



## Artigo original

## PADRÃO DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE *ENTEROBACTERIACEAE* ISOLADAS NO HOSPITAL CENTRAL DE MAPUTO, MOÇAMBIQUE 2009–2010

Leonel G. S. Monteiro<sup>1</sup>, Tomás F. Zimba<sup>2</sup> e Mohsin M. Sidat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Eduardo Mondlane, Moçambique

<sup>2</sup>Hospital Central de Maputo, Moçambique

**RESUMO:** Resistência aos Antimicrobianos (RA) em muitas espécies bacterianas é um crescente problema de saúde pública em muitos países. Assim, em 2009, o Laboratório do Hospital Central de Mauto introduziu a ferramenta WHONET para monitorar RA em bactérias isoladas de amostras clínicas rotineiras. Este estudo descreve o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de isolados de *Enterobacteriaceae* do Hospital Central de Maputo (HCM). Foi realizada uma análise descritiva usando dados do HCM no WHONET. *Enterobacteriaceae* isoladas de pacientes internados e ambulatoriais, atendidos no HCM entre Outubro de 2009 e Outubro de 2010 foram testadas pelo método de difusão de discos de Kirby-Bauer para determinação da susceptibilidade a quinze antibióticos. Os dados foram analisados usando WHONET e Epi-Info. Um total de 813 *Enterobacteriaceae* foi isolado, sendo mais frequentes *Klebsiella* spp. (34.7%), *Escherichia coli* (31.5%) e *Proteus* spp. (10.0%). A maioria dos isolados foi de pacientes internados (83.1%), maioritariamente das enfermarias de Pediatria (55.5%) e Medicina (23.8%). Foram observadas altas taxas de resistência, principalmente para amoxicilina (89,7%), ampicilina (89,3%) e amoxicilina/ácido clavulânico (73.6%). A taxa de resistência de isolados de pacientes internados foi significativamente maior do que a dos pacientes ambulatoriais ( $p < 0,05$ ) para os seguintes antibióticos: amoxicilina, ceftazidima, gentamicina e nitrofurantoína. Os resultados desta análise mostram uma grande proporção de RA em isolados de *Enterobacteriaceae* e destacam a necessidade de implementação de um sistema de vigilância adequado para RA em bactérias causadoras de infecções que são comumente observadas no ambiente hospitalar, como o de Moçambique.

**Palavras-chave:** *Enterobacteriaceae*, resistência, agentes antimicrobianos, vigilância, Moçambique.

## PATTERN OF ANTIMICROBIAL SENSITIVITY OF *ENTEROBACTERIACEAE* ISOLATES FROM MAPUTO CENTRAL HOSPITAL, MOZAMBIQUE 2009–2010

**ABSTRACT:** Antimicrobial resistance (AR) of many bacterial species is a growing public health problem in many countries. There is scarcity of evidence regarding antibacterial resistance in Mozambique. Thus, the laboratory of Maputo Central Hospital (MCH) introduced in 2009 the WHONET tool for monitoring AR among bacteria isolated from routine clinical specimens. This study describes the antimicrobial susceptibility profile of *Enterobacteriaceae* isolates from MCH. A descriptive analysis was conducted using data from MCH in WHONET. *Enterobacteriaceae* isolates from inpatients and outpatients, attended at MCH between October 2009 and October 2010, were tested by Kirby-Bauer disk diffusion method to determine susceptibility to fifteen antibiotics. Data were analyzed using WHONET and Epi-Info. In total, 813 *Enterobacteriaceae* isolates were identified, the most frequent being *Klebsiella* spp. (34.7%), *Escherichia coli* (31.5%) and *Proteus* spp. (10%). The majority of isolates came from inpatient wards (83.1%), largely from pediatrics (55.5%) and medicine (23.8%) wards. High rates of resistance to antimicrobial agents were observed, principally for amoxycillin (89.7%), ampicillin (89.3%) and amoxycillin/clavulanic acid (73.6%). The proportion of isolates showing drug resistance was significantly greater for inpatient isolates compared to outpatients ( $p < 0.05$ ) for the following antibiotics: amoxycillin, ceftazidime, gentamicin and nitrofurantoin. The result of this analysis shows greater proportions of AR among *Enterobacteriaceae* isolates and highlights the need to implement suitable surveillance system for AR of bacteria causing infections that are commonly observed in clinical setting like the one in Mozambique.

**Keywords:** *Enterobacteriaceae*, antimicrobial agents, surveillance, Mozambique.

Correspondência para: (correspondence to:) govilee@gmail.com.

## INTRODUÇÃO

A resistência aos agentes antimicrobianos é um fenómeno crescente entre bactérias, levando à emergência de microrganismos multi-droga resistentes, constituindo assim um problema de saúde pública (WHO, 2001). A circulação de bactérias resistentes nos hospitais, as falhas no tratamento, o tratamento empírico inadequado, são alguns dos factores associados à resistência aos antimicrobianos (TENOVER, 2006). Assim, torna-se importante estabelecer um sistema de vigilância hospitalar de estirpes bacterianas resistentes aos antibióticos, de forma a que os dados gerados sirvam de guia para as práticas de controlo e tratamento das infecções.

Devido ao aumento acentuado das prevalências de resistências antimicrobianas no mundo inteiro, bem como a carência de drogas modernas para o seu controlo, as bactérias Gram negativas constituem um grupo de particular interesse (BARTOLONI *et al.*, 2004 e VLIEGHE *et al.*, 2009). Dentro deste grupo de patógenos humanos, os membros da família *Enterobacteriaceae* estão entre os mais importantes. Destas, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, e *Serratia marcescens* têm sido mais frequentemente associadas às infecções tanto na comunidade como em ambiente hospitalar (KARLOWSKY *et al.*, 2003), e o seu tratamento tem sido empírico, baseado em guiões elaborados sem evidência laboratorial (PITOUT e LAUPLAND, 2008).

O conhecimento do padrão de sensibilidade aos antibióticos é essencial, não apenas para definição de políticas de tratamento e controlo de infecções a nível local, mas também para orientar a necessidade de desenvolvimento de novas drogas (WOODFORD *et al.*, 2005). Porém, dados sobre resistências aos antibióticos continuam escassos em países em desenvolvimento, particularmente Moçambique. Para preencher este vazio, este estudo descreveu o padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos de

*Enterobacteriaceae* isoladas no Hospital Central de Maputo num período de um ano, constituindo assim um contributo para orientação da definição de práticas clínicas locais, políticas de saúde, priorização de recursos e criação de bases para realização de outros estudos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo transversal descritivo que recorreu aos dados correspondentes ao período de Outubro de 2009 a Outubro de 2010 do sector de Microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Maputo, Moçambique. Estes dados foram obtidos a partir do sistema de gestão de dados WHONET introduzido neste laboratório em 2009. WHONET é uma ferramenta electrónica para introdução, análise e interpretação de dados da resistência de bactérias aos antimicrobianos (WHONET, World Health Organization). O sistema é composto por três partes fundamentais, a saber: *configuração do laboratório; entrada e análise de dados; e relatório de dados de resistência* (STELLING e O'BRIEN, 1997).

De referir que o HCM é um hospital de referência, com cerca de 1.500 camas e possui um laboratório de análises clínicas (LAC) que apoia no diagnóstico. O sector de Microbiologia examina amostras de pacientes internados e os seguidos em ambulatório.

Amostras de pacientes internados e em ambulatório, de ambos os sexos e de todas as idades foram processadas através de métodos microbiológicos padronizados usados no sector (cultura, identificação e teste de susceptibilidade aos antibióticos [TSA]). O TSA foi executado pelo método de difusão de discos de Kirby-Bauer (WHO, 1991) e, as bactérias classificadas em sensíveis, intermediárias e resistentes pela medição do diâmetro do halo de inibição e comparação com tabelas do CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*).

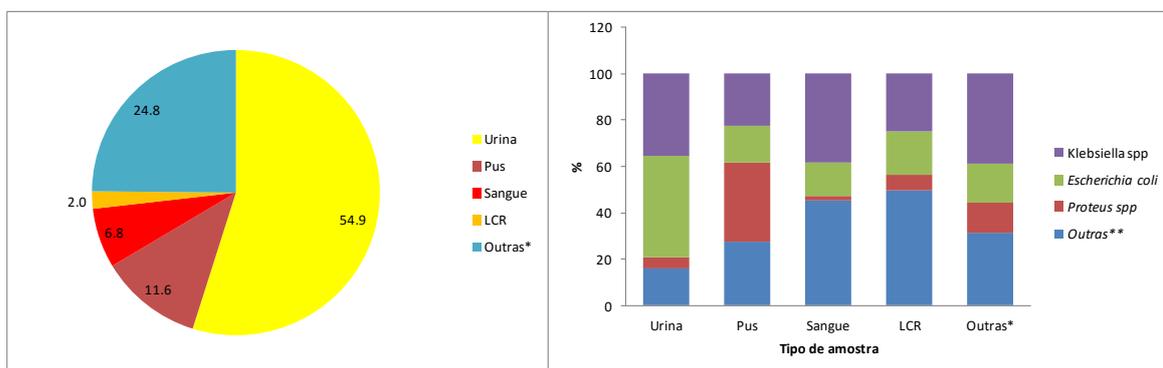
Todas as enterobactérias de importância

clínica isoladas e registadas no WHONET 5.5 entre Outubro de 2009 e Outubro de 2010 foram analisadas. Para além do WHONET 5.5, foi usado Epi-Info 3.5.1 para o cálculo de qui-quadrado (um *p* valor inferior a 0.05 foi considerado significativo).

## RESULTADOS

No período de estudo, haviam sido isoladas

813 *Enterobacteriaceae*, sendo as mais frequentes *Klebsiella* spp. (34.7%), *Escherichia coli* (31.5%) e *Proteus* spp. (10.0%). Os isolados foram obtidos principalmente de urina (54.8%) e pús (11.6%) (Figura 1). A maioria dos isolados foi de pacientes internados (83.1%), principalmente das enfermarias de Pediatria (55.5%) e Medicina (23.8%) (Figura 2).

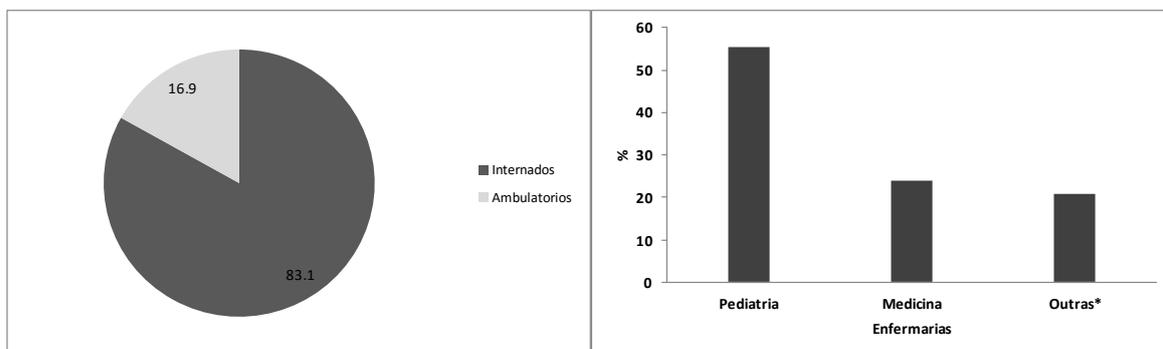


**FIGURA 1. Isolados por tipo de amostra**

LCR = líquido cefaloraquidiano

\* Lavado bronquealveolar; líquido pleural, fluído gástrico, feridas, zaragatoas rectais.

\*\* *Serratia* spp, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Salmonella* spp, *Ewingella americana*.



**FIGURA 2. Isolados por tipo de paciente e enfermaria**

\*Cirurgia, Obstetrícia/Ginecologia, Cardiologia, Dermatologia, Ortopedia, Gastroenterologia.

Foram observadas altas taxas de resistência, principalmente para amoxicilina (89,7%), ampicilina (89,3%) e amoxicilina/ácido clavulânico (73,6%). As drogas mais efectivas foram imipenem (98.5%), meropenem (91%) e norfloxacina (89.7%). A Tabela 1 mostra a proporção de resistência aos antimicrobianos das espécies mais frequentes.

A taxa de resistência de isolados de pacientes internados foi significativamente maior do que a dos pacientes ambulatorios ( $p < 0.05$ ) para os seguintes antibióticos: amoxicilina, ceftazidima, gentamicina e nitrofurantoína (Tabela 2).

TABELA 1. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de *E. coli*, *Klebsiella spp* e *Proteus spp*, ambulatorios vs. internados, 2009 – 2010

Organismo	Nome do antibiótico	Pacientes internados				Pacientes ambulatorios			
		Isolados	% Resistente	% Intermediário	% Sensível	Isolados	% Resistente	% Intermediário	% Sensível
<i>Escherichia coli</i>	Amicacina	61	3.3	13.1	83.6	23	8.7	4.3	87
	Amoxicilina	32	84.4	0	15.6	8	87.5	0	12.5
	Amoxicilina/Ácido clavulânico	53	67.9	9.4	22.6	19	78.9	5.3	15.8
	Ampicilina	75	86.7	2.7	10.7	29	79.3	13.8	6.9
	Cefalotina	10	70	10	20	0	0	0	0
	Cefotaxima	35	37.1	17.1	45.7	16	18.8	18.8	62.5
	Ceftazidima	31	35.5	6.5	58.1	16	12.5	0	87.5
	Ácido nalidíxico	48	31.2	8.3	60.4	27	55.6	3.7	40.7
	Ciprofloxacina	48	16.7	20.8	62.5	18	27.8	0	72.2
	Gentamicina	103	42.7	4.9	52.4	43	25.6	7	67.4
	Imipenem	13	7.7	0	92.3	8	0	0	100
	Meropenem	32	3.1	3.1	93.8	7	14.3	0	85.7
	Nitrofurantoina	110	21.8	9.1	69.1	56	8.9	8.9	82.1
	Norfloxacina	12	0	0	100	6	16.7	0	83.3
	Piperacilina/Tazobactam	72	16.7	18.1	65.3	26	7.7	34.6	57.7
Colistina	5	40	0	60	4	25	0	75	
<i>Klebsiella spp</i>	Amicacina	85	5.9	17.6	76.5	9	22.2	11.1	66.7
	Amoxicilina	55	92.7	0	7.3	4	100	0	0
	Amoxicilina/Ácido clavulânico	50	86	0	14	5	40	20	40
	Ampicilina	99	93.9	0	6.1	6	83.3	0	16.7
	Cefalotina	11	27.3	9.1	63.6	2	50	0	50
	Cefotaxima	58	34.5	12.1	53.4	1	0	0	100
	Ceftazidima	47	51.1	2.1	46.8	6	16.7	0	83.3
	Ácido nalidíxico	62	35.5	11.3	53.2	11	36.4	0	63.6
	Ciprofloxacina	74	17.6	13.5	68.9	3	0	33.3	66.7
	Gentamicina	138	60.1	2.2	37.7	18	16.7	5.6	77.8
	Imipenem	18	0	0	100	2	0	0	100
	Meropenem	59	5.1	8.5	86.4	4	0	25	75
	Nitrofurantoina	113	50.4	13.3	36.3	15	66.7	13.3	20
	Norfloxacina	10	0	10	90	1	0	0	100
	Piperacilina/Tazobactam	118	35.6	16.9	47.5	9	55.6	11.1	33.3
Colistina	17	47.1	0	52.9	0	0	0	0	
<i>Proteus spp</i>	Amicacina	29	0	6.9	93.1	5	20	0	80
	Amoxicilina	11	72.7	0	27.3	1	100	0	0
	Amoxicilina/Ácido clavulânico	12	50	16.7	33.3	1	0	0	100
	Ampicilina	30	90	0	10	5	60	0	40
	Cefalotina	1	0	100	0	0	0	0	0
	Cefotaxima	21	14.3	14.3	71.4	2	0	50	50
	Ceftazidima	18	22.2	5.6	72.2	3	0	0	100
	Ácido nalidíxico	3	0	0	100	1	100	0	0
	Ciprofloxacina	21	9.5	4.8	85.7	4	0	0	100
	Gentamicina	39	46.2	7.7	46.2	6	0	0	100
	Imipenem	9	0	0	100	1	0	0	100
	Meropenem	17	0	0	100	2	0	0	100
	Nitrofurantoina	11	45.5	9.1	45.5	3	100	0	0
	Norfloxacina	2	0	0	100	0	0	0	0
	Piperacilina/Tazobactam	36	25	13.9	61.1	5	0	40	60
Colistina	2	100	0	0	0	0	0	0	

TABELA 2. Taxas de resistência de *Enterobacteriaceae*, pacientes internados vs. ambulatoriais, 2009 – 2010

Nome do antibiótico	Taxa de resistência (isolados testados)		p*
	Pacientes ambulatoriais	Pacientes internados	
Amicacina	11.6 (43)	3.5 (230)	0.04
Amoxicilina	23.8 (21)	88.8 (134)	< 0.05
Amoxicilina/Ácido clavulâmico	71.0 (31)	74.1 (143)	0.72 <sup>1</sup>
Ampicilina	82.0 (50)	90.6 (286)	0.06 <sup>1</sup>
Cefotaxima	14.3 (21)	37.0 (154)	0.04
Ceftazidima	9.1 (33)	40.7 (140)	0.00
Ciprofloxacina	23.3 (30)	16.5 (194)	0.36 <sup>1</sup>
Gentamicina	21.7 (83)	52.0 (369)	<0.05
Imipenem	0.0 (11)	1.9 (54)	0.52 <sup>1</sup>
Meropenem	5.6 (18)	4.0 (149)	0.76 <sup>1</sup>
Ácido nalidíxico	47.8 (46)	31.7 (139)	0.06 <sup>1</sup>
Nitrofurantoína	26.4 (87)	39.1 (279)	0.03
Piperacilina/Tazobactam	18.0 (50)	30.3 (300)	0.07 <sup>1</sup>

\*X<sup>2</sup> – nível de significância 5%; <sup>1</sup>Não significativo

## DISCUSSÃO

Cerca de 80% dos bacilos Gram negativos pertencem à família *Enterobacteriaceae*, que engloba os mais importantes patógenos humanos. Neste estudo, os isolados de amostras clínicas mais comuns foram *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, consistente com KARLOWSKY *et. al.* (2003), que aponta *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, e *Serratia marcescens* como sendo os mais comumente associados às infecções em humanos.

A maioria dos isolados foi obtida de amostras de pacientes internados, indicando uma provável circulação deste grupo de bactérias no ambiente hospitalar. Estudos referem o potencial destas bactérias causarem infecções nosocomiais, e apontam o uso indiscriminado de antibióticos (VLIEGHE *et. al.*, 2009), internamento prolongado, idade avançada, imunodepressão associada a quimioterapia (COSGROVE *et. al.*, 2002), como os principais factores de risco para ocorrência de infecções por este tipo de bactérias.

A resistência de microrganismos aos antimicrobianos compromete o tratamento dos pacientes, podendo aumentar o tempo de internamento e a morbi-mortalidade. O

predomínio de estirpes multi-droga resistentes entre as enterobactérias frequentemente isoladas alerta para eventuais problemas no que concerne ao tratamento e controlo das infecções no ambiente hospitalar (GIAMARELLOU, 2010). Altas taxas de resistência a antibióticos comuns como ampicilina, tetraciclina e cotrimoxazol em bacilos Gram negativos foram também observadas por BLOMBERG *et. al.* (2004). Os resultados deste estudo mostram que as altas taxas de resistência a antibióticos comuns, associadas a presença de estirpes multi-droga resistentes constituem um desafio para o tratamento de infecções bacterianas, sugerindo a necessidade de implementação de medidas de controlo e prevenção dos microrganismos resistentes através da melhoria da capacidade de diagnóstico e monitoria contínua da resistência aos antibióticos.

As altas taxas de resistência em patógenos isolados de pacientes internados a antibióticos como amoxicilina, cefotaxime, ceftazidime, gentamicina e nitrofurantoína podem ser explicadas pelo facto de estas drogas serem comumente usadas em ambiente hospitalar e ainda pelo efeito selectivo do tratamento de um paciente com múltiplos antimicrobianos (PIÉBOJI *et. al.*, 2004). Por outro lado, a expressão fenotípica da resistência aos

antibióticos pode ser explicada pela presença de genes que codificam para diferentes mecanismos de resistência. Neste estudo, não foram analisados os mecanismos de resistência, sendo por isso importante que se pesquisem os genes associados a expressão desta bem como os factores associados a circulação destas estirpes principalmente em ambiente hospitalar.

De notar que, nem sempre foi possível testar todas as estirpes, demonstrando a deficiência em reagentes (discos de antibióticos) por parte do laboratório e, provavelmente a falta de conhecimento sobre os agentes a utilizar para uma determinada estirpe. Refira-se que, o laboratório tem painéis definidos (um para patógenos urinários e outro para não urinários) para escolha de discos de antibiótico. Porém, é importante que o mesmo tenha algoritmos claros para definir que antibióticos são relevantes para determinadas bactérias. A aplicação rigorosa de Procedimentos Operacional Padrão (POP) irá facilitar a uniformização durante a execução por diferentes técnicos.

Segundo WHO (2001), é difícil obter dados representativos sobre a magnitude e tendências de resistência em países com escassos recursos e onde os métodos microbiológicos convencionais são executados por um número limitado de laboratórios. Daí, a importância de potenciar e capacitar mais laboratórios no sentido de melhorar a representatividade da informação recolhida.

Os resultados deste estudo confirmam a necessidade da implementação de mecanismos sistemáticos para avaliação da resistência em bactérias. O uso de WHONET como ferramenta para a vigilância de resistência aos antimicrobianos tem um papel importante na geração e na utilização da informação relativa à resistência em bactérias. Pensa-se que uma utilização mais abrangente do WHONET poderia permitir um melhor entendimento da magnitude do problema no país e, desse modo, contribuir para tomada atempada de acções adequadas de

contenção da resistência. Assim, recomenda-se que sejam envidados esforços no sentido de se alargar o uso de WHONET no país e, desse modo, estabelecer um sistema de vigilância nacional para monitorar os padrões de resistência não só das *Enterobacteriaceae*, mas também doutros agentes bacterianos das infecções comuns em Moçambique.

## AGRADECIMENTOS

Ao Hospital Central de Maputo, em especial o Laboratório de Análises Clínicas pela autorização para a realização do trabalho.

Ao Programa de treino em Epidemiologia de Campo e Laboratorial de Moçambique, pelo suporte técnico-científico e financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARTOLONI, A. *et. al.* High prevalence of acquired antimicrobial resistance unrelated to heavy antimicrobial consumption. **Journal of Infectious Diseases**, v.189, p.1291–1294, 2004.

BLOMBERG, B. *et. al.* Surveillance of antimicrobial resistance at a tertiary hospital in Tanzania. **BMC Public Health**, v.4, n. 45, 2004.

COSGROVE, S. E. *et. al.* Health and economic outcomes of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. **Archive of Internal Medicine**, v.162, p.185–190, 2002.

GIAMARELLOU, H. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: how to treat and for how long. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.36, s.50–54, 2010.

KARLOWSKY, J. A. *et. al.* Trends in antimicrobial susceptibilities among *Enterobacteriaceae* isolated from hospitalized patients in the United States from 1998 to 2001. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.47, p.1672–1680, 2003.

PIÉBOJI, J. *et. al.* Antimicrobial resistance of Gram-negative bacilli isolates from inpatients and outpatients at Yaounde

- Central Hospital, Cameroon. **Journal Infectious Diseases**, v.8, p.147–154, 2004.
- PITOUT, J. D. e LAUPLAND, K. B. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. **The Lancet**, v.8, p.159-66, 2008.
- STELLING, J. e O'BRIEN, T. Surveillance of antimicrobial resistance: the WHONET program. **Clinical Infectious Diseases**, v.24, p.157-68, 1997. (Suppl. 1)
- TENOVER, F. C. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. **The American Journal of Medicine**, v.119, s.3–10, 2006.
- VLIEGHE, E. *et. al.* Antibiotic resistance among bacterial pathogens in central Africa: a review of the published literature between 1955 and 2008. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.34, p.295–303, 2009.
- WHO Global Strategy for containment of antimicrobial resistance.** World Health Organization, 2001. Disponível em: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO\\_CDS\\_CSR\\_DRS](http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_CDS_CSR_DRS). Acesso em: [2012].
- WHO. **Basic laboratory procedures in clinical bacteriology.** Geneva, World Health Organization, 1991.
- WOODFORD, N. e A. Sundsfjord. Molecular detection of antibiotic resistance: when and where? **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.56, p. 259–261, 2005.