

CZU: 614.34-008.314.4

DOI: 10.46727/c.v1.18-19-03-2023.p290-295

STRUCTURA ETIOLOGICĂ A BACTERIILOR DIN FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE CARE PROVOACĂ BOLI DIAREICE ACUTE

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF BACTERIA FROM THE FAMILY ENTEROBACTERIACEAE CAUSING ACUTE DIARRHEA DISEASES

*Nadejda Guțu, Instituția Medicală Sănătate Publică AMT Buiucani
Universitatea de Stat din Moldova, Școala Doctorală, Științe Biologice, Geonomice, Chimice și
Tehnologice*

*Nadejda Guțu, Public Health Medical Institution AMT Buiucani
State University of Moldova, Doctoral School, Biological, Geonomic, Chemical and Technological
Sciences*

ORCID: 0000-0002-0010-7700, nadejda_gutu@mail.ru

Abstract. The research was carried out between 2019 and 2021, in the microbiological laboratory of Public Health Medical Institution AMT Buiucani. During the study period, 1738 samples were processed, 347 strains (19.96%) were isolated and 12 etiological agents from the Enterobacteriaceae family were identified: 58.3% – conditionally pathogenic (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Escherichia coli haemolytica*, *Morganella* spp.), 16.7% – pathogenic (*Shigella* spp., *Salmonella* spp.) and 25% – gram negative non-fermentative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp.). From the total number of positive samples, the largest share of conditionally pathogenic microorganisms belongs to *Klebsiella* spp. (43.8%), among pathogenic – *Salmonella* spp. (2.59%), among the causative agents of enterocolitis *Pseudomonas aeruginosa* species (6.92%). Positive results for the presence of etiological agents were reported both in adults and in children 0-17 years old, constituting 63.98% and 36.02% respectively. The highest proportion of enterobacteria strains both in adults and in children 0-17 belongs to *Klebsiella* spp. – 38.3% and 53.6% respectively. During the study period, the dominant among microorganisms from the Enterobacteriaceae family was the genus *Klebsiella*, the share of which varied between 41.03% and 47.97%.

Keywords: acute diarrheal diseases, causative agent, Enterobacteriaceae

Introducere

Boala diareică acută (BDA) este una din cele mai comune boli infecțioase din lume, având entitate nozologică plurietiologică. Prezintă particularități etiologice și evolutive în funcție de zona geografică, condițiile economice, sezonabilitate, determinând la nivel global peste 500 de milioane de cazuri noi anual. Acest grup de maladii prezintă o problemă majoră de sănătate publică, atât prin frecvența înaltă, cât și prin manifestările clinice grave [1]. Bacteriile din familia Enterobacteriaceae atât patogene, cât și condiționat patogene, potrivit Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) și Fondului Națiunilor Unite Pentru Copii (UNICEF) provoacă în întreaga lume anual aproximativ 2 miliarde de cazuri de boli diareice [5].

Familia Enterobacteriaceae cuprinde cel puțin 27 de genuri și 127 de specii, la care se mai adaugă 8 grupuri enterice. Fiind controversată, taxonomia familiei Enterobacteriaceae este supusă unor schimbări permanente. Bacteriile din familia Enterobacteriaceae se caracterizează printr-o eterogenitate pronunțată, fiind, pe de o parte, reprezentanți ai microflorei umane normale tranzitorii și, pe de altă parte, agenți patogeni ai bolilor infecțioase [6]. În prezent, în toate țările lumii există o activizare a microorganismelor condiționat patogene (MCP). În același timp, ponderea bolilor infecțioase, cauzate de enterobacteriile condiționat patogene, inclusiv bacteriile *Klebsiella* spp., în

structura generală a BDA de etiologie stabilită, după datele diferitor autori variază de la 12,8% - 21,2% până la 34,1% [8, 9]. *Enterobacter* spp. provoacă boli gastrointestinale și se întâlnește în sol, apă și produse alimentare [4]. Enterobacteriile patogene *Salmonella* spp., *Shigella* spp., etc. de asemenea sunt responsabile pentru milioane de cazuri de boli transmise prin produse alimentare. În țările în curs de dezvoltare, bolile cauzate de acești agenți patogeni sunt nu numai cele mai răspândite, dar sunt și asociate cu o rată mai mare a mortalității [2]. Diagnosticul infecțiilor intestinale acute cauzate de MCP sunt bazate pe datele clinice și de laborator, inclusiv identificarea microorganismul și creșterea titrului [3].

Organizației Mondiale a Sănătății în a. 2011 a inclus bacteriile condiționat patogene *Klebsiella* spp. în lista microorganismelor, care pot provoca infecții intestinale cu transmitere pe cale hidrică printre contingentul cu imunitate slăbită [10].

În Republica Moldova, morbiditatea sumară prin BDA (malul drept) s-a micșorat de la 509,4 la 100 mii în a.2019 până la 113,5 în a.2020 (a.2020 – 113,5), iar în a.2021 s-a înregistrat o creștere a morbidității până la 170,1. Indicii morbidității sumare prin BDA, inclusiv raioanele de Est, la fel sunt în creștere, în a.2021 – 203,6 (cu 41,1%), față de anul precedent (a.2020 – 144,2% a.2019 – 559,1%, la 100 mii populație). Creșterea morbidității în a.2021 se atestă la majoritatea nozologiilor: salmoneloze – cu 20,6%, escherihioze – cu 15,7%, inclusiv cu *E. coli haemolytica* – cu 40,3%; enterite, colite, gastroenterite provocate de agenți determinați – de 1,83 ori. Ponderele copiilor 0-17 ani (malul drept) în structura morbidității prin BDA în a.2021 a constituit 64,4% (a.2020 – 62,5%, a.2019 – 59,6%), fiind în creștere față de anii precedenți [7].

Scopul acestui studiu constă în identificarea microorganismelor din familia Enterobacteriaceae dominante în structura etiologică a bolilor diareice acute.

Materialle și metode

Cercetările au fost efectuate în perioada anilor 2019-2021. În total au fost investigate 1738 de probe clinice (mase fecale) în laboratorul microbiologic din Instituția Medicală Sănătate Publică (IMSP) AMT Buiucani.

Investigațiile bacteriologice au fost efectuate conform Ghidului practic de microbiologie medicală (1997), recomandat de Ministerul Sănătății [6]. Metoda bacteriologică de identificare a microorganismelor din familia Enterobacteriaceae presupune omogenizarea a 1 g material biologic cercetat cu 2 ml soluție salină sterilă NaCl 0,9%, apoi inocularea ulterioară pe mediile de cultura prin metoda striurilor perpendiculare și incubarea la $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, timp de 24 ore. După perioada de incubare la coloniile de microorganisme crescute au fost examinate macroscopic caracterele de cultura și biochimice (după tipurile de colonii lactozo-negative). Pentru identificarea (după tipul coloniei S, M, sau R) și izolarea în cultură pură a enterobacteriilor au fost utilizate medii nutritive diferențiale (Liofilchem diagnostic, Italy): Endo agar, Citrat agar, Simmons agar, Acetat agar, Kligler Iron agar, UTI ChromoSelect Agar, Agar-sulfid de bismut și Geloză sânge [6].

Analiza și interpretarea grafică a rezultatelor s-a efectuat, utilizând programele Microsoft Excel și Word.

Rezultate și discuții

Pe parcursul perioadei de studiu în total au fost investigate 1738 de probe clinice, identificate 347 de tulpini (19,96%) și izolate 12 microorganisme, dintre care 7 tulpini (58,3%) – condiționat patogene (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp.,

Escherichia coli haemolytica, *Morganella* spp.), 2 tulpini (16,7%) – patogene (*Shigella* spp., *Salmonella* spp.) și 3 tulpini (25%) – gram negative nefermentative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp.).

Din numărul total de probe pozitive ponderea cea mai mare a microorganismelor condiționat patogene îi revine *Klebsiella* spp. cu 43,8% (152 tulpini), iar cota celorlalte microorganisme a variat între 16,43% (*Enterobacter* spp.) și 1,15% (*Serratia* spp.) (Fig.1). Microorganismele patogene *Salmonella* spp. și *Shigella* spp. au avut o pondere de 2,59% și 0,86% respectiv. Printre agenții cauzali al enterocolitei ponderea cea mai mare a avut-o specia *Pseudomonas aeruginosa* cu 6,92% (24 tulpini), urmată de *Acinetobacter* spp. cu 1,15% (4 tulpini) și *Aeromonas* spp. – 0,29% (1 tulpină).

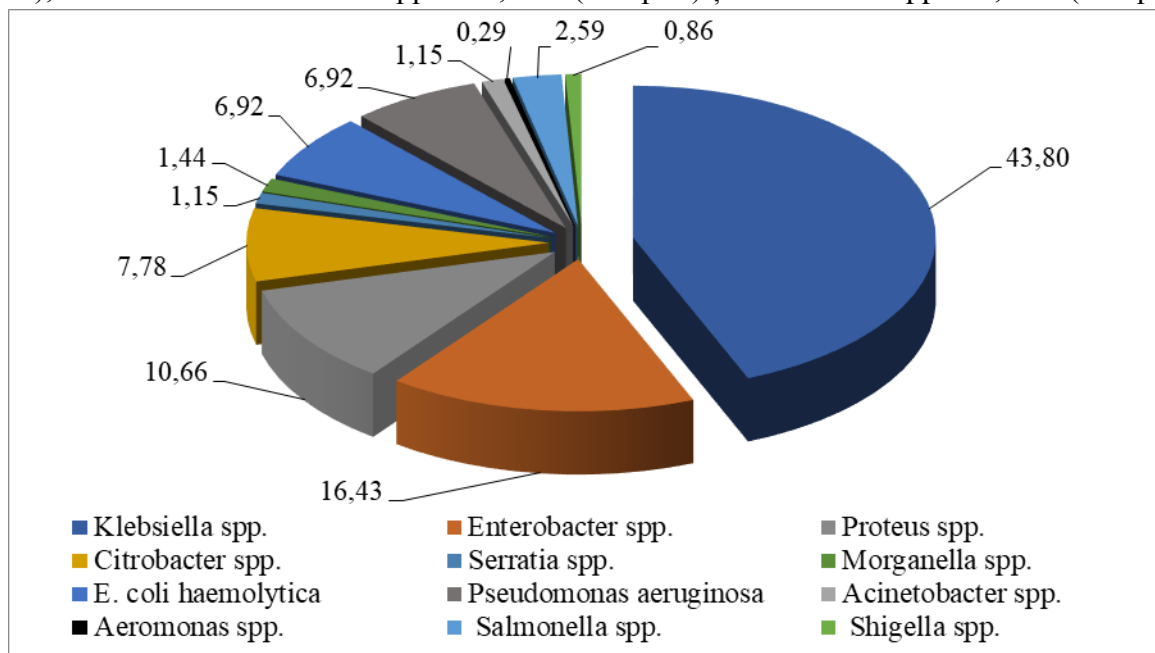


Fig. 1. Spectrul tulpinilor din familia Enterobacteriaceae izolate în perioada anilor 2019-2021, IMSP AMT Buiucani

Analiza repartizării datelor în dependență de vârstă denotă, că rezultate pozitive la prezența agenților etiologici din familia Enterobacteriaceae au fost semnalate atât la maturi, cât și la copii 0 - 17 ani. Astfel, din 347 (19,96%) probe pozitive 222 tulpini (63,98%) – la maturi și 125 de tulpini (36,02%) revin copiilor 0 - 17 ani.

Din probele clinice ale persoanelor mature au fost izolați 12 agenți etiologici. Ponderea cea mai mare a tulpinilor de enterobacterii de asemenea a revenit *Klebsiella* spp. cu cca 38%, *Enterobacter* spp. – 17,12%, *Proteus* spp. – 10,36%, iar cele mai mici valori au revenit microorganismelor *Aeromonas* spp. – 0,45%, *Serratia* spp. – 0,90% și *Shigella* spp. – 1,35% (Fig.2).

Din probele clinice ale copiilor 0 – 17 ani au fost izolați doar 8 agenți etiologici. Din numărul total de probe ponderea cea mai mare a revenit tulpinilor *Klebsiella* spp., constituind cca 53%, *Enterobacter* spp. – 15,2% și *Proteus* spp. – 11,2%. Cele mai mici valori au revenit microorganismelor *Serratia* spp. și *Salmonella* spp. a câte 1,6% (Fig.2).

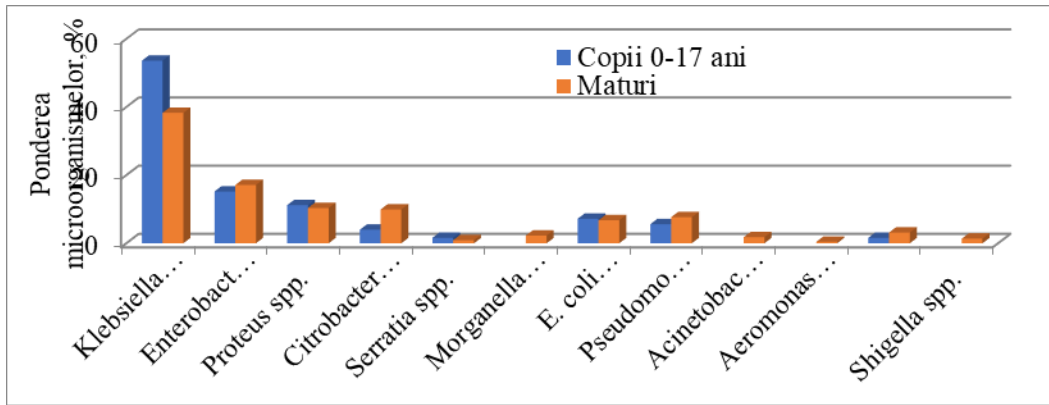


Fig. 2. Spectrul tulpinilor din familia Enterobacteriaceae izolate în dependență de vârstă în perioada anilor 2019-2021, IMSP AMT Buiucani

Evaluând rezultatele obținute s-a constatat, că în anul 2019 au fost izolate 117 tulpini din 804 probe de material biologic investigat, ponderea probelor pozitive constituind 14,55%. În perioada menționată au fost izolate 9 tulpini de enterobacterii. Tulpina dominantă a fost *Klebsiella* spp. cu 41,03% (n=48 tulpini) din numărul total de probe pozitive. *Enterobacter* spp. și *Proteus* spp. au avut o pondere a câte 14,53% (n=17) fiecare, urmate de specia *E. coli haemolytica* cu 10,26% (n=12). Cele mai puțin întâlnite tulpini au fost *Morganella* spp. (n=3) și *Shigella* spp. (n=2), constituind o pondere de 2,56% și 1,71% respectiv (Fig.3).

În anul 2020 din 349 probe de material biologic investigat au fost izolate 107 tulpini, constituind o pondere de 30,66% probe pozitive. Din numărul total de probe pozitive au fost izolate 12 microorganisme de enterobacterii. În perioada de cercetare dominant de asemenea a fost *Klebsiella* spp. cu cca 42% (n=45 tulpini), urmat de *Enterobacter* spp. – 17,76% (n=19), speciile *E. coli haemolytica* – 11,21% (n=12), *Pseudomonas aeruginosa* – 6,54% (n=7) și *Proteus* spp. – 5,61% (n=6) din numărul total de probe pozitive. Microorganismele *Citrobacter* spp., *Serratia* spp. și *Acinetobacter* spp. au fost izolate în număr de 4 (3,74%) tulpini fiecare, *Morganella* spp. și *Salmonella* spp. – a câte 2 tulpini (1,87%) și *Aeromonas* spp., *Shigella* spp. le revenea câte o tulpină, cu o pondere de 0,93% fiecare.

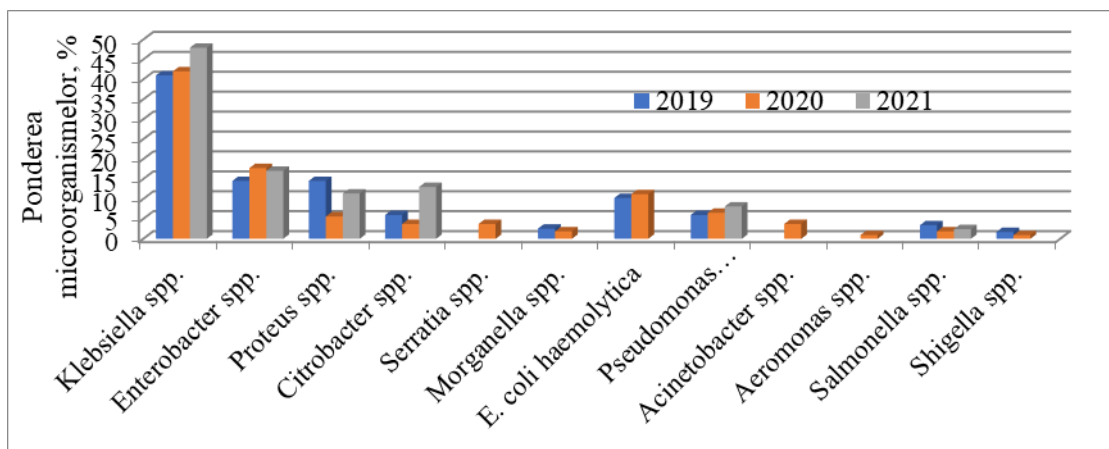


Fig. 3. Dinamica tulpinilor din familia Enterobacteriaceae determinate în perioada anilor de studiu 2019-2021, IMSP AMT Buiucani

În anul 2021 din 585 material biologic investigat au fost izolate 123 de tulpini, constituind o pondere de 21,03% probe pozitive. S-a constatat că în anul 2021 diversitatea microorganismelor a fost cea mai mică (n=6). Remarcăm, că din numărul total de probe pozitive, ca și în ceilalți ani de studiu dominantă a fost *Klebsiella* spp. cu cca 47% (n=59 tulpini), urmată de *Enterobacter* spp. cu 17,07% (n=21), *Citrobacter* spp. – 13,01% (n=16), specia *Pseudomonas aeruginosa* – 8,13% (n=10) și cele mai puține tulpini au fost izolate de *Salmonella* spp. – 2,44% (n=3).

Analizând rezultatele obținute constatăm următoarele: în anul 2020 au fost investigate cele mai puține probe, însă diversitatea microorganismelor din familia Enterobacteriaceae, care provoacă boli diareice acute a fost cea mai mare și numărul de tulpini izolate au fost cele mai multe, comparativ cu anii 2019 și 2021.

O importanță deosebită au programele de informare a populației privind măsurile de prevenire a BDA și necesitatea solicitării asistenței medicale în caz de boală, care pot contribui semnificativ la reducerea surselor de infecție în populație și limitarea răspândirii cazurilor noi de boală.

Concluzii

În perioada de cercetare în IMSP AMT Buiucani au fost prelucrate 1738 de probe, izolate 347 de tulpini (19,96%) și identificați 12 agenți etiologici din familia Enterobacteriaceae: 7 tulpini (58,3%) condiționat patogene (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *E. coli haemolytica*, *Morganella* spp.), 2 tulpini (16,7%) – patogene (*Shigella* spp., *Salmonella* spp.) și 3 tulpini (25%) – gram negative nefermentative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp.).

Din numărul total de probe pozitive ponderea cea mai mare a microorganismelor condiționat patogene îi revine *Klebsiella* spp. cu 43,8%, celor patogene – *Salmonella* spp. cu 2,59% și dintre agenții cauzali al enterocolitei speciei *Pseudomonas aeruginosa* – cu 6,92%.

Rezultate pozitive la prezența agenților etiologici au fost semnalate atât la maturi, cât și la copii 0-17 ani, constituind 63,98% și 36,02% respectiv. Ponderea cea mai mare a tulpinilor de enterobacterii atât la maturi, cât și la copii 0-17 îi revine *Klebsiella* spp. – 38,3% și 53,6% respectiv.

La persoanele mature au fost izolați 12 agenți etiologici, iar la copii 0-17 ani – 8, ponderea cea mai mare a tulpinilor de enterobacterii atât la maturi, cât și copii 0-17 ani îi revine *Klebsiella* spp. – 38,3% și 53,6% respectiv.

Pe perioada de studiu dominant printre microorganismele din familia Enterobacteriaceae a fost *Klebsiella* spp., ponderea a variat între 41,03% și 47,97%.

Cercetarea a fost realizată în cadrul proiectului doctoral cu tema „Agenții patogeni ai bolilor diareice acute – particularități morfo-culturale, metode de identificare, antibioticorezistența și dinamica răspândirii în municipiul Chișinău”.

Bibliografie

1. BUIUC, D.; NEGUȚ, M. *Tratat de Microbiologie Clinică ediția III-a revizuită și adăugită. Diagnosticul de laborator al sindromului diareic infecțios*. Editura Medicală, București, 2017, p. 327-362. ISBN: 9789733905936.
2. DEKKER, J. P.; FRANK, K. M. *Salmonella, Shigella, and Yersinia. Clinics in laboratory medicine*. 2015, 35(2), p. 225–246. DOI:10.1016/j.cll.2015.02.002.
3. EVTODIENCO, V.; BURDUNIUC, O.; COJOCARU, R.; et al. *Diagnosticul microbiologic al infecțiilor intestinale: (Indicații metodice)*. Chișinău: Print-Caro, 2013, 90 p. ISBN 978-9975-56-103-7.

4. EVTODIENCO, V.; COJOCARU, R.; BURDUNIUC, O.; BUZATU, A.; COTEȚ, O.; ȘEVCIUC, S. Boala diareică acută: probleme și perspective. În: *Curierul medical*. 2010, 3(315), 185-189. ISSN 1875-0666.
5. FARTHING, M.; SALAM, M. A.; LINDBERG, G.; DITE, P.; KHALIF, I.; SALAZAR-LINDO, E.; RAMAKRISHNA, B. S.; GOH, K-L.; THOMSON, A.; KHAN, A.G.; KRABSHUIS, J.; LEMAIR, A. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *Journal of clinical gastroenterology*. 2013, 47(1), p. 12-20. ISSN: 0192-0790. DOI: 10.1097/MCG.0b013e31826df662 (IF:1.375).
6. GALEȚCHI, P.; BUIUC, D.; PLUGARU, Ș. *Ghid practic de microbiologie medicală*. I.E.P. Știința, Chișinău, Editura Tehnică București, 1997, 471 p. ISBN 9975670091.
7. JELAMSCHI, N.; GUȘTIUC, V.; ȘALARU, I.; CUMPĂNĂ, M.; et al. Supravegherea de stat a sănătății publice în Republica Moldova: (Raport național, 2021). Chișinău: Agenția Națională pentru Sănătate Publică, (ANSP), 2022 (acces:www.ansp.md). p. 125-126. ISBN 978- 9975-4027-7-4.
8. MUKHERJEE, S.; NAHA, S.; BHADURY, P.; SAHA, B.; DUTTA, M.; DUTTA, S.; BASU, S. Emergence of OXA-232-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ST23 causing neonatal sepsis. În: *J Antimicrob Chemother*. 2020 Jul 1, 75(7): 2004-2006. doi: 10.1093/jac/dkaa080. (IF:5.79).
9. RUSU, G.; JURAVLIOV, T.; VĂMĂȘESCU, A.; et al. *Boala diareică acută la copil. Protocol clinic național*. Chișinău. Ediția – I „T-PAR” SRL, 2009, 68 p.
10. WHO Guidelines for Drinking-Water Quality, 4th ed. Vol. 1: Recommendations. Geneva: World Health Organizations; 2011, p. 242-243.