

CAPÍTULO 2

RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Serratia marcescens* NAS UNIDADES NEONATAIS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Data de submissão: 02/03/2025

Data de aceite: 01/04/2025

Leonardo Dutra Rubim

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6186509378529348>

Luís Felipe Perugini

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6343781897842990>

Mayra Izabelle Canuto Schmidt

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8796126601705772>

Glinys Ventura de Souza

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/7162227138919488>

Alanis Cassamassimo Cardoso

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2190929220658463>

Maria Fernanda Astun Dionísio

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8243453564787518>

Maria Júlia Moreira Onça

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5851621775230952>

Mariana Eches Urbaneja Gasparotti

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5349872257203678>

Joyce Sayuri Yamada Leoncio

Hospital Universitário da Universidade
Estadual de Londrina, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2445879368661450>

Luciene Yukari Morita

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<https://lattes.cnpq.br/6570214311415828>

Rafaela Satomi Yuyama Rodrigues

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0807385982025346>

Eliana Carolina Vespero

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Patologia, Análises
Clínicas e Toxicológicas, Londrina-Paraná
<http://lattes.cnpq.br/4592425303792522>

RESUMO: Bacilos gram-negativos são importantes causadores de infecções hospitalares, em especial, nas unidades intensivas neonatais (UTN/UCN). Vários estudos tem mostrado correlação entre infecção e colonização. *Serratia marcescens*, uma bactéria comumente relacionada a surtos nestas unidades e multirresistentes, constituem uma ameaça a esta população. O presente estudo teve por objetivo caracterizar o perfil molecular de bactérias do gênero *Serratia* na UTN do Hospital Universitário de Londrina (HUL). As amostras foram reativadas a partir de estoque e cultivadas em Caldo de Soja e Trypticaseina (TSB). Após a incubação overnight, os caldos foram subcultivados em Agar MacConkey. As colônias que se desenvolveram foram identificadas por metodologia manual padronizada por Jorgensen e colaboradores (2015) e os testes de sensibilidade a antimicrobianos foram realizados pelo método de disco difusão, de acordo com o CLSI (2017). Foram encontradas 37 amostras positivas para *S. marcescens* multirresistentes. Destas, 4 se mostraram positivas para o gene TEM, 3 para CTX-M1, 1 para os genes CTX-M2 e CTX-M9 e 0 amostras positivas para os genes SHV e CTX-M25. O gene CTX-M8 se mostrou prevalente na população analisada, foram 22 amostras positivas. Colonização gastrointestinal, poderia desempenhar um importante papel na manutenção de surtos. Levando-se em consideração a dificuldade do tratamento e a vulnerabilidade de neonatos, a prevenção e o monitoramento contínuo dessas unidades são importantes recursos para o controle da morbimortalidade.

PALAVRAS-CHAVE: *Serratia*, resistência a antimicrobianos, neonatal.

ANTIMICROBIAL-RESISTANCE OF *Serratia marcescens* IN NEONATAL UNITS AT THE UNIVERSITY HOSPITAL OF LONDRINA

ABSTRACT: Gram-negative bacilli are important causes of hospital infections, especially in neonatal intensive units (UTN/UCN). Several studies have shown a correlation between infection and colonization. *Serratia marcescens*, a bacterium commonly linked to outbreaks in these units and is multi-resistant, constitutes a threat to this population. The present study aimed to characterize the molecular profile of bacteria of the *Serratia* genus at the UTN of the Hospital Universitário de Londrina (HUL). Samples were reactivated from stock and cultured in Trypticasein Soy Broth (TSB). After overnight incubation, the broths were subcultured on MacConkey Agar. The colonies that developed were identified using manual methodology standardized by Jorgensen and collaborators (2015) and antimicrobial susceptibility tests were carried out using the disk diffusion method, in accordance with CLSI (2017). 37 samples were found positive for multidrug-resistant *S. marcescens*. Of these, 4 were positive for the TEM gene, 3 for CTX-M1, 1 for the CTX-M2 and CTX-M9 genes and 0 samples were positive for the SHV and CTX-M25 genes. The CTX-M8 gene proved to be prevalent in the population analyzed, with 22 positive samples. Gastrointestinal colonization could play an important role in maintaining outbreaks. Taking into account the difficulty of treatment and the vulnerability of newborns, prevention and continuous monitoring of these units are important resources for controlling morbidity and mortality.

KEYWORDS: *Serratia*, antimicrobial resistance, neonatal.

INTRODUÇÃO

Serratia marcescens, um bacilo gram-negativo, pertencente à família Enterobacteriaceae, que foi considerado um organismo aquático saprófito não patogênico até o final do século XX, é um agente etiológico de infecções no trato urinário (MAKI; GOLDMAN; RHAME, 1973; OKUDA et al., 1984), corrente sanguínea - incluindo endocardite (KÖRNER et al., 1994), entre outros tipos de infecções. Na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) esse patógeno apresenta alto risco para os recém nascidos (RN), uma vez que o desenvolvimento imunológico dos humanos somente estará completo na infância tardia (JONES, HOLT. 2000.).

Portanto, entender aspectos epidemiológicos das Infecções Relacionadas à Assistência em Saúde (IRAS), assim como conhecer as características dos patógenos presentes nessas infecções, pode ajudar no tratamento e prevenção por meio de políticas públicas direcionadas à prevenção de IRAS em pacientes pediátricos. (WEINER et al., 2016).

Apesar dos estudos, o conhecimento sobre a capacidade patogênica da bactéria é limitado (SAMONIS et al., 2017). Contudo, sabe-se que a espécie se destaca por possuir elevado nível de resistência a antimicrobianos (TAVARES, 2015) e pela capacidade de persistir por longos períodos em ambientes hospitalares. Surtos por *S. marcescens* são difíceis de controlar, se disseminam rapidamente e podem acarretar consequências devastadoras em recém-nascidos, internados em UTN (URZEDO et al., 2014).

Dentre as opções farmacológicas para tratamento de infecções por *S. marcescens*, os antibióticos β -lactâmicos são fármacos que possuem ação bactericida que atuam interrompendo a formação da parede celular bacteriana. Proteínas de ligação à penicilinas (PBP, do inglês Penicillin Binging Protein) são responsáveis pela última fase do processo de formação da parede celular: a formação da ligação cruzada entre dois aminoácidos lineares alternados (N-acetilglucosamina e ácido N-acetilmurâmico). Esta ligação é responsável por formar o peptideoglicano, componente que proporciona estabilidade mecânica à parede celular bacteriana. Sua inibição pela classe dos β -lactâmicos, em decorrência da ligação covalente entre o anel β -lactâmico do fármaco e a PBP, ativam mecanismos que resultam na formação de esferoblastos e na bacteriólise rápida, causando a morte da bactéria. (BRUNTON, 2019; ZAPUN, CONTRERAS-MARTEL, VERNET, 2008)

Mecanismos de resistência aos antibióticos β -lactâmicos são descritos como resultado da produção de enzimas β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) que têm a capacidade de hidrolisar cefalosporinas de alta geração e causam resistência a muitos antimicrobianos, incluindo as cefalosporinas de terceira geração, como cefotaxima, ceftriaxona e ceftazidima. A aquisição e transferência de genes de resistência a antibióticos dentro ou por diferentes espécies de bactérias Gram-negativas através de plasmídeos e transposons móveis são relatadas como a principal causa da produção de β -lactamases. (BRUNTON, 2019).

As primeiras enzimas β -lactamases descritas, TEM e SHV, que eram ativas contra β -lactâmicos de primeira geração, foram sucedidas pelas β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) como CTX-M, responsáveis pela resistência a grande número dos β -lactâmicos disponíveis para tratamento. (BARBATO, 2012)

No triênio dos anos de 2016 a 2018, surtos de *S. marcescens* foram identificados pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do Hospital Universitário de Londrina (HU/UEL) no setor de UTI neonatal. Visto este aumento significante nos números de casos identificados como *S. marcescens*, o presente estudo buscou avaliar a incidência desse patógeno na unidade de UTIN, bem como a caracterização dos genes de resistência presentes nos isolados nos anos de 2016 e 2017.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal descritivo na UTN/UCI do Hospital Universitário de Londrina, um hospital terciário da Rede Sentinel e que atualmente dispõe de 333 leitos, sendo 17 destinados para recém-nascidos (RN).

Foram avaliados os resultados de culturas de *swabs* retais, realizadas no setor de Microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do HU, no período de 2019. As amostras foram reativadas a partir de estoque em microtubos contendo caldo de soja e tripticaseína (TSB – *Tryptic Soya Broth*) e cultivadas. Após incubação durante 24 horas, a 35-37 °C, os caldos foram subcultivados em Agar MacConkey (MC). As colônias que se desenvolveram foram identificadas por metodologia manual padronizada por Jorgensen e colaboradores (2015). Os testes de sensibilidade a antimicrobianos foram realizados pelo método de disco-difusão, de acordo com o CLSI (*Clinical Laboratory Standards International* - 2017). A presença de ESBL foi evidenciada pelo método de disco aproximação com amoxicilina-clavulonato.

Para as amostras que tiveram crescimento, foi realizada extração do material genético por técnica de fervura e choque térmico, seguido de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para pesquisa dos genes de resistência SHV, TEM, CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8, CTX-M9 e CTX-M25. Após, a revelação da PCR foi feita por eletroforese em gel de agarose com brometo de etídio. O diagnóstico molecular foi feito com base no paper de Woodford, Fagan e Ellington (2005).

Para tanto, utilizou-se o banco de dados do Sistema de Informação AGTA Healthcare, módulo LABHOS®, do Laboratório de Análises Clínicas (LAC-HUL).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, sob o número CAAE 154115413.4.0000.5231.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

S. marcescens é um importante bacilo gram-negativo amplamente relacionado à colonização e infecção de pacientes internados em Unidades de Tratamento Intensivo, principalmente as neonatais. Estes pacientes não possuem suas barreiras de defesas completamente formadas, muitas vezes estão sujeitos a procedimentos invasivos, hospitalização prolongada e fazendo uso de antimicrobianos, configurando grande vulnerabilidade e alto risco. Aliado a estes fatos, essas bactérias podem apresentar mecanismos de resistência a diversos antimicrobianos, o que torna o manejo terapêutico um desafio.

No período de junho a agosto de 2019 foram reativadas e identificadas 37 amostras de *S. marcescens*. Para essas amostras foi realizado PCR para pesquisa dos genes SHV, TEM, CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8, CTX-M9 e CTX-M25.

Os genes SHV e CTX-M25 foram os menos prevalentes, nenhuma das amostras apresentou positiva. Enquanto os genes CTX-M9, CTX-M2, ambos 2,7%, CTX-M1 8,1% e TEM 12,9%. Já CTX-M8 mostrou-se o mais prevalente (59,45%).

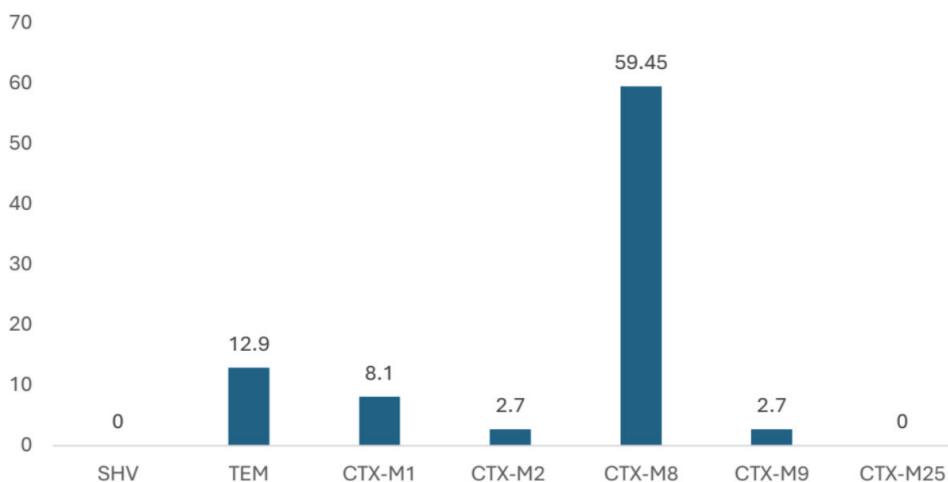


Gráfico 1: Frequência dos genes produtores de betalactamases de espectro ampliado (ESBL) de 37 isolados de *Serratia marcescens* obtidos de pacientes pediátricos no HU durante o ano 2019

Desde que foram descobertas no fim da década de 1980, as enzimas do tipo CTX-M têm se disseminado rapidamente por todos os continentes. A literatura indica que o tipo CTX-M é mais prevalente que TEM e SHV em território brasileiro, sendo que entre elas as mais frequentes são CTX-M2, CTX-M8 e CTX-M9 (SILVA; LINCOLPAN, 2012).

De maneira semelhante a outros autores, foi observado a prematuridade e baixo peso dos recém-nascidos como fator de risco para morbimortalidade por *S. marcescens*.

Nos últimos anos, *S. marcescens* tem sido frequentemente associada a surtos, principalmente em unidades neonatais. São caracterizados por sua rápida disseminação do microrganismo entre pacientes causando complicações severas e de duração variável. Em diversos estudos a fonte ambiental da bactéria nem sempre é definida, podendo estar em equipamentos hospitalares, nos próprios trabalhadores da saúde ou no ambiente. É possível que o próprio paciente aja como reservatório de infecção e a contaminação cruzada pode propagá-lo (MORILLO et al., 2016).

Não só restrito a infantos, adultos também podem agir como reservatórios. Em crianças o trato gastrointestinal é o principal sítio colonizado, já em adultos é o trato respiratório.

Uma série de contramedidas podem ser tomadas para diminuir a propagação do patógeno. Segundo Dessì e colaboradores (2009), nos meses seguintes a um surto por *S. marcescens* foram colocadas em prática uma série de normas de higiene e condutas: revisão de procedimentos de saúde que constituem risco de infecção, treinamento de funcionários para correta higienização das mãos, uso de gel antisséptico a base de álcool, melhorias na limpeza e desinfecção locais e de equipamentos, uso de instrumento médico único por paciente, identificação dos bebês colonizados e infectados, monitoração dos afetados por meio de culturas de triagem periódicas, limitação de acesso à área e transferência dos recém nascidos, com subsequente redução nas infecções graves relacionadas ao surto.

A primeira forma de tratamento nesses casos é a antibioticoterapia. A maioria das cepas de *S. marcescens* são resistentes a vários tipos de antimicrobianos, devido à presença de um tipo de plasmídeo (fator R), que carrega genes que conferem a resistência. *Serratia spp.* é intrinsecamente resistente tanto à ampicilina, quanto à amoxacilina + ácido clavulânico. Quanto a prevalência de resistência às cefalosporinas de terceira geração é de 60%. Entretanto, a sensibilidade às fluorquinolonas, aminoglicosídeos e fosfomicina é boa em geral. A amicacina é bastante usada frente a esta patógena, porém já há relatos de aumento na resistência contra gentamicina e tobramicina. A netilmicina se tornou popular na prática clínica, além de ter boa ação, é menos ototóxica que outros aminoglicosídeos (DESSÌ et al., 2009).

Para Voelz et al. (2010) já que a resistência se deve, em boa parte, à uma cefalosporinase, considera-se prudente evitar seu uso na unidade. Resistência às cefalosporinas de terceira e quarta gerações podem ser causadas pela produção de ESBLs ou pela extensa expressão de AmpC. Os carbapenêmicos são estáveis frente a essas enzimas e podem ser considerados primeira escolha para o tratamento empírico, em pacientes com sepse colonizados por *Serratia marcescens* multirresistentes.

Segundo Perotti et al. (2007), uma alternativa para controlar surto por *S. marcescens* é o uso de probióticos. Eles atuam aumentando a barreira mucosa impedindo a translocação bacteriana e seus produtos, fazendo regulação positiva da resposta imune, alterando o padrão de colonização no trato gastrointestinal, diminuindo potenciais bactérias patogênicas e aumentando a microflora desejável, assim, reduzindo a incidência de infecções em prematuros.

CONCLUSÃO

O gene CTX-M8 foi o mais prevalente entre as amostras positivas, seguido por TEM, CTX-M1, CTX-M2 e CTX-M9). SHV e CTX-M25 todos foram negativos. São necessários mais estudos para verificar a clonalidade das cepas.

REFERÊNCIAS

BONNET, R.. Growing Group of Extended-Spectrum -Lactamases: the CTX-M Enzymes. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 48, n. 1, p.1-14, 23 dez. 2003. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.48.1.1-14.2004>.

CASOLARI, C. et al. A simultaneous outbreak of *Serratia marcescens* and *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. **Journal Of Hospital Infection**, Modena, Italy, v. 61, n. 4, p.312-320, dez. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2005.03.005>.

CASOLARI et al., ***Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: two long-term multiclone outbreaks in a 10-year observational study.** NEW MICROBIOLOGICA, n. 36, p. 373-383, 2013

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twentieth Informational Supplement.** CLSI document M100-S27, 2017.

DESSÌ, A. et al. *Serratia marcescens*Infections and Outbreaks in Neonatal Intensive Care Units. **Journal Of Chemotherapy**, Cagliari, Italy, v. 21, n. 5, p.493-499, out. 2009. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1179/joc.2009.21.5.493>.

IVÁDY, B. et al. **Recurrent outbreaks of *Serratia marcescens* among neonates and infants at a pediatric department: an outbreak analysis.** Journal of Infection, v. 42, n. 5, p. 891-898, out., 2014.

JORGENSEN, J.H.; PFALLER, M.A. **Manual of Clinical Microbiology.** Eleventh Edition 2 Volume Set Hardcover, 2015.

LAGO, A.; FUENTEFRIA, S.; FUENTEFRIA, D. ***Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL.** Passo Fundo, RS. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2010.

MENEZES, E. A. et al. **Freqüência de *Serratia* spp. em Infecções Urinárias de pacientes internados na Santa Casa de Misericórdia em Fortaleza.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 37, n. 1, p. 70-71, fev., 2004.

MONTAGNANI, Carlotta et al. *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit: crucial role of implementing hand hygiene among external consultants. **Bmc Infectious Diseases**, Florence, Italy, v. 15, n. 1, p.1-5, 13 jan. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-014-0734-6>.

MOREIRA, V.C; FREIRE, D. ***Klebsiella pneumoniae* e sua resistência a antibióticos.** In: Mostra de Produção Científica da Pós-Graduação Latu-Sensu da P UC de Goiás, 6., 2011.

MORILLO et al., **A six-month *Serratia marcescens* outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit.** Enferm Infecc Microbiol Clin. v. 34, n.10, p. 645–651, 2016.

MUMCUOGLU, Ipek et al. **Serratia marcescens bacteremia cases: A pseudo-outbreak experience.** *American Journal Of Infection Control*, Ankara, Turkey, v. 44, n. 7, p.852-853, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2016.01.029>.

NETO, G, MORAES, F, NETO, V, FIGUEIRÉDO, P. **Detecção de Enterobacteriaceae em superfícies de uma unidade mista de saúde no município de São Luís, Maranhão, Brasil.** RIB - Revista de Investigação Biomédica do UNICEUMA, n.2, p.77-84, 2010.

PEROTTI, G. et al. Rapid Control of Two Outbreaks of *Serratia marcescens* in a Northern Italian Neonatal Intensive Care Unit. *Journal Of Chemotherapy*, Pavia, Italy, v. 19, n. 2, p.56-60, out. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1120009x.2007.11782448>.

SILVA, Ketrin Cristina da; LINCOPAN, Nilton. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *J Bras Patol Med Lab*, São Paulo, Brasil, v. 48, n. 2, p.91-99, abr. 2012.

TAVALVES, A. R. **Infecções por *Serratia* spp. em ambiente de terapia intensiva: uma revisão integrativa.** 33 p. 2015. Monografia (Graduação) - Universidade de Brasília, Graduação em Enfermagem, Faculdade de Ceilândia, Brasília, 2015.

URZEDO, J.E. et al. **Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit during 16 years: 1997-2012.** Uberlândia, MG, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014.

VOELZ, Alexander et al. Outbreaks of *Serratia marcescens* in neonatal and pediatric intensive care units: Clinical aspects, risk factors and management. *International Journal Of Hygiene And Environmental Health*, Bonn, Germany, v. 213, n. 2, p.79-87, mar. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2009.09.003>.

WOODFORD, Neil; FAGAN, Elizabeth J.; ELLINGTON, Matthew J. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum β -actamases. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, London, UK, v. 57, n. 1, p.154-155, 10 nov. 2005. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dki412>.