

Epidemiology of pathogens isolated from blood cultures processed at the “Salam Center for Cardiac Surgery” in Khartoum (Sudan)

Margherita Scapaticci¹, Nino Di Pietro²

¹ Ospedale di cardiocirurgia “Salam Center” di Khartoum, Sudan

² Ospedale civile “G. Bernabeo” di Ortona, ASL Chieti Lanciano Vasto

Key words: Blood culture, Bacteraemia, Bacteria identification, Sensitivity test, Critically ill patients

Epidemiologia dei patogeni isolati da emocolture eseguite in un anno presso il centro di cardiocirurgia “Salam Center” (Sudan)

SUMMARY

Introduction. Sepsis is a systemic inflammatory response to infection and it is a common cause of morbidity and mortality particularly in elderly, immunocompromised and critically ill patients.

Blood culture represents the gold standard for bacteraemia diagnosis.

Aim of our study was to assess Gram positive and Gram negative microorganisms isolated from bloodcultures collected from patients hospitalized in “Salam Center for Cardiac Surgery” of Khartoum (Sudan).

Methods. The study was conducted from april 2008 and march 2009. In this period we analyzed 328 samples collected from hospitalized patients already operated or waiting for surgery, presenting fever of unknown origin (temperature >38°C).

We analyzed at least 3 bloodcultures for each patient, which were incubated at 37°C for 8-10 days. During the incubation period the bottles were periodically examined for macroscopic evidence of growth and the laboratory staff performed blind subcultures after 48 h one from each other starting from the inoculation time. The isolated bacteria were finally tested for antibiotics sensitivity.

Results. Of 328 bloodcultures processed 57 were positive (17.4%), of whom 40.3% caused by gram positive microorganisms and 59.7% by gram negative. The identification tests showed that among gram positive-related infections those caused by *MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus)* predominated (65.2%), while the most prevalent causative agents among gram negative-related infections were *Enterobacter* spp. (20.6%), *Serratia* spp. (14.7%), *Pseudomonas* spp (8.8%) and *Escherichia coli* (8.8%).

Conclusion. In this study we observed that the most frequent isolates were *MRSA*, whereas no infection caused by *CNS (Coagulase-negative Staphylococci)* was revealed. Susceptibility tests showed presence of presumptive extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Enterobacteriaceae* and that aminoglycosides were the most effective antibiotics against both Gram positive and Gram negative bacteria. The infection process interested patients already operated more than patients waiting for surgery.

INTRODUZIONE

La sepsi, risposta infiammatoria sistemica dell'infezione, rappresenta ancor oggi la maggiore causa di morbilità e mortalità nei pazienti critici nonostante i progressi delle terapie antibiotiche e negli approcci clinici (10). La diagnosi precoce ed il trattamento adeguato delle batteriemie sono dunque molto importanti e l'emocoltura ha un ruolo centrale nei laboratori di microbiologia in qualità di *gold standard* per diagnosticare episodi di batteriemia in pazienti con febbre (11, 12).

Scopo del nostro lavoro è valutare l'incidenza dei microrganismi aerobi Gram positivi e Gram negativi isolati da emocolture eseguite presso il centro di cardiocirurgia “Salam Center” di Khartoum (Sudan) nel periodo aprile 2008-marzo 2009,

ponendo attenzione anche sulla sensibilità agli antibiotici delle specie patogene maggiormente riscontrate.

MATERIALI E METODI

Nell'arco di tempo considerato sono stati analizzati 328 campioni di pazienti ricoverati, operati o in attesa di essere sottoposti ad intervento di cardiocirurgia o cateterismo, presentanti febbre da origine ignota ($T > 38^\circ\text{C}$). Per ogni paziente sono stati prelevati, durante il picco febbrile, almeno 3 campioni di 5 o 10 ml di sangue, a seconda che si trattasse di bambini o di adulti rispettivamente, a distanza di 15-30 minuti l'uno dall'altro e da distinti siti corporei, al fine di poter discriminare eventuali contaminazioni (falsi positivi) (5, 16,

Corresponding author: Margherita Scapaticci

Ospedale “G. Bernabeo” di Ortona - Asl Chieti Lanciano Vasto

Cell.: 3403065670

E-mail: marghe2081@libero.it

18). Il sangue è stato inoculato dal personale infermieristico direttamente in reparto in apposite bottiglie sterili per emocoltura contenenti BHI (Brain Heart Infusion) oppure TSA (Tryptose Soy Agar). Una volta giunte in laboratorio, le emocolture sono state incubate a 37°C per 8-10 gg. (3, 7, 10, 17). I campioni sono stati monitorati periodicamente durante il periodo d'incubazione dal personale del laboratorio per la presenza di eventuali segni di crescita batterica, quali intorbidimento del terreno, inoltre sono state eseguite, a giorni alterni, sottocolture a cieco su terreni Agar Sangue Comune e Mc Conkey (19, 20).

In caso di crescita batterica è stata effettuata dapprima la colorazione di Gram di un vetrino allestito con le colonie cresciute su terreno solido oppure con una goccia di sangue prelevata sterilmente direttamente dalla bottiglia di emocoltura.

In presenza di crescita di batteri Gram positivi sono stati eseguiti i *test* di identificazione della coagulasi plasmatica e della catalasi.

In presenza di crescita di batteri Gram negativi è stata effettuata invece l'identificazione mediante utilizzo del sistema API 20 E/NE (bioMérieux) (1). Dopo l'identificazione è stata effettuato il *test* di sensibilità agli antibiotici mediante metodo di diffusione in agar da disco (Kirby-Bauer) allestito su Mueller Hinton Agar secondo i Criteri NCCLS e CLSI (3).

I pannelli degli antibiotici saggiati negli antibiogrammi, che rappresentano quelli disponibili per le terapie nel centro, sono mostrati nella Tabella 1. Per la valutazione della oxacillino/meticillino-resistenza nei ceppi di *S. aureus* (9) è stato utiliz-

zato il saggio mediante dischetti di oxacillina secondo le linee guida del CLSI (3). Settimanalmente sono stati inoculati campioni di batteri con profili fenotipici noti per verificare l'efficacia dei terreni di coltura e dei dischetti di antibiotici utilizzati.

RISULTATI

Su un totale di 328 campioni di emocoltura pervenuti in laboratorio ne sono risultate positive 57, pari al 17.4% dei campioni analizzati e le diverse specie microbiche rivelate attraverso i *test* di identificazione sono così ripartite: tra i Gram positivi, pari al 40.3% del totale, il 65.2% è rappresentato da MRSA, mentre il restante 34.8% da MSSA Meticillin Susceptible *S. aureus* (Tabella 2).

Tra i batteri Gram negativi (59.7% delle emocolture positive rivelate) sono stati invece isolati un 20.6% appartenenti ad *Enterobacter* spp., un 14.7% di *Serratia* spp., 8.8% *Pseudomonas* spp., 8.8% *Escherichia coli*, 47% altro.

Il saggio della sensibilità agli antibiotici dei ceppi isolati ha evidenziato per gli MRSA una sensibilità pari al 100% nei confronti dell'antibiotico gentamicina e del 93.33% verso l'amikacina, seguite da una sensibilità del 75% alla ciprofloxacina. Il totale dei ceppi di MRSA isolati risulta invece essere resistente ad oxacillina ed eritromicina.

I batteri Gram negativi nella loro totalità hanno mostrato un profilo di resistenza agli antibiotici abbastanza omogeneo, presentando una sensibilità pari al 100% nei confronti di amikacina e gentamicina, ed elevate percentuali di sensibilità anche per quanto riguarda le cefalosporine di III

Tabella 1. Distribuzione degli antibiotici saggiati negli antibiogrammi a seconda del tipo di batterio isolato

Gram positivi		Gram negativi
<i>Staphylococcus aureus</i>	altri	
Va, G, E, Cf, Amox/clav ac., Ak, Ox	Va, G, E, Cf, Amox/clav ac., Ak	Ctx, Caz, Ak, Amox/clav ac., G, I, Cf, E

Ak = amikacina, G = gentamicina, E = eritromicina, Caz = ceftazidime, Ctx = ceftriaxone, I = imipenem, Amox/clav ac = amoxicillina/ac. clavulanico, Ox = oxacillina, Cf = ciprofloxacina, Va = vancomicina

Tabella 2. Distribuzione dei ceppi Gram positivi e Gram negativi isolati in questo studio

Gram positivi (40.3%)		Gram negativi (59.7%)	
65.2%	MRSA	20.6 %	<i>Enterobacter</i> spp.
34.8%	MSSA	14.7%	<i>Serratia</i> spp.
		8.8 %	<i>Pseudomonas</i> spp.
		8.8%	<i>E. coli</i>
		47.1 %	altro

Tabella 3. Percentuali di sensibilità agli antibiotici testati in vitro per le specie batteriche maggiormente isolate

Microrganismo isolato	% dei ceppi isolati	Ak	G	Va	Ox	Cf	E	I	Amox/clav ac.	Caz	Ctx
MRSA	26.7%	93.3%	100%	N.T.	0%	75%	0%	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
Gram negativi	59.7%	100%	100%	N.T.	N.T.	75%	N.T.	80%	0%	82%	72%

(N.T. = Non Testato)

generazione, quali ceftazidime (82%) e ceftriaxone (72%), ed i fluorochinoloni, come la ciprofloxacina (75%). Hanno invece mostrato una resistenza pari al 100% verso i glicopeptidi (vancomicina) e l'amoxicillina associata ad acido clavulanico (Tabella 3).

CONCLUSIONI

Dai dati ottenuti si evince che i microrganismi più frequentemente isolati tra i Gram positivi appartengono al gruppo degli MRSA (2), mentre non si sono rilevate infezioni da *Stafilococco* coagulasi-negativo. Tra i batteri Gram negativi prevalgono invece le infezioni da *Enterobacter* spp. (20.6%). I test di sensibilità agli antibiotici hanno anche evidenziato la presenza di un 22% di *Enterobacteriaceae* produttrici di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL), che cioè risultano resistenti ad almeno una delle due cefalosporine di III generazione (ceftazidime e ceftriaxone) saggiate contemporaneamente nell'antibiogramma del ceppo enterobatterico isolato e che rappresenta il cosiddetto "test di screening per la rivelazione di ESBL nelle *Enterobacteriaceae*" (3, 8). Purtroppo però non è stato possibile, per motivi logistici legati all'impossibilità di reperire in loco alcuni materiali di diagnosi microbiologica, confermare tale resistenza mediante test di conferma.

Tutti i Gram negativi cresciuti si sono mostrati sensibili agli aminoglicosidi ed in larga percentuale ai fluorochinoloni, inefficace è risultata invece l'amoxicillina in associazione con l'acido clavulanico.

Al contrario, tutti i batteri di MRSA isolati hanno mostrato sensibilità agli aminoglicosidi e sono risultati in larga percentuale sensibili anche ai fluorochinoloni, inefficaci nei loro confronti invece si sono dimostrati i macrolidi, come l'eritromicina.

Dai dati ottenuti si evidenzia inoltre che le infezioni riscontrate interessano maggiormente pazienti post-operati (70.2%), piuttosto che pazienti in attesa di subire l'intervento, lasciando ipotizzare che probabilmente i pazienti critici sono esposti a rischio più elevato di contrarre infezioni ospedaliere a causa di patologie sottostanti e della presenza di dispositivi invasivi quali il tubo endotracheale e il CVC (Catetere Venoso Centrale) (1, 13), inoltre l'alta percentuale di emocolture negative potrebbe essere attribuita ad eventuali terapie antibiotiche empiriche alle quali sono sottoposti i pazienti ricoverati prima o durante il periodo di raccolta dei campioni (15).

BIBLIOGRAFIA

1. Blazevic DJ, Trombley CM, Lund ME. Inoculation of API20E from positive blood culture. *J Clin Microbiol* 1997; 4: 522-3.
2. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 781-91.
3. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standard for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplement. 2005; 25 (1): M100-S15.
4. Darby JM, Linden P, Pasculle W, et al. Utilization and diagnostic yield of blood cultures in a surgical intensive care unit. *Crit Care Med* 1997; 25: 989-94.
5. Grace CJ, Liebermann J, Pierce K, et al. Usefulness of blood cultures for hospitalized patients who are receiving antibiotic therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 31: 1651-5.
6. Karchmer AW. Nosocomial bloodstream infections: organisms, risk factors, and implications. *Clin Infect Dis* 2000; 31 (Suppl 4): 139-43.
7. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2829-31.
8. Luzzaro F, Gesu G, Pagani L, Rossolini GM. Diagnostica delle β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) nelle *Enterobacteriaceae*: problemi e raccomandazioni nella realtà epidemiologica italiana. *Microb Med* 2007; 22 (4): 281-90.
9. Marra AR, Edmond MB, Forbes BA, Wenzel RP, Bearman GM. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcome of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1342-6.
10. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *The New England Journal of Medicine* 2003; 348 (16): 1546-54.
11. Mylotte JM, Tayara A. Blood Cultures: Clinical Aspects and Controversies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 157-63.
12. Peters RPH, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PHM, Christina MJE. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *Infect Dis* 2004; 4: 751-60.
13. Reimer LG. Catheter-related infections and blood cultures. *Clin Lab Med* 1994; 14: 51-8.
14. Reimer LG, Wilson ML, Winstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10 (3): 444-65.
15. Shafazand S, Weinacker MD. Blood cultures in the critical care unit: improving utilization and yield *CHEST* 2002; 122: 1727-36.
16. Clinical and laboratory Standards institute. Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. M47-A. wayne PA. *Clinical and Laboratory Standard Institute*, 2007.
17. Washington JA. Collection, transport, and processing of blood cultures. *Clin Lab Med* 1994; 14: 59-68.
18. Weinbaum FI, Lavie S, Danek M, Sixsmith D, Heinrich GF, Mills SS. Doing it right the first time: quality improvement and contaminant blood culture. *Journal of Clinical Microbiology* 1997; 35: 563-5.
19. Winstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. *Clin Infect Dis* 1996; 24: 40-6.
20. Wilson ML. Continuous-monitoring blood culture systems. A.S.C.P. Check Sample MB93-9 (MB-230). *Clin Microb Rev* 1997; 444-65.