu K, Endo S, Oda K, Saito K, Kunishima H, Hatta M, Inden K, Kaku M. "An increased incidence of *Enterobacter cloacae* in a cardiovascular ward." *Jun 2007*; 66(2):130-4
25. Keeney D, Ruzin A, Bradford PA. "RamA, a transcriptional regulator, and AcrAB, an RND-type efflux pump, are associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Enterobacter cloacae*." 2007 Spring; 13(1):1-6
26. Joseph F. John, Jr., Robert J. Sharbaugh and Edward R. Bannister. "Enterobacter cloacae: Bacteremia, Epidemiology, and Antibiotic Resistance." *Reviews of Infectious Diseases*. Vol. 4, No. 1 (Jan. - Feb., 1982), pp. 13-28.
27. Chatterjee, M., Anju, C.P., Biswas, L., Anil Kumar, V., Gopi Mohan, C., Biswas, R., Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *Int J Med Microbiol*, 2016 :306, 48–58.
28. Lee CY, Lee HF, Huang FL, Chen PY. Haemorrhagic bullae associated with a chicken scratch. *Ann Trop Paediatr* 2009;29:309–11.
29. Hui Liu 1, Junmin Zhu 1, Qiwen Hu, Xiancai Rao. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *International Journal of Infectious Diseases* 50 (2016) 10–17
30. Klockgether, J., Cramer, N., Wiehlmann, L., Davenport, C.F., Tummeler, B. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiol Rev* 35, 2011 : 652–680
31. Chatterjee, M., Anju, C.P., Biswas, L., Anil Kumar, V., Gopi Mohan, C., Biswas, R. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *Int J Med Microbiol* 2016 ; 306, 48–58.
32. Breidenstein, E.B., de la Fuente-Nunez, C., Hancock, R.E., 2011. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol* 19, 419–426.
33. Bergogne-Berezin et al., „*Acinetobacter* spp. As nosocomial pathogens: microbiological, clinica land epidemiological features. *Clin. Microiol.* 1996 Rev. 9:148-165.
34. Peleg A. Y., Seifert H., Paterson D. L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 21, 538–582
35. Lin M. F., Lan C. Y. (2014). Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from bench to bedside. *World J. Clin. Cases.* 2, 787–814. 10.12998/wjcc.v2.i12.787
36. McConnell M. J., Actis L., Pachon J. (2013). *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 130–155.
37. Boucher H. W., Talbot G. H., Bradley J. S., Edwards J. E., Gilbert D., Rice L. B., et al. . (2009). Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 48, 1–12.

38. Carricajo A, Boiste S, Thore J, Aubert G, Gille Y, Freydière AM. Comparative evaluation of five chromogenic media for detection, enumeration and identification of urinary tract pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 796-803
39. Maki DG, Hennekens CG, Phillips CW, Shaw WV, Bennett JV. Nosocomial urinary tract infection with *Serratia marcescens*: an epidemiologic study. *J Infect Dis* 1973; 128: 579-587
40. Aucken HM, Pitt TL. Antibiotic resistance and putative virulence factors of *Serratia marcescens* with respect to O and K serotypes. *J Med Microbiol* 1998; 47: 1105-1113
41. Lai HC, Soo PC, Wei JR, Yi WC, Liaw SJ, Horng YT, Lin SM, Ho SW, Swift S, Williams P. The RssAB two-component signal transduction system *Serratia marcescens* regulates swarming motility and cell envelope architecture in response to exogenous saturated fatty acids. *J Bacteriol* 2005; 187: 3407-3414
42. Shanks RM, Stella NA, Kalivoda EJ, Doe MR, O'Dee DM, Lathrop KL, Guo FL, Nau GJ. A *Serratia marcescens* OxyR homolog mediates surface attachment and biofilm formation. *J Bacteriol* 2007; 189: 7262-7272
43. Galac MR, Lazzaro BP. Comparative pathology of bacteria in the genus *Providencia* to a natural host, *Drosophila melanogaster*. *Microbes Infect* 2011; 13: 673-83.
44. O'Hara CO, Brenner FW, Miller JM. Classification, identification, and clinical significance of *Providencia*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 534-536.
45. Ramkumar R, et al. Description of *Providencia vermicola* isolated from diseased Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). *Aquaculture*, 2014; 420-421: 193-197.
46. Archer GL, Polk RE. TREATMENT AND PROPHYLAXIS OF BACTERIAL INFECTIONS. In: Harrison's Infectious Diseases. ; 2010.
47. Ocampo PS, Lázár V, Papp B, et al. Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58(8): 4573-4582. doi:10.1128/AAC.02463-14
48. Peterson E, Kaur P. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Relationships Between Resistance Determinants of Antibiotic Producers, Environmental Bacteria, and Clinical Pathogens. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2928. doi:10.3389/fmicb.2018.02928
49. Davies J. Vicious circles: looking back on resistance plasmids. *Genetics*. 1995; 139(4): 1465-1468. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7789752>. Accessed August 1, 2019.
50. Fishman N. Antimicrobial Stewardship. *Am J Med*. 2006; 119(6): S53-S61. doi:10.1016/j.amjmed.2006.04.003
51. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Eurosurveillance*. 2008; 13(47): 19045. doi:10.2807/ese.13.47.19045-en
52. Ecdc. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. 2017. doi:10.2900/230516
53. Antibiogram Hardcover – 28 Feb 2011 by Patrice Courvalin (Editor), Roland Leclercq (Editor), Louis B. Rice (Editor)
54. Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Science progress* [Internet]. 2002 [cited 2019 Jul 21]; 85(Pt1): 5772.
55. Couto I, Wu SW, Tomasz A, de Lencastre H. Development of Methicillin Resistance in Clinical Isolates of *Staphylococcus sciuri* by Transcriptional Activation of the *mecA* Homologue Native to the Species. *Journal of Bacteriology*

- [Internet]. 2003 Jan 15 [cited 2019 Jul 21];185(2):645–53.
56. Kanafani ZA, Corey GR. Ceftaroline: a cephalosporin with expanded Gram-positive activity. *Future microbiology* [Internet]. 2009 [cited 2019 Jul 21];4(1):25–33.
  57. Zhanel GG, Lam A, Schweizer F, Thomson K, Walkty A, Rubinstein E, Gin AS, Hoban DJ, Noreddin AM, Karlowksy JA. Ceftobiprole: a review of a broad-spectrum and anti-MRSA cephalosporin. *American journal of clinical dermatology* [Internet]. 2008
  58. Felmingham D, Brown DF, Soussy CJ. European Glycopeptide Susceptibility Survey of gram-positive bacteria for 1995. European Glycopeptide Resistance Survey Study Group. *Diagnostic microbiology and infectious disease* [Internet]. 1998 [cited 2019 Jul 28];31(4):563–71.
  59. Clark NC, Weigel LM, Patel JB, Tenover FC. Comparison of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Michigan and Pennsylvania. *Antimicrobial agents and chemotherapy* [Internet]. 2005 [cited 2019 Jul 28];49(1):470–2.
  60. Saha B, Singh AK, Ghosh A, Bal M. Identification and characterization of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Kolkata (South Asia). *J Med Microbiol*. 2008;57(Pt 1):72-79. doi:10.1099/jmm.0.47144-0
  61. Arbeloa A. et al 2004 Role of class A penicillin-binding proteins in PBP5s-mediated beta-lactam resistance in *Enterococcus faecalis* J. *Bacteriol* 186:1221-1228
  62. Jean-Luc Mainardi et al (2002). Balance between Two Transpeptidation Mechanisms Determines the Expression of  $\beta$ -Lactam Resistance in *Enterococcus faecium*. *The Journal of biological chemistry*. 277. 35801
  63. Gordon S. et al 1992 Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States *J Clin Microbiol* 30: 2373-2378
  64. Breidenstein, E.B., de la Fuente-Nunez, C., Hancock, R.E., 2011. *Pseudomonas* Silby, M.W., Winstanley, C., Godfrey, S.A., Levy, S.B., Jackson, R.W., 2011. *P. aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol* 19, 419–426.
  65. El-Shaer, S., Shaaban, M., Barwa, R., Hassan, R., 2016. Control of quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* using phenylalanine arginyl betanaphthylamide. *J Med Microbiol* 65, 1194–1204.
  66. Wolter, D.J., Lister, P.D., 2013. Mechanisms of beta-lactam resistance among *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Pharm Des* 19, 209–222.
  67. Rawat, D., Nair, D., 2010. Extended-spectrum beta-lactamases in Gram negative bacteria. *J Glob Infect Dis* 2, 263–274.
  68. Omigie O, Okoror L, Umolu P, Ikuuh G. Increasing resistance to quinolones: A four-year prospective study of urinary tract infection pathogens. *Int J Gen Med*. 2009;2:171–175. Published 2009 Dec 29. doi:10.2147/ijgm.s2641
  69. Lin M. F., Lan C. Y. (2014). Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from bench to bedside. *World J. Clin. Cases*.2, 787–814. 10.12998/wjcc.v2.i12.787
  70. Jeong H. W., Cheong H. J., Kim W. J., Kim M. J., Song K. J., Song J. W., et al. . (2009). Loss of the 29-kilodalton outer membrane protein in the presence of OXA-51-like enzymes in *Acinetobacter baumannii* associated with decreased imipenem susceptibility. *Microb. Drug Resist.*15, 151–158. 10.1089/mdr.2009.082
  71. Kim JH, Cho EH, Kim KS, Kim HY, Kim YM (1998). Cloning and nucleotide sequence of the DNA gyrase *gyrA* gene from *Serratia marcescens* and characterization of mutations in *gyrA* of quinolone-resistant clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 42: 190- 193.

72. Weigel LM, Steward CD, Tenover FC (1998). *gyrA* mutations associated with fluoroquinolone resistance in eight species of Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 42: 2661-2667
73. Kumar A, Worobec EA (2002). Fluoroquinolone resistance of *Serratia marcescens*: involvement of a proton gradient-dependent efflux pump. *J. Antimicrob. Chemother.*, 50: 593-596
74. Ramirez MS, Tolmasky ME. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat.* 2010 Dec;13(6):151–71.
75. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009 Jan;22(1):161–82.
76. Sinescu I. et al., *Tratat de Urologie*, Editia I, 2008, Editura medicala, Cap. 9 Infectiile tractului urinar, p:877-929
77. Long B, Koyfman A. The Emergency Department Diagnosis and Management of Urinary Tract Infection. *Emerg. Med. Clin. North Am.* 2018 Nov;36(4):685-710
78. Lala V, Minter DA. Acute Cystitis. [Updated 2020 May 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459322/>
79. Lutay, N., et al. Bacterial control of host gene expression through RNA polymerase II. *J Clin Invest*, 2013. 123: 2366.
80. Becknell B., Schober M., Korbel L., Spencer J.D. The diagnosis, evaluation and treatment of acute and recurrent pediatric urinary tract infections. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2015;13(1):81–90.
81. Steiner C, Barrett M, Weiss A. HCUP projections: *Clostridium difficile* hospitalizations 2001 to 2013. HCUP Projections Report #2014-01. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality, 2014 (<http://hcup-us .ahrq .gov/reports/ projections/2014-03 .pdf>).
82. Chitnis AS, Holzbauer SM, Belflower RM, et al. Epidemiology of community associated *Clostridium difficile* infection, 2009 through 2011. *JAMA Intern Med* 2013;173: 1359-67.
83. Benea S, Popescu GA, Badicut I, Florea D, Petrache D, Gavrilu L, et al. *Clostridium difficile* infections hospitalized in Romanian Institute of Infectious Diseases during the first three months of 2012. Poster Presentation, 4th International *C. difficile* Symposium, September 20th to 22 th, Bled, Slovenia.
84. Rafila A, Indra A, Popescu GA, Wewalka G, Allerberger F, Benea S, Badicut I, Aschbacher R, Huhulescu S (2014) Occurrence of *Clostridium difficile* infections due to PCR ribotype 027 in Bucharest, Romania. *J Infect Dev Ctries* 8:694-698. doi: 10.3855/jidc.4435.
85. Lofgren ET, Cole SR, Weber DJ, Anderson DJ, Moehring RW. Hospital-acquired *Clostridium difficile* infections: estimating all-cause mortality and length of stay. *Epidemiology* 2014; 25: 570-5.
86. Feuerstadt P, Das R, Brandt LJ. The evolution of urban *C. difficile* infection (CDI): CDI in 2009-2011 is less severe and has better outcomes than CDI in 2006-2008. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 1265-76.
87. Sailhamer EA, Carson K, Chang Y et al. Fulminant *Clostridium difficile* colitis: patterns of care and predictors of mortality. *Arch Surg* 2009; 144: 433–9.
88. Hall J.F., Berger D. Outcome of colectomy for *Clostridium difficile* colitis: a plea for early surgical management. *Am J Surg.* 2008; 196:384-388.
89. Earhart M.M. The identification and treatment of toxic megacolon secondary to pseudomembranous colitis. *Dimens Crit Care Nurs.* 2008;27:249-254.
90. Chopra T, Miller M, Severson R et al. ATLAS - A Bedside Scoring System – Predicting Mortality Due to *Clostridium Difficile* Infection (CDI) in Elderly

- Hospitalized Patients. P452, 49th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America, 2010.
91. Popescu GA, Szekely E, Codiță I, Tălăpan D, Șerban R, Ruja G. Ghid de diagnostic, tratament și prevenire a infecțiilor determinate de clostridium difficile (Ediția a 2-a). MS 2016. ISBN 978-973-0-022285-2.
  92. Vonberg RP, Kuijper EJ, Wilcox MH, et al. Infection control measures to limit the spread of Clostridium difficile. Clin Microbiol Infect 2008; 14: Suppl 5: 2-20.
  93. Dancer SJ, Kirkpatrick P, Corcoran DS, Christison F, Farmer D, Robertson C. Approaching zero: temporal effects of a restrictive antibiotic policy on hospital-acquired Clostridium difficile, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing coliforms and methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Int J Antimicrob Agents 2013; 41:137-42.
  94. Bischoff WE, Reynolds TM, Sessler CN, Edmond MB, Wenzel RP. Handwashing compliance by health care workers: the impact of introducing an accessible, alcohol-based hand antiseptic. Arch Intern Med 2000; 160: 1017-21.
  95. Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, et al. Use of probiotic Lactobacillus preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. BMJ 2007; 335: 80.
  96. Chifiriuc, M.C., Mihăescu, G., Lazăr, V., 2011. Microbiologie și virologie medicală, Editura universității din București. p:352-355.
  97. O'Brien VP, Hannan TJ, Schaeffer AJ, Hultgren SJ, Are you experienced? Understanding bladder innate immunity in the context of recurrent urinary tract infection, Curr Opin Infect Dis. Author manuscript; available in PMC 2015 August 1.
  98. Randrianirina F, Soares JL, Carod JF, Ratsima E, Thonnier V, Combe P, Grosjean P, Talarmin A., Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in Antananarivo, Madagascar, J Antimicrob Chemother. 2007 Feb;59(2):309-12. Epub 2006 Nov 29.
  99. Surawicz, C.M., et al., Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. Am J Gastroenterol, 2013. 108(4): p. 478-98; quiz 499., Planche, T.D., et al., Differences in outcome according to Clostridium difficile testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of C difficile infection. The Lancet Infectious Diseases, 2013. 13(11): p. 936-945
  100. Leffler, D.A. and J.T. Lamont, Clostridium difficile infection. N Engl J Med, 2015. 372(16): p. 1539-48.].

**Listă lucrari:**

Characterization of the Mechanisms Underpinning Carbapenem Resistance in a Tertiary Urology Clinical Hospital - a Pilot Study. I. Sandu, M.M. Muntean, C. Dumitrescu Toma, A.A. Muntean, M. Preda, C.C. Dragomirescu, M.I. Popa, V. Jinga. Romanian Journal of Urology nr. 4 / 2019, vol 18.

Urological Pathology Complicated by Infection with Clostridium Difficile: Retrospective Analysis of Cases and Risk Factors. I. Sandu, G. Predoiu, R.A. Danau, R.C. Petca, B. Braticevici, C. Toma Dumitrescu, V. Jinga. Romanian Journal of Urology nr. 4 / 2017, vol 16.