



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia
Instituto de Ciências Biomédicas

2000

**SURTO POR *Serratia marcescens* PRODUTORA DE β -
LACTAMASES DE ESPECTRO EXTENDIDO NO BERÇÁRIO
DE ALTO RISCO (BAR) DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA (HC-UFU).**

Denise Von Dolinger de Brito

**UBERLÂNDIA-MG
2000**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

11 MON
616.98: 615.478
B762
TES/MEM

SURTO POR *Serratia marcescens* PRODUTORA DE
 β -LACTAMASES DE ESPECTRO EXTENDIDO NO
BERÇÁRIO DE ALTO RISCO (BAR) DO HOSPITAL
DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA (HC-UFU).

SISBI/UFU



1000193772

Denise Von Dolinger de Brito

Dissertação de Mestrado
apresentada à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em
Imunologia e Parasitologia
Aplicadas do Departamento de
Imunologia, Microbiologia e
Parasitologia do Instituto de
Ciências Biomédicas da
Universidade Federal de
Uberlândia.

UBERLÂNDIA-MG

2000



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia
Instituto de Ciências Biomédicas

**SURTO POR *Serratia marcescens* PRODUTORA DE β -
LACTAMASES DE ESPECTRO EXTENDIDO NO BERÇÁRIO
DE ALTO RISCO (BAR) DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA (HC-UFU).**

Paulo Pinto Gontijo Filho (Orientador)

**UBERLÂNDIA-MG
2000**

**“É sempre útil aprender com
os próprios erros, pois assim
parece que valeram a pena.”**

(Garry Marshall)

**“ Coisa que gosto é poder partir, sem ter plano;
melhor ainda é poder voltar quando quer.
Todos os dias é um vai e vem.
A vida se repete na estação.
Tem gente que chega pra ficar,
tem gente que vai pra nunca mais voltar,
tem gente que vem e quer voltar,
tem gente que vai e quer ficar,
tem gente que veio só olhar,
tem gente a sorrir e a chorar.
É assim chegar e partir,
é a vida desse meu lugar,
é a vida.”**

(Milton Nascimento)

A DEUS

São tantas as dádivas a agradecer; a vida, a saúde, as alegrias. A cada dia estás comigo, me fortalecendo os passos às vezes dúbios no caminho a seguir e o Senhor se faz sempre luz em meu caminho, me guiando, protegendo e amparando.

Aos meus pais Vicente e Albertina, à minha madrinha Aparecida, ao meu irmão Leonardo que foram sempre apoio, incentivo e motivo de minhas maiores alegrias, dedico mais essa conquista com todo amor e ternura. Obrigada Senhor, pela família que tenho.

Ao meu esposo Leandro, pela compreensão e pelo total apoio imprescindível durante a realização deste trabalho. Essa vitória é nossa!

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Paulo, pela valiosa orientação, apoio e paciência imprescindíveis. "Se um homem tiver alguma grandeza dentro de si, ela aparecerá não em um momento espetacular, mas no registro do seu dia-a-dia" (Beryl Markham).

Ao Dr. Augusto Diogo Filho e Dr^a Deise Pasetto Falcão por terem aceito participar na defesa desta dissertação.

Aos amigos Rosineide Marques Ribas e Geraldo Sadoyama Leal pela preciosa amizade que construímos ao longo do tempo. Obrigada pelos momentos alegres e inesquecíveis que passamos. "O amigo é uma benção que nos cabe cultivar no clima da gratidão" (Francisco Cândido Xavier).

Aos técnicos do laboratório de Microbiologia: Claudete, prestimosa companheira de todos os dias, obrigada por sua dedicação para a realização deste trabalho e Ricardo, muitas vezes nos desentendemos, relas até mesmo engraçadas, obrigada pelo apoio e colaboração.

Aos Professores Ângela e Geraldo Melo pelos ensinamentos e companheirismo, tornando a minha convivência no Laboratório a mais agradável possível.

Aos colegas do Laboratório, Carlinhos, Carla, Helisângela, Glenda, Eliete, Renata, Dayane, Hugo, Henrique, Cláudia, Luís Carlos, Marco Antônio, Viviane e Luciana que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

A todos os colegas de curso em especial a Mônica, Hélica, Danielle e Waldemar pela amizade, companheirismo e colaboração.

Ao amigo João Martins Neto, pela insuperável colaboração, pela paciência e amizade de todos os dias. Que Deus lhe recompense por tudo que fez por mim, muito obrigada.

À professora Adriana Prado pelo apoio, amizade e prestimosa revisão ortográfica desta dissertação. Muito obrigada.

Ao coordenador do programa de pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas Ernesto Taketomi, pelos ensinamentos, paciência e confiança.

À Dr^a Claudia Matos e Dr^a Vânia Abdalla pela valiosa colaboração para que este trabalho pudesse ser concluído da melhor forma possível.

Aos neonatos do Berçário de Alto Risco incluídos em meu estudo, extensivo a seus familiares, em respeito a sua dor, sem os quais este trabalho não teria sido realizado.

Às enfermeiras do Berçário de Alto Risco, juntamente aos demais profissionais HC-UFU que tornaram possível a realização deste trabalho.

A todos os demais que porventura não foram listados, mas que fizeram parte deste cotidiano, meus sinceros agradecimentos. Afinal de contas somos todos frágeis fios. Mas que bela tapeçaria formamos!!!

*“É preciso Ter sonhos e a certeza de que tudo vai mudar.
É necessário abrir os olhos
e descobrir que as coisas boas estão dentro de nós,
onde os sonhos não precisam de motivos e nem os
sentimentos de razão.”*

(John Lennon)

SUMÁRIO

	Pag
Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Anexos.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xii
1- Introdução.....	01
2- Objetivos.....	14
3- Casuística e Métodos.....	15
3.1 Hospital.....	15
3.2 Desenho do estudo.....	17
3.2.1 Estudo caso-controle.....	17
3.3 Procedimentos laboratoriais.....	17
3.3.1 Coleta de espécimes.....	17
3.3.2 Cultivo primário.....	18
3.3.3 Identificação dos isolados de <i>Serratia marcescens</i>	18
3.3.4 Estocagem das amostras.....	19
3.3.5 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos.....	19
3.3.5.1 Teste de difusão em gel.....	19
3.3.5.2 Teste da Concentração Inibitória Mínima	20
3.3.5.3 Teste de sinergismo com duplo disco.....	20
3.4 Análise Estatística.....	21
4- Resultados.....	22
5- Discussão.....	32
6- Conclusões.....	41
7- Referências Bibliográficas.....	42

	Pag
8-Anexos	57
8.1 Anexo I.....	58
8.2 AnexoII.....	59
8.3 Anexo III.....	60
8.4 Anexo IV.....	61

LISTA DE TABELAS

	Pag
Tabela 1- Descrição do espaço físico do BAR do HC-UFU.....	16
Tabela 2 – Características clínicas dos 15 neonatos infectados por <i>Serratia marcescens</i> durante um surto no BAR do HC-UFU, no período de dezembro de 1997 a março de 1998.....	25
Tabela 3- Fatores de risco para aquisição de infecção por <i>Serratia marcescens</i> ..	27
Tabela 4- Espectro de resistência aos antimicrobianos das amostras de <i>Serratia marcescens</i> isoladas antes, durante e após o surto, no BAR do HC-UFU, pela técnica de difusão em gel.....	29
Tabela 5- Valores das CIM ₅₀ e CIM ₉₀ para ceftazidima e cefepima para as amostras de <i>Serratia marcescens</i> isoladas durante o surto, no BAR do HC-UFU.....	30
Tabela 6- Caracterização das β -lactamases produzidas pela amostra epidêmica de <i>Serratia marcescens</i> , como de espectro estendido utilizando o teste de sinergismo com duplo disco.....	31

LISTA DE FIGURAS

	Pag
Figura 1- Diagrama do BAR do HC-UFU (Dezembro de 1997).....	16
Figura 2- Distribuição dos neonatos infectados/colonizados por <i>Serratia marcescens</i> no BAR do HC-UFU no período de agosto de 1997 a julho de 1998	23

LISTA DE ANEXOS

	Pag
Anexo I-	58
Anexo II-	59
Anexo III-	60
Anexo IV-	61

RESUMO

Foi relatado um surto de infecção e colonização por *Serratia marcescens* no BAR do HC-UFU, envolvendo 53 neonatos no período entre dezembro de 1997 a março de 1998. No total, 38 neonatos foram colonizados, sem sinais clínicos de infecção, e 15 infectados, apresentando as seguintes síndromes infecciosas: conjuntivite (n=7), sepse (n=5), sendo quatro delas fatais, conjuntivite e sepse (n=1), otite (n=1) e cistite (n=1). Os fatores de risco que foram predisponentes para infecção por *Serratia marcescens* incluíram o baixo peso ao nascer ($\leq 1500\text{g}$), cuidado em incubadoras, uso de carbapenemas, duração da hospitalização (≥ 7 dias), número baixo de Apgar e prematuridade. A amostra epidêmica teve como principal característica uma resistência a ceftazidima, com $\text{CIM}_{90} \geq 32,0\mu\text{g/mL}$ para ceftazidima e $\geq 16,0\mu\text{g/mL}$ para cefepima. A produção de ESBLs foi demonstrada pela técnica de duplo disco nos quatro isolados que foram recuperados de casos de infecção e em 30,2% daqueles de colonização. Culturas das mãos de profissionais de saúde, de recipientes com sabão líquido e de sabão em barra, da água do umidificador do respirador e superfície das incubadoras no BAR não evidenciaram a presença de *Serratia marcescens*, ao contrário do verificado em cerca de 50% dos ralos das pias da Unidade. O término do surto foi alcançado através do fechamento da unidade às novas admissões e medidas de higiene rigorosas, tais como maior ênfase na prática de lavagem das mãos e isolamento de coorte dos neonatos infectados e colonizados pela amostra epidêmica de *Serratia marcescens*.

ABSTRACT

It was reported one outbreak of infection and colonization due to *Serratia marcescens* involving 53 infants admitted to the High-Risk Nursery (HRN) of the Uberlândia Federal University Hospital, between december, 1997, and march 1998. Thirty-eight infants were colonized without clinical signs of infection and 15 infants had clinical disease. Five infants developed septicemia, seven infants developed conjunctivitis, 1 developed both sepsis and conjunctivitis, 1 infant developed otitis, and 1 infant had a urinary tract infection. On univariate analysis, independent risk factors for *Serratia marcescens* clinical disease were: low birth weight ($\leq 1.500\text{g}$), incubator care, use of carbapenems, duration of hospitalization (≥ 7 days), low Apgar score, and prematurity. The epidemic strain had as main characteristic one resistance of ceftazidime, with $\text{CIM}_{90} \geq 32,0 \mu\text{g/mL}$ for ceftazidime and $\geq 16,0 \mu\text{g/mL}$ for cefepime. The production of ESBLs was demonstrated by the double disk diffusion test in the four isolates obtained from infected infants and in 30,2% of colonized infants. Cultures from the hands of health care professionals, soap samples, ventilator reservoirs and work and incubator surfaces failed to identify a reservoir of *Serratia marcescens*, but positive cultures were found in half of the sink drains. Containment of the outbreak was achieved by closure of the BAR new admissions, employment of strict hygienic measures, and careful nursing care of the infected and colonized infants. Rapid organism identification and initiation of control measures are important in containing such an epidemic at an early stage.

1- INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares (IH) estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade nos hospitais aumentando consideravelmente os custos da hospitalização (Singh-Naz, 1996). As IH constituem um sério problema de saúde pública, principalmente em países do terceiro mundo, como o Brasil onde uma minoria dos hospitais possui comissões ativas de controle de infecção (Ponce de León, 1991). A vigilância de infecções adquiridas em hospitais, normalmente requer profissionais treinados e uma sistemática de trabalho o que demanda recursos financeiros freqüentemente restritos nestes países (Ponce de León, 1984; Rabelo, 1995).

Os pacientes neonatos, particularmente os prematuros, são muito suscetíveis às IH em decorrência da imaturidade do sistema imune, anomalias congênitas, hospitalização prolongada e utilização de dispositivos invasivos (Zaidi *et al.*, 1989).

As infecções no recém-nascido são hospitalares, com exceção das transmitidas de forma transplacentária e aquelas associadas a bolsa rota superior a 24 horas (Ministério da Saúde, 1998). As infecções adquiridas através da mãe, representam aproximadamente 15% das infecções sangüíneas e pneumonias nos Berçários de Alto Risco (BARs) (Gaynes *et al.*, 1996).

As taxas de IH em Unidades de Terapia Intensiva Neonatais (UTINs) são elevadas variando de 7% a 25% (Khan *et al.*, 1997; Harris, 1997). O “National Nosocomial Infections Surveillance System” (NNISS) do “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) relata uma alta taxa de bacteremias hospitalares em BARs especialmente em neonatos de baixo peso, comparado com outras Unidades de Terapia Intensiva, com exceção da unidade de queimados (Siegel, 1998). O BAR é um dos principais focos para vigilância e prevenção de IH pelos Serviços de Controle de Infecção Hospitalar (SCIHs) devido as altas taxas de morbidade e mortalidade que apresentam (Cavalcante *et al.*, 1991).

Siegel (1998), em um estudo envolvendo 904 neonatos verificou uma taxa de IH global de 15,3%; 14% dessas infecções eram bacteremias, 29,3% pneumonias, 8,1% infecções de ferida cirúrgica, 4,5% infecções de trato urinário e 4,0% meningites. Goldmann (1981) estudou a incidência de IH em UTIN mostrando que, o risco aumentado de infecção estava associado com o baixo peso ao nascer, cirurgia e múltiplos procedimentos invasivos.

Um programa de vigilância ativa é um componente essencial de prevenção das IH (Emory, Gaynes, 1993; Gaynes, 1998). Em muitos hospitais a investigação de resultados de culturas positivas é realizada pelos SCIHs. Os membros desses serviços identificam no laboratório de microbiologia do hospital as cepas relacionadas com as infecções, particularmente as de patógenos epidemiologicamente importantes, tais como os de isolados multiresistentes como parte de um programa de prevenção de infecção nos BARs. Quando há uma identificação de surto, os SCIHs e os laboratórios de microbiologia devem estocar as amostras para posterior análise epidemiológica (Jarvis, 1998; Siegel, 1998).

As culturas de rotina da superfície corpórea (pele, umbigo, mucosas,

aspirado traqueal, swab retal) dos recém-nascidos são de grande valia durante um surto para identificar neonatos que estão colonizados, sobretudo aqueles que estão em grupos de risco de infecções por patógenos tais como: *Staphylococcus aureus*, resistente à meticilina (MRSA), *Enterococcus*, resistente à vancomicina (VRE) e bacilos Gram negativos multiresistentes (Siegel, 1998).

No geral, as infecções em neonatos são classificadas em: fetais, perinatais e pós-parto e as IH estão incluídas nas duas últimas. As infecções perinatais ocorrem durante o trabalho de parto e são de aquisição vertical podendo resultar em infecções persistentes, seqüelas crônicas ou doença sistêmica seguida de morte. As infecções pós-parto são de natureza hospitalar ou comunitária, sendo que a pele e as mucosas do feto tornam-se contaminadas a partir das mãos de profissionais de saúde e do leite, logo após o nascimento (Waggoner-Fontain, Donowitz, 1997).

Os microrganismos que normalmente colonizam o neonato são patogênicos potenciais em hospedeiros com imunidade comprometida, resultando em riscos de infecções (Plotkin, Starr, 1981; Alford, Pass, 1981). Os neonatos são particularmente vulneráveis à colonização intestinal por esses germes devido a ausência de uma microbiota normal protetora na mucosa gastrointestinal (Waggoner-Fontain, Donowitz, 1997).

A pele do recém-nascido é mais suscetível aos microrganismos do que a de crianças mais velhas e as infecções nesse sítio podem ocasionalmente evoluir para infecções mais graves tais como endocardites, pneumonias, osteomielites e meningites. Além disso, determinadas doenças como diabetes, insuficiência renal ou hepática e pelo uso de medicamentos imunossupressores elevam as taxas de morbidade e mortalidade em recém-nascidos imunocomprometidos (Lopes, Ayub, 1999).

Os fatores de risco que predispõem a estas infecções em unidades

neonatais podem ser divididos em: intrínsecos, ou seja, inerentes ao próprio paciente, como idade, sistema imune imaturo, proteção diminuída no que se refere a barreiras naturais como a pele, ausência de microbiota endógena, baixo peso, prematuridade e gravidade da doença de base; e extrínsecos, que incluem as intervenções cirúrgicas, presença de dispositivos invasivos representados sobretudo por cateteres intravasculares periféricos e centrais, tubos endotraqueais, respiradores, sondas nasogástricas, vesicais e drenos (Siegel, 1998; Singh-Naz, 1996).

O uso de antimicrobianos de forma excessiva e indiscriminada, particularmente em países do terceiro mundo, favorece a emergência de microrganismos multiresistentes. As infecções por estes microrganismos aumentam os custos relativos aos tratamentos que são, pelo menos, duplicados se comparados ao tratamento daquelas provocadas por bactérias suscetíveis (Degener *et al.*, 1985; Cavalcante *et al.*, 1991; Amyes, Gemmel, 1997; Lopes, Ayub, 1999).

As IH causadas por bacilos Gram negativos em UTINs estão associadas com elevadas taxas de letalidade como: 40,0% (variando de 24,0% a 62,0%) na investigação de Stoll *et al.* (1996), e de 90,0 a 100,0% nos dados relatados por Toltzis e Blumer (1995).

As IH são classificadas em endêmicas e epidêmicas (McGowan, Metchock, 1995). Os surtos embora respondam por uma pequena proporção (5,0% a 10,0%) do total de IH, são de grande interesse não apenas pela sua repercussão mas também por englobar infecções passíveis de serem prevenidas (McGowan, Metchock, 1995). As variações nas taxas de incidência referentes às infecções endêmicas não são estatisticamente diferentes, enquanto o mesmo não ocorre quando se compara as taxas definidas por ocasião de surtos/epidemias (Jarvis, 1998).

As epidemias são muito comuns em BARs estando associadas

particularmente às bactérias e vírus. Entre as bactérias, destacam-se as Gram negativas da família Enterobacteriaceae incluindo: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp, *Serratia marcescens*, *Citrobacter diversus*, *Salmonella* spp e as não fermentadoras como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp (Toltzis, Blumer, 1995). As manifestações clínicas mais observadas em infecções por esses microrganismos são: oftalmite necrotizante, pneumonia, choque endotóxico, meningite entre outros (Siegel, 1998).

A *Serratia marcescens* é um bacilo Gram negativo aeróbico, móvel, de existência ubiqüitária especificamente a água e o solo (McCormack, Kunin, 1966; Yu, 1979; Archibald *et al.*, 1997). Algumas amostras produzem pigmentação cuja intensidade varia de vermelho escuro a rosa claro dependendo da idade das colônias. O pigmento pode estar presente após incubação à temperatura ambiente, mas usualmente desaparece após subcultivos. O microrganismo é isolado a partir de água, solo, esgoto, alimentos e animais (Yu, 1979).

A *Serratia marcescens* foi primeiramente descrita por Bartolomeo Bizio em 1823, sendo relatada como contaminante de alimentos (Waisman, Stone, 1958). Até 1950, foi considerada uma bactéria saprófita sem importância médica, mas em meados dos anos 60 surgiram os primeiros relatos de surtos hospitalares por este microrganismo e o seu reconhecimento como um patógeno oportunista importante (Yu, 1979). *Serratia marcescens* está associada a infecções do trato respiratório (abscesso pulmonar, pneumonia e empiema), trato urinário, meningite, otite, peritonite, endocardite, conjuntivite e infecções de pele (Stenderup, Faergem, Ingerslev, 1966). Esta bactéria pode colonizar assintomaticamente a pele e a mucosa do trato gastrointestinal de pacientes hospitalizados que em alguns casos resulta em infecção invasiva e

septicemia, especialmente em pacientes cirúrgicos e imunocomprometidos (Luzzaro *et al.*, 1998). O uso intensivo e indiscriminado de antimicrobianos como penicilinas de amplo espectro e cefalosporinas de primeira geração teve influência na emergência desse germe como um patógeno hospitalar (Sheidt *et al.*, 1982).

Surtos de infecção causados por *Serratia marcescens* geralmente são difíceis de controlar devido a sua rápida disseminação dentro do ambiente hospitalar (Singh-Naz, 1996). Tais surtos foram relatados em UTIs, bem como em outras unidades como de urologia e berçários. A frequência da sua participação na etiologia de infecções hospitalares varia de hospital para hospital em uma dada área geográfica e pode refletir a taxa de uso dos antimicrobianos (Sheidt *et al.*, 1982).

Diversas fontes foram associadas a surtos hospitalares por *Serratia marcescens*, incluindo pias, alimentos, flores, fita adesiva, água destilada, desinfetantes, anti-sépticos, nebulizadores, equipamentos de terapia respiratória, cateteres, monitores de pressão arterial, sabão, entre outros (Van Ogtrop *et al.*, 1997). Esse microrganismo foi isolado de pisos de enfermarias onde pacientes colonizados estavam internados (Oie *et al.*, 1992; Van Ogtrop *et al.*, 1997).

A principal via de disseminação dessa bactéria é através do contato direto, pelas mãos de profissionais de saúde contaminadas no exercício de suas atividades. A transmissão interhospitalar de *Serratia marcescens* tem sido relatada, ocorrendo provavelmente através das mãos contaminadas de profissionais de saúde que carregam as amostras epidêmicas de uma instituição hospitalar para outra (Herra *et al.*, 1998). O trato gastrointestinal é o reservatório mais importante em neonatos (Newport *et al.*, 1985), mas na prática, a fonte de um surto por *Serratia marcescens* em BARs é raramente identificada (Singh-Naz, 1996). Na maioria dos casos a fonte de

infecção é um recém nascido infectado, mas a origem do patógeno associado ao caso índice permanece desconhecido (Archibald *et al.*, 1997). De acordo com pesquisa realizada por Goldmann (1981), os pacientes que são colonizados por bacilos Gram negativos durante a hospitalização possuem um risco aumentado para o desenvolvimento de IH.

Os fatores de risco para aquisição de infecção ou colonização por *Serratia marcescens* em BARs incluem: corioamnionite no momento do parto, imunidade diminuída, prematuridade, baixo peso, número baixo de Apgar (anexo-I), tempo de internação e uso de procedimentos invasivos (Archibald *et al.*, 1997). Além da mucosa intestinal, como foi referido no parágrafo anterior, o trato respiratório também pode representar uma porta de entrada para *Serratia marcescens* em pacientes que utilizam procedimentos respiratórios invasivos (Stoll *et al.*, 1996; Van Ogtrop *et al.*, 1997).

O controle de um surto de infecção por *Serratia marcescens* pode ser obtido através de medidas que impeçam a transmissão a partir de um paciente infectado/colonizado para aqueles não infectados/não colonizados através da implementação do isolamento de coorte, rigor na prática de lavagem das mãos e desinfecção dos equipamentos e superfícies ambientais (Singh-Naz, 1996).

Em se tratando de BARs, a lavagem das mãos pelos profissionais de saúde antes e após o contato com o paciente é uma das medidas mais importantes na prevenção de IH. A recomendação para o número de pias no berçário é a que se segue: 1) uma pia na entrada de cada berçário com torneiras operando por controle de pé. 2) lavabos para, no mínimo, 6 a 8 crianças normais e para cada 3 a 4 pacientes nas unidades de admissão, observação, intermediário ou UTIN (Village, 1992). No entanto estudos tem mostrado que somente 20,0 a 30,0% dos profissionais de saúde lavam

suas mãos após o contato com o paciente ou manuseio de equipamento contaminado (Jarvis, 1994). No trabalho realizado por Lima *et al.* (1999), no Pronto Socorro do HC-UFU observou-se a não adesão à lavagem das mãos pelos profissionais de saúde desta unidade.

Nas mãos pode-se verificar a presença de microbiotas transitória e permanente. A microbiota transitória também denominada contaminante ou não-colonizante, inclui os microrganismos que normalmente não estão presentes na maioria das pessoas e são adquiridas quando do uso das mãos nas atividades cotidianas. Esta microbiota apesar de ser transitória é considerada a de maior interesse por estar mais associada a transmissão de infecção. Ela pode ser removida por fricção mecânica e lavagem das mãos com água e sabão enquanto a permanente é encontrada na maioria das pessoas e exige o uso de anti-séptico - detergente para sua remoção (Sheidt *et al.*, 1982; Larson, 1995; Van Ogtrop *et al.*, 1997).

Nos últimos vinte anos tem ocorrido a emergência de um grupo heterogêneo de patógenos Gram-negativos aeróbicos resistentes aos antimicrobianos que inclui *Enterobacter* spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp, *Serratia marcescens* e *Escherichia coli*. A utilização de cefalosporinas de terceira geração e amicacina estão fortemente relacionadas ao surgimento desses microrganismos associados a surtos em UTINs (Toltzis, Blumer, 1995).

Entre os mecanismos de resistência bacteriana aos β -lactâmicos observados para esses microrganismos o mais importante é a presença de β -lactamases, enzimas capazes de hidrolisar a ligação amida do anel β -lactâmico levando à inativação do antibiótico (Jacoby, Medeiros, 1991). Estas enzimas constituem uma família cujo número está próximo de duzentos e continua aumentando. Há uma variedade de classificações, resultando em alguma confusão na nomenclatura, mas o esquema mais

usado é baseado na estrutura molecular-evolutiva proposta por Ambler (Koneman et al., 1997). O grupo mais importante é o da classe A, representado por serina/proteases, que são codificadas por genes cromossomais e plasmidiais e podem ser produzidas constitutivamente ou requerer indução. As enzimas da classe C são primariamente cefalosporinases constitutivas ou induzidas, que são codificadas em cromossomas de bactérias Gram negativas. As enzimas da classe B (metalo – enzimas, que exigem zinco como um cofator) e classe D (oxacilinas) são menos importantes clinicamente (Bryan, Kewan, 1983). Recentemente uma nova classificação idealizada por Bush, Jacoby e Medeiros (1995), foi proposta com base nas características funcionais e moleculares destas β -lactamases.

Entre as β -lactamases mais frequentemente encontradas em patógenos Gram negativos hospitalares como: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp, *Providencia* spp, *Morganella morganii* e *Pseudomonas aeruginosa* estão as cefalosporinases da classe C (grupo I, enzima AmpC), que são induzidas e codificadas cromossomicamente. Essas enzimas inativam cefalosporinas e penicilinas (Jarlier et al., 1988; Jacoby, Medeiros, 1991; Moellering Jr., Sentochnick, 1992; Sanders, Thompson, Bradford, 1993; Jacoby, 1997).

Nesta última década surgiram as “ Extended Spectrum β -Lactamases” (ESBLs) que são penicilinases da classe A e são inativadas por inibidores de β -lactamases como o ácido clavulânico. Estas enzimas são plasmidiais e são capazes de hidrolisar as cefalosporinas de terceira geração (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima) e aztreonam, mas são usualmente sensíveis a cefoxitina. Elas são derivadas principalmente de β -lactamases de espectro restrito (TEM-I, SHV-I). Entre as

Enterobacteriaceae, estas enzimas são mais prevalentes em *Klebsiella pneumoniae*, mas foram descritas em quase todas as demais incluindo *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Morganella morganii*, *Salmonella* spp e *Proteus* spp. A emergência desses microrganismos foi correlacionada sobretudo ao uso crescente de cefalosporinas de terceira geração nos hospitais especialmente a ceftazidima (Nordmann, 1998).

Juntamente com as ESBLs ocorreu a emergência de cefalosporinases mediadas por plasmídios que são pertencentes a classe C, estando relacionadas a enzima AmpC, codificadas no cromossoma e são detectadas principalmente em *Citrobacter freundii*. Elas apresentam resistência à cefoxitina, oximino cefalosporinas e aztreonam; mas não são inibidas pelo ácido clavulânico e são expressas constitutivamente, ao contrário das ESBLs e cefalosporinases AmpC, respectivamente (Nordmann, 1998). A epidemiologia da disseminação dessas enzimas não é conhecida. Em estudo recente realizado nos Estados Unidos a prevalência dos isolados com as mesmas foi maior do que com ESBL do tipo TEM (Jacoby *et al.*, 1997)

Embora as carbapenemas (imipenema e meropenema) tenham uma reputação de estabilidade à ação das β -lactamases, foi descrita a presença de carbapenemases pertencentes às penicilinas da classe A ou a metaloenzimas da classe B. Entre as da classe A três genes foram seqüenciados até o momento: Nmc-A, Sme-I, IMI-I (Medeiros, 1997). As enzimas expressas por esses genes são suscetíveis ao ácido clavulânico, são codificadas por genes cromossomais e foram encontradas em amostras de *Enterobacter cloacae* e *Serratia marcescens*. No entanto, elas permanecem limitadas aos isolados originais, diferentemente da carbapenemase da classe B, IMP-I. Esta enzima não só é mais ativa contra as carbapenemas do que as da classe A mas ainda hidrolisam as cefalosporinas de terceira geração. A atividade do IMP-I não é inibida pelo ácido clavulânico e

embora o gene originalmente tenha sido identificado em *Serratia marcescens*, codificado no cromossoma, posteriormente foi caracterizado em plasmídios. Este tipo de resistência é bastante prevalente no Japão (Ito, et al., 1995 ; Amyes, Gemmell, 1997).

Entre os principais fatores de risco associados à infecção por microrganismos produtores de ESBLs relacionam-se: a duração da hospitalização, internação em Unidades de Terapia Intensiva, gravidade da doença de base, uso de antibióticos, cirurgias e outros procedimentos invasivos. A colonização do trato gastrointestinal é outro fator de risco importante para infecção por estas bactérias e a participação do ambiente como reservatório ainda é relevante (Jacoby, Archer, 1991; Livermore, 1995; Jacoby, 1997; Jones *et al.*, 1997; Luzzaro *et al.*, 1998).

A tipagem epidemiológica de microrganismos é uma poderosa ferramenta para determinar se um pequeno grupo de casos representa um surto em uma determinada enfermaria. Os métodos de tipagem são classificados em fenotípicos (clássicos) e genotípicos (Maslow, Mulligan, 1996; Cimolai, 1997). Os principais critérios utilizados para caracterizar os sistemas de tipagem são: tipabilidade, capacidade do teste de fornecer um resultado preciso para cada isolado examinado; reprodutibilidade, capacidade da técnica em produzir o mesmo resultado quando a cepa é testada repetidamente; poder de discriminação, define a capacidade do teste para discriminar entre isolados não relacionados; facilidade de interpretação e de realização. O sistema de tipagem ideal deve ser rápido, barato e de fácil realização no laboratório (Maslow, Mulligan, Arbeit, 1993)

As técnicas fenotípicas detectam os produtos da expressão de genes envolvendo propriedades como a suscetibilidade antimicrobiana, biotipagem, sorotipagem, eletroforese em gel de poliacrilamida e

immunoblotting. Estas propriedades tem uma tendência a variar baseado nas mudanças de condições e fase de crescimento e mutação espontânea. Os sistemas de tipagem fenotípicas como o antibiograma e a fagotipagem fazem parte da rotina de muitos laboratórios de microbiologia clínica, mas possuem limitação na capacidade de tipificação e reprodutibilidade (Tenover, 1997).

As técnicas genotípicas, de uma maneira geral, apresentam alta tipabilidade, reprodutibilidade e poder discriminatório de cepas, mas são impraticáveis na maioria dos laboratórios de microbiologia clínica (Tompkins, Falkow, 1992). Essas técnicas estão menos sujeitas a variação natural, embora possam ser afetadas por inserções ou deleções de DNA cromossomal, aquisição ou perda de DNA extracromossomal, ou ainda sofrem mutações aleatórias que podem criar ou eliminar sítios da endonuclease de restrição. Entre estas técnicas destaca-se-se: perfil plasmidial, análise da endonuclease de restrição plasmidial, análise da endonuclease de restrição cromossomal, ribotipagem, eletroforese de campo pulsado em gel ("Pulsed Field Gel Electrophoresis", PFGE), reação em cadeia da polimerase (PCR) entre outras (Podlorski, Persing, 1995; Maslow, Mulligan, 1996; Tenover, 1997).

Vários métodos foram propostos para tipagem de *Serratia marcescens* com propósitos epidemiológicos, incluindo: biotipagem onde dos 19 biotipos estabelecidos, somente seis produzem pigmento (Grimont e Grimont, 1978; Grimont *et al.*, 1979), antibiograma, sorotipagem, fagotipagem entre os métodos clássicos e análise plasmidial, análise de DNA por endonuclease, ribotipagem, PCR e PFGE entre os genotípicos. Em estudos epidemiológicos, técnicas de tipagem molecular são preferidas para diferenciar cepas (Miranda *et al.*, 1996).

Ao contrário do observado nos países do hemisfério Norte a

assistência materno infantil no Brasil é precária e caracterizada por maternidades superlotadas, carência de leitos nas UTINs e unidades de cuidados intermediários, alta taxa de mortalidade materna e insuficiência no pré-natal. Adicionalmente, os profissionais de saúde que atuam nessas unidades trabalham em condições inadequadas havendo risco potencial de surtos de IH com taxas significativas de morbidade e mortalidade (Maria, 1999). Investigações de surtos são da maior importância porque normalmente resultam na prevenção de IH e oferecem uma excelente oportunidade dentro de programas de educação quanto as práticas de controle de infecção. A descrição deste surto oferece uma boa oportunidade para o conhecimento da cadeia epidemiológica e a conseqüente implementação de medidas de controle sem a necessidade de medidas radicais como o fechamento da unidade.

2- OBJETIVOS:

Os objetivos do trabalho foram:

- Geral

Investigar um surto por *Serratia marcescens* no Berçário de Alto Risco (BAR) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia ocorrido no período de dezembro de 1997 a março de 1998.

- Específicos

Estudar a epidemiologia do surto quanto aos aspectos clássicos de fatores de risco, reservatório e via de transmissão; e analisar as características fenotípicas dos isolados de *Serratia marcescens* provenientes de casos de infecção, colonização e fontes ambientais.

3- CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1- Hospital:

O estudo foi realizado no Berçário de Alto Risco (BAR) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia que é um hospital terciário e de ensino. O BAR compreende 45 leitos, sendo dividido nas seguintes unidades:

Tabela 1: Descrição do espaço físico do BAR do HC-UFU:

Unidades	Características dos pacientes	Nº de leitos
UTI-I	a) neonatos de outros hospitais de Uberlândia	3 leitos
Alto Risco	b) neonatos do HC-UFU neonatos que requerem maiores cuidados	3 leitos 5 leitos
Intermediário I	neonatos em recuperação	11 leitos
Intermediário II	neonatos em recuperação	9 leitos
Isolamento	neonatos com doença infecto-contagiosa	3 leitos
Admissão	Neonatos recebem os primeiros cuidados após o parto	4 leitos
Berçário Externo	neonatos que vieram de cidades próximas a Uberlândia	7 leitos

Maiores detalhes na figura 1:

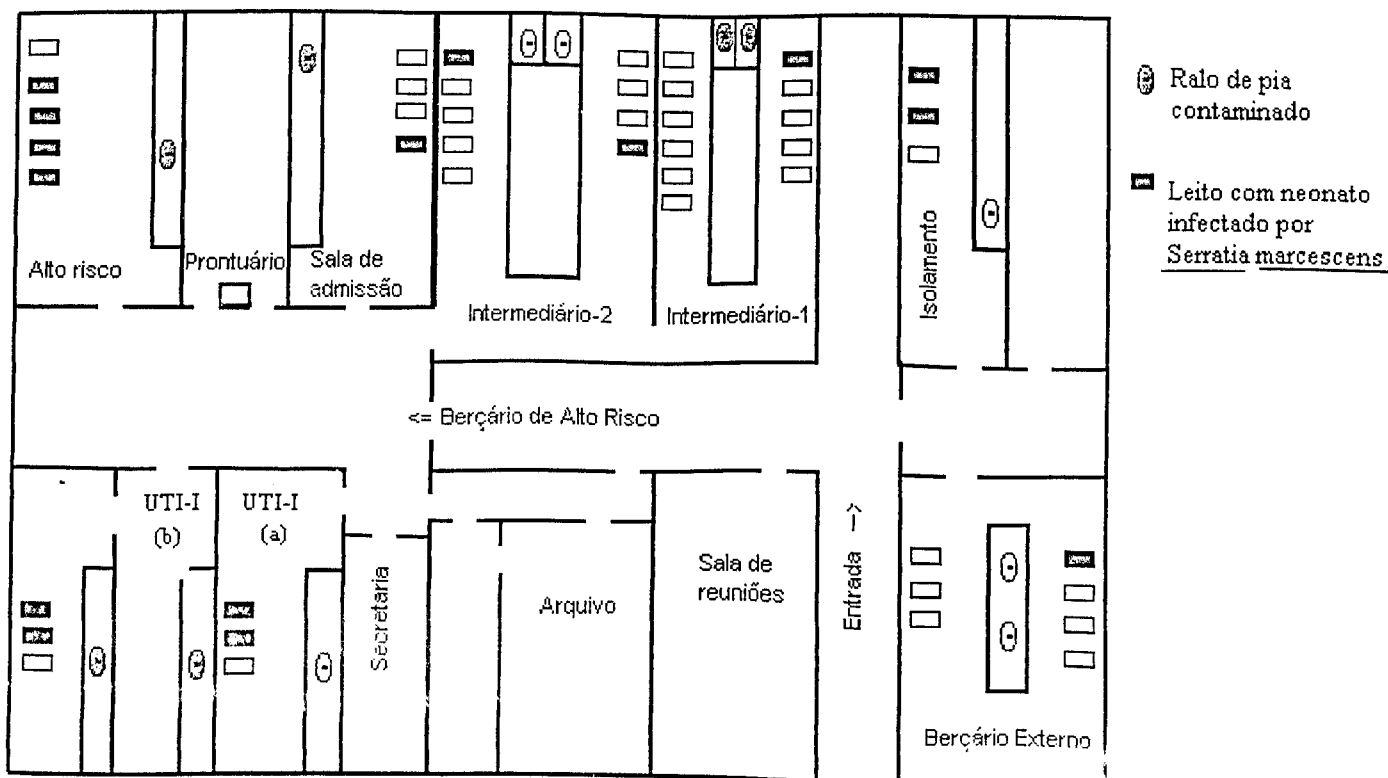


Figura 1- Diagrama do Berçário de Alto Risco do HC da UFU (Dezembro de 1997)

3.2 - Desenho do estudo:

3.2.1-Estudo caso-controle:

Os neonatos com diagnóstico microbiológico de infecção por *Serratia marcescens* (n=15) no período de dezembro de 97 a março de 98 constituíram os casos. Os demais neonatos, internados no mesmo período, sem diagnóstico de doença ou síndrome infecciosa (n=52) representaram os controles (neonatos colonizados juntamente com os não colonizados). A localização dos casos nas respectivas incubadoras ou berços está assinalada na Figura 1.

Uma ficha individual foi preenchida com dados demográficos do paciente acrescidos de: peso, idade gestacional, uso de antimicrobianos, incluindo exposição à cefalosporinas e carbapenemas, procedimentos invasivos, tempo de hospitalização, número de Apgar nos primeiros cinco minutos, doença de base e se estavam mantidos em incubadoras (anexo - II).

3.3- Procedimentos Laboratoriais:

3.3.1- Coleta de espécimes:

Espécimes clínicos de orofaringe e reto foram coletados com "swabs" de 74 neonatos em três coletas realizadas no período do surto (dezembro de 97 (n=41), fevereiro de 98 (n=26) e março de 98 (n=7)), isto somado a quatro espécimes clínicos de crianças com infecção por *Serratia marcescens* que vieram do laboratório do HC-UFU. Após a resolução do

surto, em julho de 98, foram coletados espécimes clínicos provenientes de orofaringe e reto de 45 neonatos. Adicionalmente foram coletadas amostras no período epidêmico, a partir das mãos de médicos, enfermeiras e de vários itens do Berçário de Alto Risco, incluindo: sabão líquido, sabão em barra, anti-séptico (álcool a 70%), anti-séptico (PVP-I), solução germicida de glutaraldeído, colírio de nitrato de prata, traquéia, parede interna da incubadora, água do umidificador do circuito do respirador, água de torneira e ralo da pia, compreendendo um total de 39 materiais. Juntamente com a coleta dos neonatos em julho de 98 (período endêmico) foram coletados 38 materiais de ambiente. As coletas foram realizadas com “swabs” e estes transportados até o laboratório de Microbiologia em tubos contendo “Trypticase Soy Broth” (TSB) (Collins, Lyne, Grange, 1995).

3.3.2- Cultivo primário:

Os espécimes clínicos e amostras tanto de ambiente quanto das mãos de profissionais de saúde foram semeados em placas de ágar MacConkey e incubadas à 37°C por um período de 24 a 48 horas (Koneman *et al*, 1997).

3.3.3- Identificação dos isolados de *Serratia marcescens*:

Os isolados foram caracterizados como da família Enterobacteriaceae (agar MacConkey) através dos seguintes testes: oxidase e metabolismo Oxidativo/Fermentativo (OF).

A identificação a nível de gênero e espécie foi realizada através dos seguintes testes: fermentação da lactose, produção de indol, motilidade, utilização do citrato, hidrólise da uréia, produção de H₂S e lisina

desarboxilase (Isenberg, 1992).

3.3.4- Estocagem das amostras:

As amostras foram mantidas em tubos de ágar estoque (Collins, Lyne, Grange, 1995) em freezer a -20°C , até a realização dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos. A fórmula utilizada para o ágar estoque encontra-se no anexo-III.

3.3.5- Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos:

3.3.5.1- Teste de difusão em gel:

As amostras estocadas foram subcultivadas em “Trypticase Soy Agar” (TSA) pela técnica de esgotamento e incubadas a 37°C por 24 horas. Cerca de 3 a 5 colônias que cresceram no TSA foram semeadas em tubos contendo 3 mL de caldo BHI. A suspensão resultante foi incubada a 37°C até atingir uma turvação equivalente a escala 0,5 de McFarland que corresponde a uma concentração de aproximadamente $1-2 \cdot 10^8$ unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL). Com o auxílio de um “swab” a cultura foi semeada em placas de ágar Mueller - Hinton, segundo a metodologia do “National Committee for Clinical for Laboratory Standards” (NCCLS) M₂-A₅ (NCCLS, 1997b). As leituras foram realizadas após a incubação a 37°C , por 24 a 48 horas.

Foi utilizada amostra de *Escherichia coli* ATCC- 25922 como controle.

Foram utilizados os seguintes discos de antimicrobianos: ampicilina (10 μ g), cefalotina (30 μ g), amoxicilina (30 μ g), cefoxitina (30 μ g), cefotaxima (30 μ g), ceftriaxona (30 μ g), ceftazidima (30 μ g), imipenema (10 μ g), aztreonam (30 μ g), cefepima (30 μ g), cefepiroma (30 μ g), gentamicina (10 μ g), amicacina (30 μ g), tetraciclina (30 μ g), ciprofloxacina (5 μ g), pefloxacina (5 μ g) e sulfazotrim (25 μ g).

3.3.5.2- Teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM):

Foi realizado de acordo com a técnica recomendada pelo “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS) M₇-A₄ (NCCLS, 1997a). Foi inoculado um volume de 5 μ L ($5 \cdot 10^6$ UFC/mL) de uma suspensão bacteriana padronizada na escala 0,5 de McFarland, com o auxílio de um inoculador do tipo Steers, na superfície de placas de ágar Mueller Hinton, adicionadas das seguintes concentrações de antimicrobianos:

- a. Ceftazidime: 0,5 μ g/mL, 1 μ g/mL, 2 μ g/mL, 4 μ g/mL, 8 μ g/mL, 16 μ g/mL, 32 μ g/mL, 64 μ g/mL, 128 μ g/mL e 256 μ g/mL.
- b. Cefepima: 0,5 μ g/mL, 1 μ g/mL, 2 μ g/mL, 4 μ g/mL, 8 μ g/mL, 16 μ g/mL, 32 μ g/mL, 64 μ g/mL, 128 μ g/mL e 256 μ g/mL.

Foi utilizada a amostra de *Escherichia coli* ATCC 25922 como controle.

3.3.5.3- Teste de sinergismo com duplo disco:

A detecção de isolados de *Serratia marcescens* produtores de β -lactamases de espectro extendido foi obtida quando as amostras foram

semeadas em placas de ágar Mueller Hinton seguindo a aplicação de discos de papel contendo amoxicilina mais ácido clavulânico, ceftazidima, cefotaxima e aztreonam sobre a superfície semeada distante um dos outros cerca de 20 mm. A incubação das culturas foi realizada a 37°C por 24 horas. Leitura e interpretação: nos casos positivos foi observado uma intensificação na inibição do crescimento microbiano na zona de coalescência dos halos de inibição observados para o disco de amoxicilina mais ácido clavulânico e a cefalosporina de terceira geração ou aztreonam (Livermore, 1995). Amostras de *Escherichia coli* ATCC 25922 (controle negativo) e de *Klebsiella pneumoniae*, Micro-23 (controle positivo) foram utilizadas como controle.

3.4- Análise estatística:

Foi realizada uma análise univariada na avaliação dos fatores de risco para aquisição de infecção por *Serratia marcescens*. Os testes utilizados foram o χ^2 e exato de Fisher para analisar proporções e *t* de Student para analisar a média de variáveis quantitativas entre as duas populações, sendo considerado um $\alpha=0,05$. O teste do χ^2 é realizado para comparação entre variáveis qualitativas com o *n* maior que 5, o teste exato de Fisher para analisar as variáveis qualitativas com o *n* menor ou igual a 5 e o *t* de Student para analisar variáveis quantitativas. Os dados epidemiológicos foram analisados utilizando-se o programa Epi-Info, Versão 5.0 (Dean, *et al.* 1995).

4- RESULTADOS

O surto de infecções por *Serratia marcescens* em neonatos incluiu 15 crianças e ocorreu entre dezembro de 1997 e março de 1998, como evidenciado na figura 2. No mesmo período foram detectados através de três estudos de prevalência pontual, 38 (51,3 %) recém-nascidos colonizados nos tratos intestinal e/ou respiratório sendo que 25 (65,8%) neonatos foram colonizados em ambos os sítios, 7 destes somente no intestino e 6 no trato respiratório. A situação endêmica em relação às infecções por este microrganismo no BAR também é mostrada na figura 2, com a detecção de três casos nos quatro meses que antecederam e seis que sucederam o surto, segundo registros do Serviço de Controle de Infecções Hospitalares do HC-UFU.

O estudo de prevalência de colonizações na boca e/ou intestino por *Serratia marcescens* mostrou taxas de 63,4% em dezembro (sendo que dos 41 neonatos coletados 26 estavam colonizados pelo microrganismo), 34,6% em fevereiro (dos 26 neonatos coletados 9 estavam colonizados) e 42,9% em março (7 coletados e 3 colonizados) e 4,4% em julho - período pós-surto (2/45), conforme está na figura 2.

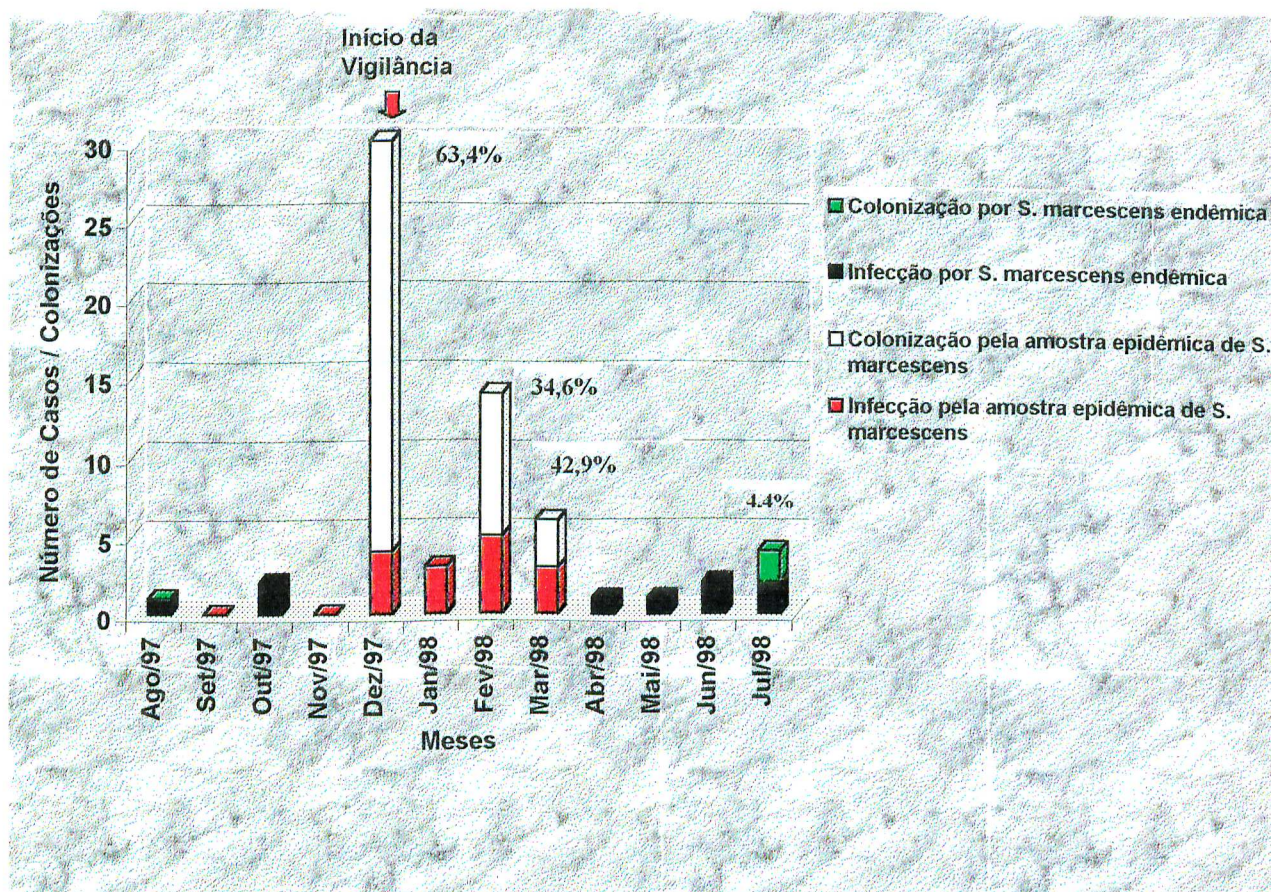


Figura 2: Distribuição dos neonatos infectados/colonizados por *Serratia marcescens* no BAR do HC-UFU no período de agosto de 1997 a julho de 1998.

Na tabela 2 estão representadas as características clínicas dos neonatos infectados por *Serratia marcescens* incluindo: síndromes infecciosas, diagnósticos, procedimentos invasivos, pesos, cuidado em incubadoras e uso de antibióticos. O caso considerado como índice foi diagnosticado na quarta semana de dezembro, tratando-se de uma sepse. No total, pode-se observar as seguintes síndromes infecciosas: conjuntivite (n=7), sepse (n=5), otite (n=1) e cistite (n=1), uma das crianças

desenvolveu sepse e conjuntivite. Entre os casos de sepse, quatro (66,6%) evoluíram para o óbito, incluindo o caso índice. Foi verificado que uma grande parte dos neonatos tinham o peso inferior a 1500g, estavam mantidos em incubadoras e utilizavam antibióticos; com poucas exceções de três (> 1500g), quatro (não estavam em incubadoras) e dois neonatos (não utilizavam antibióticos).

Tabela 2- Características clínicas dos 15 neonatos infectados por *Serratia marcescens* durante um surto no BAR do HC-UFU, no período de dezembro de 1997 a março de 1998.

Casos	Infeção ^c	Diagnóstico ^a	Procedimentos invasivos	Peso	Incubadora	Antibióticos	Evolução
1 ^b	sepse	DCP	CVP	1350g	+	+	óbito
2	sepse	DMH	intubação	1300g	+	-	óbito
3	conjuntivite	encefalopatia	dreno	1060g	+	+	alta
4	otite	prematuridade	intubação	1050g	+	+	alta
5	sepse	enterocolite	CVU	1290g	+	+	alta
6	conjuntivite	asfixia ao nascer	CVP	1480g	+	-	alta
7	conjuntivite	hemorragia intracraniana	intubação	1230g	+	+	alta
8	sepse	DCP	CVP	1320	+	+	óbito
9	urinária	hidronefrose	-	990g	+	+	alta
10	conjuntivite e sepse	DMH	intubação	870g	+	+	alta
11	conjuntivite	pneumonia	CVP	700g	-	+	óbito
12	conjuntivite	DMH	CVP	900g	+	+	alta
13	conjuntivite	meningite	CVP	3040g	-	+	alta
14	sepse	hidrocefalia	dreno torácico, válvula	1540g	-	+	óbito
15	conjuntivite	pneumotórax	dreno urinário	1700g	-	+	alta

^a - DCP- Doença Crônica Pulmonar, DMH- Doença da Membrana Hialina, CVP- Catéter Venoso Periférico, CVU- Catéter Venoso Umbilical

^b - Caso índice

^c - As síndromes infecciosas foram designadas baseadas no diagnóstico clínico dos profissionais da área

Na tabela 3 estão os fatores de risco para infecção por *Serratia marcescens*. Foi comparado o grupo de casos (n=15) com o grupo controle (n=52), sendo excluídos os recém nascidos (n=11) com infecções de outra etiologia. Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$) em relação aos seguintes itens: baixo peso ao nascer ($< 1500\text{g}$), presença em incubadora, uso de carbapenemas, duração da hospitalização (≥ 7 dias), prematuridade e número baixo de Apgar nos primeiros cinco minutos de vida.

Tabela 3: Fatores de risco para aquisição de infecção por *Serratia marcescens*

Fator de risco	Casos N=15		Controles N=52		OR (IC)	Valor p
	N	%	N	%		
Peso						
> 1500g	2	13.3	38	73.1	0.06(0.01-0.32)	0.0001*
≤ 1500g	13	86.7	14	27.0		
Sexo						
Feminino	8	53.3	35	67.3	0.56(0.15-2.07)	0.5
Masculino	7	46.4	17	32.7		
Idade						
> 7 dias	11	73.3	31	59.6	1.86(0.46-8.10)	0.51
≤ 7 dias	4	26.7	21	40.4		
Incubadora	12	80.0	14	26.9	10.86(2.32-57.77)	0.0006*
Uso de antibiótico	13	86.7	34	65.4	3.44(0.62-24.83)	0.19
Uso de carbapenemas	10	66.7	8	15.4	11.0(2.53-51.46)	0.0003*
Duração da hospitalização (≥ 7 dias)	15	100.0	38	73.1	indefinido	0.03*
Semanas de gestação						
26-29	4	26.6	3	5.8	5.94(0.93-40.62)	0.04*
30-33	9	60.0	13	25.0	4.50(1.16-18.03)	0.03*
34-36	2	13.4	36	69.2	0.07(0.01-0.38)	0.0004*
Apgar (Primeiros 5 minutos)						
0-4	4	26.6	3	5.8	5.94(0.93-40.62)	0.04*
5-7	10	66.7	24	46.1	2.33(0.61-9.25)	0.27
8-10	1	6.7	25	48.1	0.08(0.00-0.64)	0.009*

* $p \leq 0.05$ (estatisticamente significativa)

No total, foram obtidas 73 amostras durante o surto e 24 correspondentes a períodos endêmicos. Com relação as amostras referentes aos casos de infecção, foram obtidas apenas quatro (5,5%) no período epidêmico e nove (37,5%) no endêmico. O espectro de suscetibilidade aos antimicrobianos da amostra referida como epidêmica evidenciou como característica marcante a resistência (100,0% das amostras) à ceftazidima, propriedade não observada nos isolados de recém-nascidos nem nos de ambiente fora do período epidêmico (tabela 4). Adicionalmente, 63 amostras de 38 neonatos colonizados e seis provenientes de ralos de pias (figura 1) demonstraram o mesmo perfil de resistência que a amostra epidêmica. Os únicos três isolados obtidos a partir de pacientes colonizados no período pós-surto (tabela 4) também apresentaram-se como multiresistentes, mas com suscetibilidade à ceftazidima.

Cerca da metade (45,0%) dos isolados da amostra epidêmica de *Serratia marcescens* apresentaram suscetibilidade à gentamicina, tetraciclina, cefotaxima e ceftriaxona e todas as amostras, incluindo epidêmicas e endêmicas, foram suscetíveis à imipenema, aztreonam, ceftriaxona, cefepima, cefepiroma, pefloxacina e ciprofloxacina.

Tabela 4: Espectro de resistência aos antimicrobianos das amostras de *S. marcescens* isoladas antes, durante e após o surto, no BAR do HC-UFU, segundo a técnica de difusão em gel.

Situação	Antimicrobianos ^a (Resistência)	N ^b	Neonatos				Ambiente			
			Infecção		Colonização		Pia		Sabão	
			N	%	N	%	N	%	N	%
Epidêmica	AMP, CFL, AMC, CFO,CAZ, SFT, AM	73	4	5,5	63	86,3	6	8,2	-	-
Endêmica (antes)	AMP, CFL, CFO, CTX,AM, SFT	3	3	100,0	-	-	-	-	-	-
Endêmica (depois)	AMP, CFL, AMC, CFO,AM, SFT, GEN, CTX,TT	21	6	28,6	3	14,3	7	33,3	5	23,8

^a - Discos de antimicrobianos utilizados: AMP- ampicilina, CFL- cefalotina, AMC- amoxicilina, CFO- cefoxitina, CTX- cefotaxima, IMP- Imipenema, CAZ- ceftazidima, CPM, cefpima, CFP- ceftiproma, SFT- sulfazotrim, AM- amicacina, CRO- ceftriaxona, GEN- gentamicina e TT- tetraciclina, CPF- ciprofloxacina, PFL- pefloxacina

^b - Número total de amostras

Os valores das CIM₅₀ e CIM₉₀ para ceftazidima e cefepima estão na tabela 5. As CIMs₉₀ para ceftazidima foi ($\geq 32,0 \mu\text{g/mL}$) e para cefepima de ($\geq 16,0 \mu\text{g/mL}$).

Tabela 5: Valores das CIM₅₀ e CIM₉₀ para ceftazidima e cefepima das amostras de *Serratia marcescens* isoladas durante o surto, no BAR do HC-UFU.

Antimicrobiano	N ^d	CIM ^a	
		CIM ₅₀ ^b	CIM ₉₀ ^c
Ceftazidima	73	0,5	32,0
Cefepima	73	2,0	16,0

^a - CIM- Concentração Inibitória Mínima.

^{b,c} - Valores que inibiram 50,0% e 90,0% das amostras testadas.

^d - Número de amostras testadas

A produção de ESBLs foi demonstrada em 27 de 73 isolados de *Serratia marcescens* obtidos no período epidêmico (incluindo dos quatro isolados obtidos de neonatos infectados) através da utilização de discos de aztreonam (27/27) e ceftazidima (14/27) como substratos no teste de duplo disco, como referido na tabela 6.

Tabela 6: Caracterização das β -lactamases, produzidas pela amostra epidêmica de *Serratia marcescens*, como de espectro extendido utilizando o teste de sinergismo com duplo disco.

Origem	Sinergismo com ácido clavulônico ^a			
	N (%) ^b	CTX	CAZ	ATM
Infecção N=4	4 (100,0)	-	1	4
Colonização N=63	19 (30,2)	-	11	19
Ambiente N=6	4 (66,6)	-	2	4

^a - CTX- cefotaxima, CAZ- ceftazidima, ATM- aztreonam

^b - Número de amostras positivas (%)

As culturas realizadas a partir das mãos de 12 profissionais de saúde do BAR durante o surto, não forneceram nenhuma amostra de *Serratia marcescens*. As culturas ambientais foram realizadas em quatro oportunidades, sendo apenas uma no período endêmico (julho de 1998). Destas culturas foram obtidos sete isolados provenientes de ralos de pia e cinco de sabão. Estes isolados de *Serratia marcescens* apresentaram suscetibilidade à ceftazidima diferindo assim da amostra epidêmica. Entretanto, seis das 13 coletas realizadas de ralos de pia durante o período epidêmico forneceram amostras epidêmicas com resistência a ceftazidima sendo que, quatro (66,6%) dos isolados foram positivos para o teste de duplo disco (tabela 6). A posição das pias está registrada na figura 1. Os demais materiais foram negativos para *Serratia marcescens*.

5-DISCUSSÃO

A situação de alguns Berçários de Alto Risco e das Unidades de Terapia Intensiva Neonatais tem sido apresentada de forma sensacionalista pela imprensa leiga com ênfase nos surtos que resultam em taxas significativas de mortalidade. São inúmeras as causas da ocorrência de epidemias nestas unidades, entre elas a falta de leitos, bem como de recursos humanos, financeiros e demanda crescente de crianças prematuras com defeitos congênitos e suscetibilidade às infecções das crianças que são submetidas a procedimentos invasivos (Maria, 1998). No surto descrito no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, os aspectos aparentemente mais relevantes foram o aumento excessivo (aproximadamente 50 neonatos estavam internados no mês de dezembro de 1997) no número de crianças internadas e a realização simultânea de uma reforma na unidade, o que provavelmente resultou numa maior dificuldade nas práticas tradicionais de controle de infecção tais como isolamento, lavagem de mãos entre outras (Brito *et al.*, 1999).

Essas unidades são a exemplo das demais Unidades de Terapia Intensiva os locais onde os surtos hospitalares são mais comuns (Waggoner-Fontain, Donowitz, 1997). Entre os agentes associados a estas epidemias predominaram, até os anos 60, os *Staphylococcus aureus* e os

Streptococcus pyogenes, substituídos a partir dos anos 70 pelas bactérias Gram negativas com destaque para *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp (Waggoner-Fontain, Donowitz, 1997). A partir dos anos 80, surtos hospitalares por *Serratia marcescens* tornaram-se freqüentes (Archibald *et al.*, 1997). Entretanto, segundo pesquisa bibliográfica realizada, o surto descrito neste trabalho é o primeiro a ser relatado no Brasil e um dos mais expressivos na literatura, envolvendo 15 crianças, com 5 óbitos.

Entre as características importantes deste microrganismo destacam-se a sua adaptação em ambientes úmidos com ênfase para umidificadores, equipamentos de terapia respiratória em geral (Newport, 1985) e a sua capacidade de apresentar resistências intrínseca à maioria dos antibióticos tradicionais e adquirida àqueles mais utilizados em hospitais (Jacoby, 1997). Embora nesta série, não tenha sido detectada a presença de *Serratia marcescens* em fontes ambientais ou itens como umidificadores, ela foi encontrada na água acumulada nos ralos de pias das seguintes unidades: UTIN-1, Alto Risco, Sala de admissão e Intermediário-1 apresentando resistência a uma das cefalosporinas (ceftazidima) mais utilizadas em Unidades de Terapia Intensiva.

A taxa de mortalidade associada a infecções por bactérias Gram negativas podem atingir valores de até 69,0% durante uma epidemia (Zaidi *et al.*, 1989) estando associada a meningites, bacteremias e a faixa etária dos neonatos (Campbell *et al.*, 1998). No BAR do HC-UFU entre as 15 crianças infectadas, 5 (33,3%) foram a óbito sendo que no caso número 11 (tabela 2) a infecção era benigna (conjuntivite), mas tratava-se de um neonato prematuro, com baixo peso e com problema pulmonar congênito, que apresentou um quadro clínico de pneumonia. Nos demais 10 casos de infecção, os neonatos evoluíram bem, tendo posteriormente alta hospitalar;

sendo seis conjuntivites, uma otite, uma sepse, uma infecção urinária e um caso de conjuntivite associada a sepse. Pode-se atribuir a boa evolução destes casos ao uso constante, no período do surto, do antibiótico imipenema. Esta carbapenema é conhecida pela sua boa atuação em Gram negativos, destacando-se em especial a *Serratia marcescens* produtora de β -lactamases de espectro estendido (Troillet *et al.*, 1999).

Numa situação epidêmica a origem da amostra usualmente permanece desconhecida. Na maioria dos surtos, a fonte de infecção dentro de uma UTIN é um neonato infectado, mas ainda se questiona como este neonato adquiriu a infecção (Van Ogtrop *et al.*, 1997). No surto observado no BAR do HC-UFU o caso considerado como índice (número 1 da tabela 2) correspondeu a um quadro de sepse. A partir deste neonato foi isolada a amostra epidêmica de *Serratia marcescens*, que ao contrário daquelas endêmicas apresentava resistência à ceftazidima. Adicionalmente, ela não era pigmentada, característica de cerca de 50,0% dos isolados deste microrganismo (Yu, 1979).

Nos pacientes hospitalizados o intestino é considerado o principal reservatório deste microrganismo (Newport *et al.*, 1985; Scheidt *et al.*, 1982). De acordo com um estudo realizado por Newport *et al.* (1985) as colonizações por *Serratia marcescens* nas mucosas do nariz e garganta de neonatos ocorre cerca de sete dias após a admissão na unidade, seguindo-se aquela observada no trato intestinal (Newport, 1985). Há ainda relatos de isolamento de *Serratia marcescens* em neonatos assintomáticos a partir de pontas de cateteres sugerindo que a pele seja outro sítio anatômico no qual esta bactéria pode ser recuperada (Scheidt *et al.*, 1982).

Entre os fatores de risco que predispõe a infecções por *Serratia marcescens* em neonatos incluem-se: um número baixo de Apgar, prematuridade, baixo peso (menor ou igual a 1500g), duração da

hospitalização (maior ou igual a sete dias) entre os fatores de risco intrínsecos e o uso de antibióticos e procedimentos invasivos, como a presença de catéter periférico, entre os extrínsecos (Archibald *et al.*, 1997; Bosi *et al.*, 1996; Herra *et al.*, 1998, Newport *et al.*, 1985; Zaidi *et al.*, 1989). No período entre janeiro de 1996 e maio de 1997, foi observado por Brugge *et al.* (1999) um aumento de quatro vezes na taxa de isolamento de *Serratia marcescens* em uma UTI cirúrgica do “Leiden University Medical Center” localizado na Holanda, onde o baixo peso, alimentação parenteral e ventilação mecânica foram os fatores de risco significativos após análise multivariada. No nosso estudo, os fatores de risco intrínsecos relacionados a infecção por *Serratia marcescens* foram o baixo peso, a duração da hospitalização, a prematuridade, o número baixo de Apgar nos primeiros cinco minutos de vida e dentre os extrínsecos o cuidado em incubadoras, assim como o uso de carbapenemas. Estes fatores apresentaram-se estatisticamente significantes com valor de “p” menor ou igual a 0,05 quando realizada a comparação entre crianças infectadas versus crianças colonizadas e não colonizadas como controle.

Embora a presença de *Serratia marcescens* seja documentada em vários itens, incluindo fontes ambientais e a contaminação por este microrganismo seja associada a ambientes úmidos, a identificação de surtos relacionados a estes tipos de reservatórios é ainda pouco frequente. Entretanto, já foi observada a ocorrência de surtos atribuídos à utilização de anti-sépticos, loções para as mãos, sabões e até mesmo aparelhos para análise de glicose/lactato no sangue (Van Ogtrop *et al.*, 1997; Neal *et al.*, 1999). Archibald *et al.* (1997) descreveram um surto em uma UTIN por *Serratia marcescens* associado a proliferação deste microrganismo no sabão líquido. A rápida disseminação do patógeno ocorreu através dos profissionais de saúde quando da lavagem das mãos. Em uma UTIN

neurocirúrgica em um hospital de Marselha (França), Bosi e colaboradores (1996) relataram um surto por *Serratia marcescens* com 10 semanas de duração, envolvendo 16 pacientes, no qual a amostra epidêmica foi encontrada nos frascos de solução anti-séptica de hexetidina, utilizada na higiene bucal. Na nossa investigação, materiais provenientes de ambiente, incluindo os sabões, não evidenciaram a presença da amostra epidêmica, excetuando-se aqueles coletados com "swab" dos ralos de pia da unidade, sugerindo a participação das mãos de profissionais de saúde no surto.

As colonizações do trato intestinal, nasofaringe e garganta de pacientes e particularmente das mãos de médicos e enfermeiras têm um importante papel em epidemias entre neonatos (Newport *et al.*, 1985). As evidências são de que a principal via de transmissão de *Serratia marcescens* é através das mãos de profissionais de saúde (Christensen *et al.*, 1992; McGowan, Metchock, 1995; Archibald *et al.*, 1997; Van Ogtrop *et al.*, 1997). Neste inquérito não foi detectado a presença deste patógeno nas mãos dos profissionais do BAR do HC-UFU; isto provavelmente deveu-se ao fato de que as coletas foram realizadas quando as medidas de controle de infecção, tais como maior rigor na lavagem das mãos usando anti-sépticos foram implementadas.

Uma característica notável de amostras epidêmicas de *Serratia marcescens* em unidades neonatais é a tendência de uma rápida disseminação (McGowan, Metchok, 1995; Archibald *et al.*, 1997). Esta ficou documentada neste estudo quando cerca de um quarto (22,3%) e mais da metade (56,7%) dos neonatos apresentaram-se infectados e colonizados, respectivamente. Estes resultados foram semelhantes àqueles relatados por Scheidt *et al.* (1982) quando houve um surto descrito na UTIN de um hospital em Nova York envolvendo 8 (20,0%) neonatos infectados e 22 (70,0%) colonizados por *Serratia marcescens*, sendo que a amostra

epidêmica foi recuperada destes últimos a partir das fezes, urina e catéter umbilical.

Nesta investigação a suscetibilidade aos antimicrobianos foi detectada através dos testes de difusão e diluição em gel (Concentração Inibitória Mínima). A análise dos resultados evidenciou como característica marcante da amostra epidêmica a resistência à ceftazidima. Herra *et al.* (1998), descreveram uma epidemia em um hospital de Dublin em que todos os isolados de *Serratia marcescens* tiveram o mesmo padrão de suscetibilidade aos antimicrobianos, com reduzida suscetibilidade à gentamicina, cefotaxima e ciprofloxacina. A utilização do antibiograma na tipagem fenotípica dos microrganismos não tem o poder discriminatório dos métodos de epidemiologia molecular (Podlorski R, Persing, 1995), mas numa situação como a verificada no BAR do HC-UFU, em que se detectou resistência a uma cefalosporina de terceira geração, este método apresentou vantagens como uma maior rapidez e menor custo.

Neste trabalho, a resistência aos antimicrobianos dos isolados verificada pela técnica de difusão em gel foi confirmada pelo teste da Concentração Inibitória Mínima. A amostra epidêmica foi resistente (MIC ≥ 32 $\mu\text{g/mL}$) à ceftazidima e com resistência intermediária (MIC ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$) à cefepima. Luzzaro *et al.* (1998) relataram dois surtos envolvendo 42 neonatos na Itália, no qual as amostras epidêmicas também apresentavam resistência para as cefalosporinas de terceira geração, incluindo a ceftazidima.

As técnicas genotípicas são as mais recomendadas para a tipagem de microrganismos e os surtos associados a *Serratia marcescens* descritos recentemente na literatura utilizam predominantemente, a de PFGE (Miranda *et al.*, 1996). Em um estudo realizado por Miranda *et al.* (1996) no Hospital Pediátrico do Centro Médico Nacional, na cidade do México,

foram isoladas 23 amostras de pacientes da UTIN e 10 em outras enfermarias durante um surto por este microrganismo, no período de março a julho de 1995. A análise de 24 amostras através da técnica de PFGE identificou dois clones diferentes responsáveis pelo surto, sendo 20 e 4 de cada um dos clones respectivamente, sugerindo uma transmissão cruzada entre pacientes da UTIN e as outras enfermarias.

Como já referido na introdução, do ponto de vista clínico e epidemiológico o mecanismo mais importante de inativação dos antimicrobianos β -lactâmicos é a ação de enzimas que hidrolisam a ligação amida do anel β -lactâmico (Livermore, 1995). Entre as β -lactamases epidemiologicamente mais importantes estão as ESBLs derivadas das TEM-I e SHV-I que tem como característica sua atuação contra cefalosporinas em geral, incluindo as de amplo espectro, e monobactamas (Jacoby, Medeiros, 1991).

Existe uma forte correlação entre o aumento no uso de cefalosporinas de terceira geração e um subsequente isolamento de microrganismos Gram- negativos capazes de produzir ESBLs, tais como: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* e *Pseudomonas aeruginosa*, que são usualmente resistentes a todas as cefalosporinas de amplo espectro (Bush, Jacoby, Medeiros, 1995; Livermore, 1995).

Embora amostras de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBLs vêm se tornando freqüentes nos hospitais do hemisfério Norte (Sader, Pfaller, Jones, 1994; Lucet, Chevret, Decré, 1996; Martínez-Martínez *et al.*, 1996), há poucas informações no Brasil sobre a importância deste e de outros microrganismos com este mecanismo de resistência. Gales *et al.*, (1997) mostraram que em hospitais localizados na cidade de São Paulo a prevalência de ESBLs entre as amostras de *Klebsiella pneumoniae* pode ser

alta (39,0%). Neste mesmo estudo, verificou-se também que os antibióticos mais ativos contra as de 72 dessas amostras produtoras de ESBLs foram pela ordem: carbapenemas, cefalosporinas do grupo das cefamicinas (cefoxitina), fluorquinolonas e cefalosporinas de quarta geração, indicando as dificuldades e sobretudo os custos no tratamento de infecções associadas a este germe.

As cefalosporinas de quarta geração, em especial cefepima e cefepiroma, introduzidas recentemente no mercado brasileiro possuem componentes com cargas negativas e positivas balanceadas que combinam as propriedades de alta estabilidade às β -lactamases AmpC, além de maior afinidade às proteínas ligadoras de penicilina, resultando numa atividade sobre patógenos como a *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp e outros microrganismos Gram negativos resistentes à ceftazidima e outras cefalosporinas de terceira geração. Embora seja demonstrado um menor risco de indução das β -lactamases quando do uso de cefalosporinas de quarta geração, já foram observadas amostras resistentes de *E. cloacae*, *Serratia marcescens* e *P. aeruginosa* através da seleção de mutantes estáveis, após nove dias de antibioticoterapia (Sanders, Thompson, Sanders Jr., 1992; Jones *et al*, 1997). No nosso estudo, como já destacado, foi observada uma resistência intermediária (CIM $\geq 16\mu\text{g/mL}$) à cefepima, mesmo quando a amostra epidêmica apresentou suscetibilidade quando avaliada pela técnica de difusão em gel.

O estudo de dois surtos por *Serratia marcescens* produtoras de ESBLs ocorridos na Itália entre março de 1994 e agosto de 1995 e entre fevereiro e outubro de 1993 evidenciaram que as amostras epidêmicas produziam ESBLs dos tipos SHV e TEM, respectivamente. As amostras epidêmicas foram difíceis de erradicar devido a sua multiresistência,

exigindo o uso de drogas mais potentes como carbapenemas e amicacina, com aumento dos custos e duração na hospitalização (Luzzaro *et al.*, 1998). Em Uberlândia, a produção de ESBLs foi detectada nos quatro isolados obtidos de neonatos infectados e em 19 daqueles provenientes de neonatos colonizados e a erradicação da amostra epidêmica também exigiu a utilização em larga escala de imipenema

Embora a participação de *Serratia marcescens* em surtos hospitalares em berçários vêm aumentando (Van Ogtrop *et al.*, 1997), trata-se do primeiro relato no Brasil e corresponde a um dos maiores surtos publicados (15 infecções e 38 colonizações), com taxa de mortalidade expressiva (33,3%).

O controle do surto, no Hospital de Clínicas da UFU, foi alcançado através do fechamento do BAR a novas admissões fato ocorrido em 18 de dezembro de 1997, medidas higiênicas rigorosas, tais como maior rigor na prática de lavagem das mãos após o contato com os neonatos e isolamento de coorte dos neonatos infectados e colonizados por *Serratia marcescens*. A decisão para o fechamento do BAR a novas internações só foi tomada após a morte de dois neonatos. A eliminação da amostra epidêmica apenas através de medidas de higiene nem sempre é possível (Van Ogtrop *et al.*, 1997) tornando-se necessário o fechamento da unidade a novas admissões para o controle do surto (Newport *et al.*, 1985), como foi observado em Uberlândia.

6- CONCLUSÕES

1- Os fatores de risco estatisticamente significantes para infecção por *Serratia marcescens* foram: prematuridade, baixo peso ao nascimento (≤ 1500 g), uso de carbapenemas, presença em incubadora, duração da hospitalização (≥ 7 dias) e número baixo de Apgar nos primeiros cinco minutos de vida.

2- Embora o reservatório não fosse definido na investigação, a transmissão a partir do caso índice ocorreu provavelmente através das mãos dos profissionais de saúde, em função da rapidez com que a amostra epidêmica disseminou-se bem como pela sua presença no ralo de algumas pias da unidade.

3- A amostra epidêmica apresentou as seguintes características fenotípicas: ausência de pigmento, resistência à ceftazidima e produção de ESBLs.

4- O surto foi controlado através do emprego das seguintes medidas: isolamento de coorte, suspensão de novas internações e maior rigor na prática de controle de infecções, particularmente na lavagem das mãos.

7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ALFORD, C.A., PASS, R.F. Epidemiology of chronic congenital and perinatal infections of man. *Clinical Perinatology*, v.8, p. 617-637, 1981.

AMYES, B.G.S., GEMMEL, C.G. Antibiotic resistance. Review article. *Journal of Medicine Microbiology*, v.46, p. 436-470, 1997.

ARCHIBALD, L.K., CORL A., SHAH B., SCHULTE M., ARDUINO J.M. AGUERO S., FISHER D. J., STECHENBERG B.W., BANERJEE S.N., JARVIS W.R. *Serratia marcescens* outbreak associated with extrinsic contamination of 1% Chlorxylenol soap. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v.18, n.10, p.704-709, 1997.

BOSI, C., DAVIN-REGLI, A., CHARREL, R., ROCCA, B., MONNET, D., BOLLET, C. *Serratia marcescens* nosocomial outbreak due to contamination of hexetidine solution. *Journal of Hospital Infection*, v. 33, p. 217-224, 1996.

* Normas NBR 6023 da ABNT (1989) e NB-896 da ABNT (1990)

- BRITO, D.V.D., MATOS, C., ABDALLA, V., DIOGO FILHO, A., GONTIJO FILHO, P.P. An outbreak of nosocomial infection caused by ESBLs producing *Serratia marcescens* in a Brazilian Neonatal Unit. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.3, n.4, p. 149-155, 1999.
- BRUGGE, S., AREND, S.M., BERNARDS, A.T., BERBEE, G.A.M., WESTENDORP, R.G.J., FEUTH, J.D.M., BROEK, P.J. Risk factors for acquisition of *Serratia marcescens* in a surgical Intensive Care Unit. *Journal of Hospital Infection*, v.41, p.291-299, 1999.
- BRYAN, L.E., KEWAN, S. Roles of ribosomal binding membrane potential and electron transport in bacterial up-take of streptomycin and gentamicin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v.23, p. 835-845, 1983.
- BUSH, K., JACOBY, G.A., MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structures. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.39, p.1211-1233, 1995.
- CAMPBELL, J.R., ZACCARIA, E., MASON, E. O., BAKER, C.J. Epidemiological analysis defining concurrent outbreaks of *Serratia marcescens* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v.19, n.12, p.924-928, 1998.

CAVALCANTE, M.D.A., BRAGA OB., TEOFILO C.H., OLIVEIRA E.N., ALVES A. Cost improvements through the establishment of prudent infection control practices in a Brazilian general hospital, 1986-1989. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v.12, n.11, p. 649-653, 1991.

CHRISTENSEN, G.D., KORONES, S.B., REED, L., BULLEY, R., McLAUGHLIN, B., BISNO, A.L. Epidemic *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: Importance of the gastrointestinal tract as a reservoir. *Infection Control*, v.3, p.127-133, 1982.

CIMOLAI, N., TROMBLEY, C., WENSLEY, D., LEBLANC, J. Heterogenous *Serratia marcescens* genotypes from a nosocomial pediatric outbreak. *CHEST*, v.111, p.194-197, 1997.

COLLINS, C.H., LYNE, P.M., GRANGE, J.M. Culture media. In: COLLINS, C.H., LYNE, P.M., GRANGE, J.M. (Eds). *Microbiological Methods*. 7^aed, London: Butterworth-Heinemann Ltd, 1995, p.60-92.

DEAN, A.G. Epi Info, Versão 5.0: *A word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers*. Stone Mountain, G.A:USD, Ins: 1995.

DEGENER, J.E., MICHEL M.F., VALKENBURG H.A., SMIT A.C.W., MULLER L., THONUS I.P.. Bacterial drug resistance in the community and in hospitals. *Netherlands Journal of Medicine*, v. 28, p.182-191, 1985.

- EMORY, T.G., GAYNES, R.P. An overview of nosocomial infections, including the role of microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Review*, v.6, p.428-442, 1993.
- GALES, A.N., BOLMSTROM, A., JONES, R.N., REIS, A.O., SADER, H.S. Prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular typing of extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* from Brazil. [Abstract D-13]. In: Program and Abstracts of the 37 th Interscience Conference on *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Toronto, Canada, 1997,
- GAYNES, R.P., EDWARDS, J.R., JARVIS, W.R. Nosocomial infections among neonates in high risk nurseries in the United States. *Pediatrics*, v.98, p. 357-361, 1996.
- GAYNES, R.P. Surveillance of nosocomial infections. In: Bennett, J.V., Brachman, P.S. (Eds). *Hospital Infections*. 4^aed., Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998, p. 65-84.
- GOLDMANN D. Bacterial colonization and infection in the neonate. *The American Journal of Medicine*, v.70, p.417-422, 1981.
- GRIMONT, P.A. D., GRIMONT, F. Biotyping of *Serratia marcescens* and its use in epidemiological studies. *Journal of Clinical Microbiology*, v.8, p. 73-83, 1978.

- GRIMONT, P.D. A., GRIMONT, F., LE MINOR, S., DAVIS, B.,
PIGACHE, F. Compatible results obtained from biotyping and
serotyping in *Serratia marcescens*. *Journal of Clinical Microbiology*,
v.10, p. 425-432, 1979.
- HARRIS, J.S. Pediatric nosocomial infections: children are not little adults.
Infection Control and Hospital Epidemiology, v.18, n.11, p. 739-742,
1997.
- HERRA, C.M., KNOWLES, S.J., KAUFMANN, M.E., MULVIHILL, E.,
McGRATH, B., KEANE, C.T. An outbreak of an unusual strain of
Serratia marcescens in two Dublin hospitals. *Journal of Hospital
Infection*, v.38, p. 135-141, 1998.
- ISENBERG, H.D. Enterobacteriaceae. In: GORBACH, S.L., BARTLETT,
J.G., BLACKLOW, N. R. (Eds). *Infectious diseases*. Philadelphia: W.
B. Saunders Company, 1992, p.1463-1478.
- ITO, H., ARAKAWA, Y., OHSUKA, S., WACHAROTAYANKU, R.,
KATO, N., OHTA, M. Plasmid mediated dissemination of the metallo
 β -lactamase gene *bla*_{IMP} among clinically isolated strains of *Serratia
marcescens*. *Antimicrobial Agents Chemoterapy*, v.39, p. 824-829,
1995.
- JACOBY, G.A., MEDEIROS, A. A. More extended spectrum β -
lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, v.35, p. 1697-
1704. 1991.

JACOBY, G.A., ARCHER, G. L. New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *New England Journal of Medicine*, v.324, n.9, p. 601-611, 1991.

JACOBY, G.A. Extended-spectrum β -lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino- β - lactams. *Infectious Disease Clinics of North America*, v.11, n.4, p.875-887, 1997.

JARLIER, V., NICOLAS, M. H., FOURNIER, G., PHILIPPON, A. Extended broad spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of Infectious Diseases*, v.10, p.867-878, 1988.

JARVIS, W.R. Handwashing: the Semmelweis lesson forgotten? [Editorial]. *Lancet*, v.344, p. 1311-1312, 1994.

JARVIS, W.R. Investigating endemic and epidemic nosocomial infections. In: BENNETT, J. V. BRACHMAN, P. S. (Eds). *Hospital Infections*. 4^a ed., Philadelphia: Lippincott- Raven, 1998, p.85-102.

JONES R.N., BAQUERO F., PRIVITERA G., INOVE M., WIEDEMAM B. Inducible β -lactamase- mediated resistance to third-generation cephalosporins. *Clinical Microbiology and Infection*. v.3, (Supplement 1), p. S7 - S20 , 1997.

KHAN E.A., WAFELMAN L.S., GARCIA-PRATS J.A., TABER L.H.
Serratia marcescens pneumonia, empyema and pneumatocele in a
 preterm neonate. *The pediatric infectious Disease Journal*, v. 16, n.10,
 p. 1003-1004, 1997.

KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDA, W.M.,
 SCHRECKENBERGER, P.C., WINN Jr., W.C. Enterobacteriaceae. In:
 KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDA, W.M.,
 SCHRECKENBERGER, P.C., WINN Jr., W.C. (Eds). *Diagnostic
 Microbiology*. 5^a ed., Philadelphia: Lippincott, 1997, p. 171-252.

LARSON, E.L., 1992, 1993 and 1994 APIC Guidelines Committee. APIC
 guidelines for handwashing and hand antisepsis in healthcare settings.
American Journal of Infection Control, v.23, n.4, p.251-269, 1995.

LIMA, H.V., COUTO, H. G., OLIVEIRA JÚNIOR, L.C., RIZZA, M.A.,
 GUIMARÃES, V.L., BORGES, L.G.C.R., LELES, C.C.V., GONTIJO
 FILHO, P.P.. Pronto Socorro (PS) como reservatório de *Staphylococcus
 aureus* resistente à Meticilina (MRSA): Experiência de um hospital
 universitário brasileiro. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE
 INFECTOLOGIA, 1999, São Paulo. Resumo... Cidade: Salvador-
 Bahia, 1999. 119p. p.42.

LIVERMORE, D. M. β -lactamases in laboratory and clinical resistance.
Clinical Microbiology Reviews, v.8, n.4, p. 557-584, 1995.

LOPES, H.V., AYUB, E. B. Antibioticoterapia em pediatria. *Pediatria
 moderna*, v.35, n.6, p. 345-358, 1999.

LUCET, J.C., CHEVRET, S., DECRÉ, D. Outbreak of multiply resistant Enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clinical Infectious Diseases*, v.22, p. 430-436, 1996.

LUZZARO, F., PERILLI M., MIGLIAVACCA R., LOMBARDI G., MICHELETTI P., AGODI A., STEFANI S., AMICOSANTE G., PAGANI L. Repeated epidemics caused by extended-spectrum beta-lactamase producing *Serratia marcescens* strains. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v.17, p. 629-636, 1998.

MARIA, Nícia. Assistência materno-infantil em crise. *Jornal do Conselho Regional de Medicina do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro, fevereiro/1998. p.8

MARIA, Nícia. Um alerta às autoridades. *Jornal do Conselho Regional de Medicina do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro, novembro/1999. p. 6

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L., HERNÁNDEZ-ALLÉS, S., ALBERTÍ, S., TOMÁS, J.M., BENEDI, V.J. *In vivo* selection of porin deficient mutants of *klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded spectrum cephalosporins. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v.40, p. 342-348, 1996.

MASLOW, J.N., MULLIGAN, M.E., ARBEIT, R.D. Molecular epidemiology: the application of contemporary techniques to typing bacteria. *Clinical of Infectious Diseases*, v.17, p.153-162, 1993.

MASLOW, J., MULLIGAN, M. E. Epidemiologic typing systems. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v.17, n.9, p.595-604, 1996.

McCORMACK, R.C., KUNIN, C.M. Control of a single source nursery epidemic due to *Serratia marcescens*. *Pediatrics*, v. 37, p.750-755, 1966.

McGOWAN, J. E., METCHOCK, B. Infection control epidemiology and clinical microbiology. In: MUURAY, P.R., BARON, E. J., PFALLER, M. A., TENOVER, F.C., YOLKEN, R. H. (Eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 6^a. ed., Washington, D.C.: ASM Press, 1995, p. 182- 189.

MEDEIROS, A.A. Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clinical of Infectious Diseases*, v.24, (supplement 1): p. S19- S45, 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Diário Oficial de 13 de maio, Seção 1 – Anexo II, Brasília, 1998.

MIRANDA, G., KELLY, C., SOLORZANO, F., LEANOS, B., CORIA, R., PATTERSON, J.E. Use of pulsed field gel electrophoresis typing to study an outbreak of infection due to *Serratia marcescens* in a Neonatal Intensive Care Unit. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, n. 12,

p.3138-3141, 1996.

MOELLERING Jr., R.C., SENTOCHNICK, D.E. Cephalosporins. In: GORBACH, S.L., BARTLETT, J.G., BLACKLOW, N.R. (Eds). *Infectious Diseases*, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1992, p. 172-182.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M₇ - A₄ NCCLS, Villanova, PA, 1997a.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards Antimicrobial Disk Susceptibility tests. Approved Standard M₂ - A₅ NCCLS, Villanova, PA, 1997b.

NEAL, T.J., CORKILL, J.E., BENNETT, K.J., YOXALL, C.W. *Serratia marcescens* pseudobacteremia in neonates associated with a contaminated blood glucose/lactate analyzer confirmed by molecular typing. *Journal of Hospital Infection*, v.41, p.219-222, 1999.

NEWPORT M.T., JOHN J. F., MICHEL Y.M., LEVKOFF A.H. Endemic *Serratia marcescens* infection in a neonatal intensive care nursery associated with gastrointestinal colonization. *Pediatric infectious diseases*, v. 4, n. 2, p. 160-167, 1985.

- NORMANN, P. Trends in β -lactam resistance among Enterobacteriaceae, v.27, *Clinical of Infectious Diseases*, (Supplement 1) p. S100-S106, 1998.
- OIE, S., KAMIYA, A., HIRONAGA, K., KOSHIRO, A. Microbial contamination of enteral feeding solution and its prevention. *American Journal of Infection Control*, v.20, n.4, p.202-205, 1992.
- PLOTKIN, S.A., STARR, S.E. Symposium on perinatal infections. *Clinical Perinatology*, v.8, p. 617-637, 1981.
- PODLORSKI, R. , PERSING, D.H. Molecular detection and identification of microorganisms. In: MURRAY, P.R., BARON, E. J., PFALLER, M.A. TENOVER, F.C., YOLKEN, R.H. (Eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 6^aed., Washington, D.C.: ASM Press, 1995, p.130-157.
- PONCE DE LEON, S. Nosocomial infection control in Latin America. We have to start now. *Infection Control*, v.5, p. 11-12, 1984.
- PONCE DE LEON, S. The needs of developing countries and the resources required. *Journal of Hospital Infection*, v.18, p.376-381, 1991.
- RABELO, L. F. D. *Prevalência de infecções hospitalares e fatores de risco intrínsecos e extrínsecos em pediatria nos Hospitais Universitários de Uberlândia e do Rio de Janeiro*. Uberlândia, 1995. 86p. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Centro de Ciências Biomédicas. Universidade Federal de Uberlândia, 1995.

- SADER, H.S., PFALLER, M.A, JONES, R.N. The prevalence of important pathogens and the antimicrobial activity of parenteral drugs at numerous medical centers in the United States: II. Study of the intra and inter laboratory dissemination of extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, v.20, p.203-208, 1994.
- SANDERS, C.C., THOMPSON, K. S., SANDERS Jr., W.E. Other β -lactam antibiotics. In: GORBACH, S.L., BARTLETT, J. G., BLACKLOW, N. R. (Eds). *Infectious Diseases*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1992, p.182-188.
- SANDERS, C.C., THOMPSON, K.S., BRADFORD. Problems with detection of β -lactam resistance among nonfastidious Gram-negative bacilli. In: R.C. Moellering, Jr. and J.A Washington (ed). *Infectious Disease Clinics of North America: Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases*. The W.B. Saunders Co., Philadelphia. , 1993, p. 411-424.
- SHEIDT, A., DRUSIN L.M., KRAUSS A.N., MACHALEK S.G. Nosocomial outbreak of resistant *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit. *New York State Journal of Medicine*, v. 82, p. 1188-1191, 1982.
- SIEGEL, J. D. The newborn nursery. In: BENNETT, J. V., BRACHMAN, P.S. (Eds). *Hospital Infections*. 4^a ed., Philadelphia: Lippincott-raven, 1998, p. 403-420.

- SINGH-NAZ N. Risk factors for nosocomial infection in critically ill children: a prospective cohort study. *Pediatric Critical Care*, v. 24, n.5, p. 875-878, 1996.
- STENDERUP A., FAERGEMAN O., INGERSLEV M. *Serratia marcescens* infections in premature infants. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*, v.68, p. 157-160, 1966.
- STOLL, B.J., GORDON, T., KORONES S.B. Late onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and human development neonatal research network.. *Journal of Pediatrics*, v.129, p.63-71, 1996.
- TENOVER, F.C., ARBEIT, R.D., GOERING, R.V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v.18, p. 426-439, 1997.
- TOLTZIS P., BLUMER J.L. Antibiotic resistant Gram negative bacteria in the critical care setting. *The Pediatric Clinics of North America*, v.42, n.3, p.687-702, 1995.
- TOMPKINS, L.S., FALKOW, S. Molecular biology of virulence and epidemiology. In: GORBACH, S.L., BARTLETT, J.G., BLACKLOW, N.R. (Eds). *Infectious Diseases*. Philadelphia : W.B. Saunders company, 1992, p.30-37.

TROILLET, N., CARMELI, Y., VENKATARAMAN, L., DE GIROLAMI, P., SAMORE, M.H. Epidemiological analysis of imipenem resistant *Serratia marcescens* in hospitalized patients. *Journal of Hospital Infection*, v.42, p. 37-43, 1999.

Van OGTROP, M.L., Van ZOEREN-GROBBEN, D., VERBAKEL-SOLOMONS, E.M.A., Van BOVEN, C.P.A. *Serratia marcescens* infections in neonatal departments: description of an outbreak and review of the literature. *Journal of Hospital Infection*, v.36, p. 95-103, 1997.

VILLAGE, G.E. American Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn. American College of Obstetrics and Gynecology Committee on Obstetrics. Maternal and fetal medicine: guidelines for perinatal care. 3^aed. *American Academy of Pediatrics*, 1992, v.7, p.23-29.

WAGGONER-FONTAIN, L. A., DONOWITZ, L. G. Infection in the newborn. In: WENZEL, R.P. (Eds). *Prevention and Control Nosocomial Infections*. 3^aed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1997, p. 1019-1040.

WAISMAN, H. A., STONE, W.H. The presence of *Serratia marcescens* as the predominating organism in the intestinal tract of the newborn. *Pediatrics*, v.21, n.1, p. 8-12, 1958.

YU, V. L. *Serratia marcescens* - Historical prospective and clinical review. *New England Journal of Medicine*, v. 300, n. 16, p. 887-893, 1979.

ZAIDI, M., SIFUENTES J., BOBADILLA M., MONCADA D., PONCE de LÉON S. Epidemic of *Serratia marcescens* bacteremia e meningitis in a neonatal unit in Mexico city. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 10, n. 1, p. 14-20, 1989.

8- ANEXOS

8.1- Anexo I

Escala de Apgar (Avaliação da vitalidade do recém-nascido)

Sinais	0	1	2
Frequência cardíaca	Ausente	Lenta (menos de 100)	Mais de 100
Esforço respiratório	Ausente	Lento irregular	Choro (forte)
Tônus	Flacidez	Hipotonia	Movimentação ativa
Resposta ao estímulo pelo cateter nasal	Nulo	Careta	Choro
Cor	Azul pálido	Corpo róseo extremidades azuis	Completamente róseo

Avaliar a vitalidade:

- 1º) Um minuto após o nascimento ou antes (casos graves)
- 2º) Cinco minutos após o nascimento

Interpretação do índice de vitalidade:

- 10- Condições clínicas ideais
- 7 a 9- Não precisam de cuidados especiais
- 3 a 6- Oxigenação simples
- 0 a 2- Anoxia grave: medidas especiais de ressucitação

8.2- Anexo II

Estudo *Serratia marcescens*- Berçário de Alto Risco – HC-UFU

Nome do Paciente: _____ Sexo: () M () F
 Prontuário: _____ Idade: _____

Data/Internação: _____ Data/Isolamento: _____
 (infecção)

Data/Alta: _____

Número de Apgar: _____

Enfermaria: _____ Leito: _____

Doença de Base: _____

Diagnóstico Clínico: _____

Fatores de Risco:

- Tempo de internação: () > 7 dias () < 7 dias

- Uso de Antimicrobianos: () Sim () Não

Qual: _____ início: _____ término: _____

1) _____

2) _____

3) _____

4) _____

5) _____

- "Devices" Invasivos: () Sim () Não

- Estar em incubadora: () Sim () Não

- Peso: _____

Espécimes clínicos: () Boca () Narina () Reto
 (colonização)

Espécimes clínicos: _____
 (infecção)

Observação: _____

8.3-Anexo III

Fórmula utilizada para o ágar estoque:

Ágar estoque: 100mL

TSB + 15% de glicerol

TSB : Peptona de caseína.....	17,0
Peptona de soja.....	3,0
Cloreto de Sódio.....	5,0
Fosfato dipotássio.....	2,5
Dextrose.....	2,5

8.4- Anexo IV

Trabalho Publicado

An Outbreak of Nosocomial Infection Caused by ESBLs Producing *Serratia marcescens* in a Brazilian Neonatal Unit

enise Von Dolinger Brito, Claudia Matos, Vânia Abdalla,
ogio Augusto Filho and Paulo Pinto Gontijo Filho

Department of Pathology, Uberlândia Federal
University, Brazil, Neonatal Intensive Care Unit,
Uberlândia Federal University, Brazil, and Infection
Control Committee, Uberlândia Federal University,
Brazil

Serratia marcescens has been reported as an organism which can cause rapidly spreading, antibiotic resistant nosocomial colonization and disease. We report here an outbreak of colonization and disease due to *S. marcescens* involving 53 infants admitted to the Neonatal Intensive Care Unit (NICU) of the Uberlândia Federal University Hospital, Brazil, between December, 1997, and April, 1998. Thirty-eight infants were colonized without clinical signs of infection and 15 infants had clinical disease. Five infants developed septicemia (4 cases were fatal, including the presumed index case). Seven infants developed conjunctivitis, 1 developed both sepsis and conjunctivitis, 1 infant developed otitis, and 1 infant had a urinary tract infection. On univariate analysis, independent risk factors for *S. marcescens* clinical disease were: low birth weight (<1.500g), incubator care, use of carbapenems, duration of hospitalization (≥ 7 days), low Apgar score, and prematurity. All the isolates of *S. marcescens* showed the same antimicrobial susceptibility profile. The causative strains were resistant to oxyimino-cephalosporins due to their production of extended-spectrum β -lactamases. Cultures from the hands of 12 NICU health care professionals (HCWs), soap samples, ventilator reservoirs, and work and incubator surfaces failed to identify a reservoir of *S. marcescens*, but positive cultures were found in half of the sink drains. Containment of the outbreak was achieved by closure of the NICU new admissions, employment of strict hygienic measures, and careful nursing care of the infected and colonized infants. Rapid organism identification and initiation of control measures are important in containing such an epidemic at an early stage.

Key Words: *Serratia marcescens*, nosocomial infection, neonatal unit.

S. marcescens has been frequently reported as a cause of nosocomial infections. Several outbreaks of *S. marcescens* infections in neonatal units have been described [1-7]. Among the notable features of this organism in neonatal wards are its tendency to spread

Received on 22 April 1999; revised 24 June 1999.

Address for correspondence: Dr. Paulo Gontijo Filho - Departamento de Patologia, Laboratório de Microbiologia, Bloco 4C, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Muarama, Uberlândia, MG, Brasil. CEP: 38.405-320. E-mail: gontijo.filho@ufu.br

The Brazilian Journal of Infectious Diseases 1999;3(4):149-155

© 1999 by The Brazilian Journal of Infectious Diseases.

All rights reserved.

0950-2688-13-8670

rapidly [8], and the fact that the source of an outbreak is rarely identified [1]. The incidence of nosocomial infections is generally greater among high-risk neonates than other age groups [9]. Aside from being subjected to multiple risk factors, such as invasive procedures, exposure to antibiotics, and high personnel-to-infant ratios during hospitalization, neonates are particularly susceptible to infection because of their deficient immune systems [10]. Nosocomial infection control in public hospitals in Brazil, and other Latin American countries, faces many challenges. Among these are inadequate hospital bed distribution, hospital personnel's ignorance of infection control measures, and limited economic resources resulting in a scarcity of medical equipment and supplies [11, 12].

This article documents the occurrence of an outbreak of colonization and disease with *S. marcescens* in our Neonatal Intensive Care Unit (NICU) and discusses risk factors and possible sources.

Materials and Methods

Clinical setting and case definition

The NICU of the Uberlândia Federal University hospital comprises 45 beds divided into three wards. The Neonatal Intensive Care Unit, including UTI-I, UTI-II and admission room, has 15 beds where critically ill patients are attended. The special care nursery has 20 beds for those requiring intermediate level medical care. An isolation ward and a secluded nursery have 3 and 7 beds, respectively (Figure 1).

Clinical and laboratory data were considered in defining the definition of nosocomial infections [13]. A case infant was defined as any NICU infant with clinical evidence of infection and with at least 1 positive culture for *S. marcescens* during December, 1997, to the end of March, 1998.

Case-control study

To characterize risk factors for clinical disease due to *S. marcescens*, we compared the case-infant group (N=15) to a randomly selected group of control infants (N=52). Conted patients included those admitted to the unit during the epidemic period who did not have any infection or colonization (N=14), or were colonized neonates (N=38). Patients were analyzed as to: the duration of hospitalization, sex, gestational age, Apgar score at five minutes, weight, age >7 days, invasive procedures, exposure to cephalosporins, carbapenems and other antibiotics, duration of hospitalization before infection, underlying diseases and incubator care.

Microbiological studies

Pharyngeal and rectal samples were obtained from all newborns on the NICU on 4 occasions (December/1997, February/1998, March/1998 during the

outbreak, and July/1998). Cultures from the hands of most staff working in the NICU were obtained, and cultures were also taken from selected work surfaces, incubators, sink areas, liquid soap and from condensation from the ventilator reservoirs. All cultures were obtained with cotton swabs on two separate occasions and were inoculated onto MacConkey agar.

Strains were identified as *S. marcescens* by conventional biochemical testing [14]. All isolates of *S. marcescens* were subcultured and frozen at -20°C for further investigations.

The susceptibilities to the antibiotics ampicillin, amoxicillin plus clavulanic acid, tetracycline, ciprofloxacin, perfloxacin, gentamicin, imipenem, aztreonam, amikacin, cefotaxime, cefoxitin, cephalothin, ceftazidime, ceftriaxone, cefpime, ceftiofime and sulfazotrin were tested on Mueller-Hinton agar by the disk diffusion method according to NCCLS guidelines [15]. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of ceftazidime and cefpime were determined by the macrodilution agar method [16].

A double disk diffusion test (DD) was done on 100 isolates. Ceftazidime, cefotaxime, aztreonam and amoxicillin plus clavulanic acid with disks 20mm apart were tested. An enhanced zone inhibition between any one of the β -lactam disks and the disk containing clavulanic acid was interpreted as presumptive evidence for the presence of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) [17].

Statistical analysis

All data were analyzed using Epi Info version 5.0. Categorical variables were compared using the likelihood ratio test or, when appropriate, Fisher's exact test. Median of continuous variables were compared using the Wilcoxon two-sample test. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CI₉₅) were calculated [18].

Results

Demographic data and clinical disease

Serratia marcescens was isolated from 53 (79.1%) of 67 infants who were born after 26 and 36 weeks of gestation. Cases of *S. marcescens* infection had been

Figure 1. Diagram of the neonatal intensive care unit (NICU). Uberlândia Federal University, Uberlândia, Brazil, August, 1997, to July, 1998

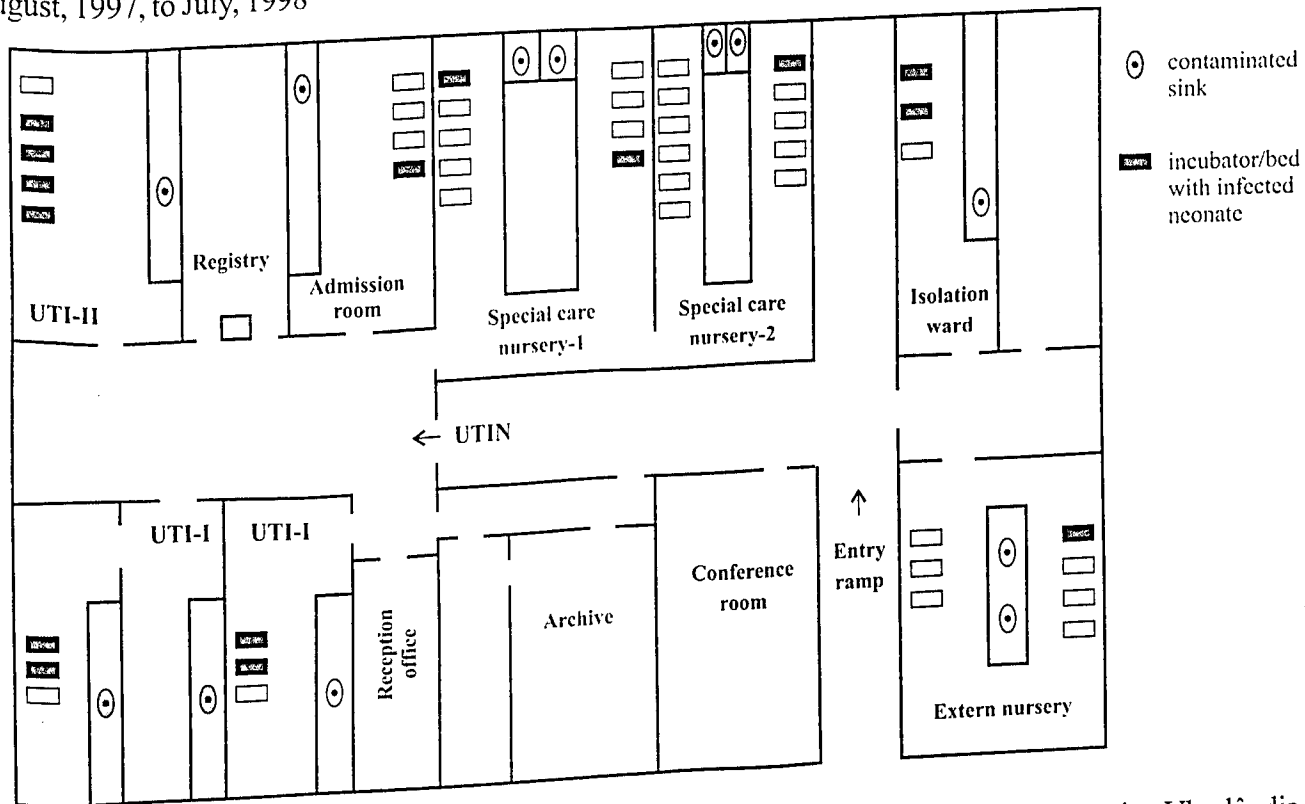


Figure 2. Distribution of neonatal intensive care unit case patients. Uberlândia Federal University, Uberlândia, Brazil, August, 1997, to July, 1998

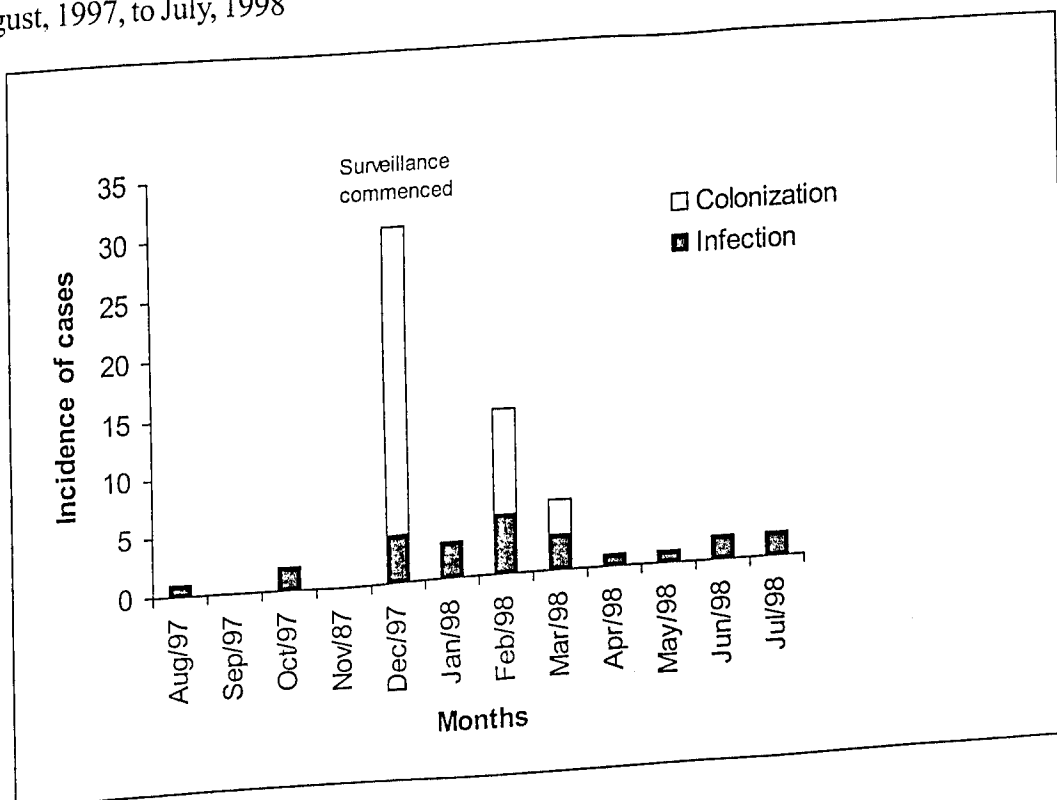


Table 1. Clinical characteristics of 15 infants with clinical disease associated with *Serratia marcescens*

Case	Infection	Diagnosis	Invasive procedures	Birth weight	Incubator	Antibiotics	Evolution
1	sepsis	CLD	PVC	1320g	+	-	died
2	sepsis	HMD	intubation	1300g	+	-	died
3	conjunctivitis	SGA	drain	1060g	+	+	survived
4	otitis	SGA	intubation	1050g	+	+	survived
5	sepsis	enterocolitis	UVC	1290g	+	+	survived
6	conjunctivitis	birth asphyxia	PVC	1480g	+	-	survived
7	conjunctivitis	cranial haemorrhage	intubation	1230g	+	+	survived
8 ^a	sepsis	CLD	PVC	1350g	+	+	died
9	urinary	SGA	-	990g	+	+	survived
10	conjunctivitis and sepsis	HMD	intubation	870g	+	+	survived
11	conjunctivitis	CLD, pneumonia	PVC	700g	-	+	died
12	conjunctivitis	HMD	SGA	900g	+	+	survived
13	conjunctivitis	meningitis	PVC	3040g	-	+	survived
14	sepsis	pneumonia	thoracic drain, head drain	1540g	-	+	died
15	conjunctivitis	pneumothorax	urinary catheter	1700g	-	+	survived

CLD, chronic lung disease; HMD, hyaline membrane disease; PVC, peripheral venous catheter; UVC, umbilical venous catheter; SGA, small for age. ^a - index case.

Table 2. Risk factors for acquiring *Serratia marcescens* infection and disease

Risk factor	Cases N=15		Controls N=52		OR (IC)	p Value
	N	%	N	%		
Weight						
> 1500g	2	13.3	38	73.1	0.06(0.01-0.32)	0.0001*
≤ 1500g	13	86.7	14	27.0		
Sex						
Female	8	53.3	35	67.3	0.56(0.15-2.07)	0.5
Male	7	46.9	17	32.7		
Age						
> 7 days	11	73.3	31	59.6	1.86(0.46-8.10)	0.51
≤ 7 days	4	26.7	21	40.4		
Incubator care	12	80.0	14	26.9	10.86(2.32-57.77)	0.0006*
Antibiotic use	13	86.7	34	65.4	3.44(0.62-24.83)	0.19
Carbapenem use	10	66.7	8	15.4	11.0(2.53-51.46)	0.0003*
Hospitalization duration (≥ 7 days)	15	100.0	38	73.1	indefinite	0.03*
Weeks of gestation						
26-29	4	26.6	3	5.8	5.94(0.93-40.62)	0.04*
30-33	9	60.0	13	25.0	2.33(1.16-18.03)	0.03*
34-36	2	13.4	36	69.2	0.07(0.01-0.38)	0.0004*
Apgar at 5 minutes						
0-4	4	26.6	3	5.8	5.94(0.93-40.62)	0.04*
5-7	10	66.7	24	46.1	2.33(0.61-9.25)	0.27
8-10	1	6.7	25	48.1	0.08(0.00-0.64)	0.009*

* $p \leq 0.05$ (statistically significant)

occurring in the Unit periodically, but in December, 1997, a significant increase in cases was recorded. This increased incidence lasted until April, 1998 (Figure 2). The index case which led to our study occurred during the fourth week of December. Fifteen infants met the case definition of having clinical disease. Five infants developed septicemia; 4 of them died, including the presumed index case. The eleventh case (Table 1) was born prematurely with a birth weight less than 1500g (700g) with chronic lung disease, developed clinical signs of pneumonia and died later despite antibiotic treatment (Imipenem). Seven infants developed conjunctivitis, one developed both sepsis and conjunctivitis, 1 infant developed otitis, and 1 infant developed a urinary tract infection (Table 1). *S.marcescens* isolates were recovered in the same period from 38 infants with intestinal and/or respiratory tract colonization, 52.6% of cultures were positive from both sites, and 12 and 6 infants were colonized only in the intestinal or respiratory tract, respectively.

Case control analysis of risk factors

The risk factors for developing clinical disease caused by *S. marcescens* are shown in (Table 2). The major risk factors were found to be low birth weight (<1500g), incubator care, use of carbapenems (therapeutically for infected neonates and prophylactically for colonized neonates), duration of hospitalization (≥ 7 days), low Apgar score and prematurity.

Among the 6 cases that showed septicemia (Table 1): Cases 1 and 8 (index case) had chronic lung disease, with peripheral venous catheters and birth weights of 1320g, 1350g respectively. Case 2 (1300g) and 10 (870g) presented with hyaline membrane disease, with ventilator support and care in incubator. Case 5 (1290g) developed enterocolitis, and had an umbilical venous catheter. Case 14 (1540g) showed clinical signs of pneumonia and was using a thorax and head drain.

Antibiotic sensitivity patterns

All the isolates of *S.marcescens* showed the same pattern of multiple resistance including resistance to ampicillin, amikacin, sulfazotrin, cephalotin, cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone and amoxicillin plus clavulanic acid; 60% were resistant to gentamicin and tetracycline. All the isolates were susceptible to imipenem, aztreonam, cefpime, ceftirome, perfloxacin and ciprofloxacin. It was established by antibiotic susceptibility pattern that the same strain was responsible for the outbreak detected by prevalence surveys in December, 26/41 (63.4%), February, 9/26 (34.6%) and March, 3/7 (42.9%) in the 38 colonized infants (Figure 2), and in the 15 infected infants (Table 1). The epidemic strains were resistant to ceftazidime (MIC $\geq 64\mu\text{g/mL}$) and intermediately resistant to cefpime (MIC $\geq 16\mu\text{g/mL}$). ESBLs production was studied on 100 *S.marcescens* isolates but only 31 were positive, including four isolates obtained from infected infants by the enhancement of the inhibition zones of aztreonam (31/31) and ceftazidime (17/31) revealed by synergy with amoxicillin plus clavulanic acid. Cultures from the hands of 12 NICU HCWs failed to identify a reservoir of *S. marcescens*. Cultures from the environment did not yield *S.marcescens* with the exception of the drains from 6 of 12 sinks in the unit (Figure 1).

Discussion

This study documents an outbreak of *S.marcescens* which occurred in a Brazilian hospital over a 4 month period, affecting a total of 53 infants. Fifteen patients had clinical disease: 7 infants developed conjunctivitis, 1 infant had otitis, 1 infant developed cystitis, 1 infant had both conjunctivitis and bacteremia, and 5 infants had bacteremia.

A notable feature of *S. marcescens* in neonatal wards is its tendency to spread rapidly [1-3]. Microbiologic surveillance in this study revealed a high prevalence of colonization (71.7%) and infection (28.3%).

Independent risk factors for *S.marcescens* clinical disease included very low birth weight, incubator care, exposure to antibiotics, duration of hospitalization (≥ 7 days), low Apgar score and prematurity [2, 7].

Diseased infants were more likely than the control group to have been cared for in an incubator (OR, 10.86; CI₉₅, 2.32-57.77; P < 0.0006).

In most outbreaks, the presumed source of infections is an infected neonate [1], but studies often do not indicate a point of source [1, 3]. The origin of this outbreak remains unclear. The index case was delivered in a surgical room where environmental and other cultures failed to show the epidemic strain [1]. The first isolate could have been introduced by an infant source with subsequent patient-to-patient transmission via health care workers' hands, as has been reported by others [2]. In this outbreak inadequate handwashing practices and the failure to identify the index case early on were probably responsible for the difficulties in halting the epidemic, although hand cultures that were taken later on in the course of the epidemic, when stringent control measures were well underway, were found to be negative [1, 7].

The gastrointestinal tract can be an important reservoir in neonates [19]. Colonization of the intestinal tract, nasopharynx and throat in combination with the colonized hands of personnel, has played a major role in several epidemics among neonates [7].

The results of the study show that all strains of *S. marcescens* isolated in the outbreak had the same antimicrobial susceptibility profile. This suggests a cross-transmission between patients in the NICU, as the strain differs clearly from the non-related ones that were susceptible to third generation cephalosporins. The clinical isolates were resistant to oxyiminocephalosporins, including third-generation cephalosporins, because of their production of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) encoded on plasmids that can transfer to other species, mainly *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* [20]. They are often associated with other multiple resistances, including resistance to aminoglycosides [21], as observed in this study.

Epidemic strains are known to be difficult to eradicate because of their antibiotic resistance. The treatment of the resulting infections required the use of such drugs as imipenem and amikacin, which involves

a constant follow-up of the patient, thus increasing the length and the cost of hospitalization [19] as occurred in this series.

The decision to close the NICU was taken after 2 infants developed fatal septicemia. It was considered significant that medical staff members were not found to be carrying *S. marcescens* on their hands. Containment of the outbreak was achieved by closing of the NICU to new admissions, strict hygienic measures, and cohort nursing of the infected and colonized infants.

S. marcescens can cause rapidly-spreading outbreaks of severe infections in neonatal units, but with appropriate control measures these outbreaks can be contained at an early stage.

References

1. Van Ogtrop M. L., Van Zoeren-Grobbe D., Verbakel-Salomons E.M.A., Van Boven C.P.A. *Serratia marcescens* infections in neonatal departments: description of an outbreak and review of the literature. *J Hosp Infect* 1997;36:95-103.
2. Archibald L.K., Corl Ann, Shah Bhavesh, et al. *Serratia marcescens* outbreak associated with extrinsic contamination of 1% Chlorxylenol soap. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:704-9.
3. Braver D.J., Hauser G.J., Berns L., et al. Control of a *Serratia marcescens* outbreak in a maternity hospital. *J Hosp Infect* 1987;10:129-37.
4. Cook L.N., Davis R.S., Stover B.H. Outbreak of amikacin-resistant *Enterobacteriaceae* in an intensive care nursery. *Pediatrics* 1980;65:264-8.
5. Lewis D.A., Hawkey P.M., Watts J.A., et al. Infection with netilmycin-resistant *Serratia marcescens* in a special care baby unit. *BMJ* 1983;287:1701-5.
6. Smith P.J., Brookfield D.S.K., Shaw D.A., Gray J. An outbreak of *Serratia marcescens* infection in a neonatal unit. *Lancet* 1984;i:151-3.
7. Zaidi M., Sifuentes J., Bobadilla M., et al. Epidemic of *Serratia marcescens* bacteremia and meningitis in a neonatal unit in Mexico City. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1989;10:14-20.
8. Wake C., Lees H., Cull A.B. The emergence of *Serratia marcescens* as a pathogen in a newborn unit. *Aust Paediatr J* 1986;22:323-6.
9. Nelson J.D. The neonate, in Donowitz LG (ed). Hospital acquired infection in the pediatric patient. Baltimore, Williams and Wilkins 1988:273-94.

10. Baker C.J. Nosocomial septicemia and meningitis in neonates. *Am J Med* 1981;70: 698-701.
11. Ponce de Leon-Rosales S. Nosocomial infection control in Latin America: we have to start now. *Infect control* 1984; 5:511-2.
12. Pannuti C.S., Grinbaum R.S. An overview of nosocomial infection control in Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:170-4.
13. Crowe M.J., Cooke E.M. Review of case definitions for nosocomial infections; towards a consensus. *J Hosp Infect* 1998;39:3-11.
14. Farmer J.J. Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In: Murray R.P. *et al.* (Eds). *Manual of clinical Microbiology*. Sixth edit. Washington, DC: American Society for Microbiology 1995, 1482p, p.438.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility. Approved standard M2-A5.NCCLS, Villanova, PA, 1997a.
16. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A4.NCCLS, Villanova, PA, 1997b.
17. Livermore D.M. β -Lactamases in Laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-84.
18. Dean, A.G., et al. Epi Info, Version 5.0: A word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Stone Mountain, GA: USD, Ins; 1995.
19. Christensen G.D., Korones S.B., Reed L., et al. Epidemic *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: Importance of the gastrointestinal tract as a reservoir. *Infect Control* 1982;3:127-33.
20. Luzzaro F., Perilli R., Migliavacca R., et al. Repeated epidemics caused by extended-spectrum β -lactamase producing *Serratia marcescens* strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:629-36.
21. Fernandez-Rodriguez A., Canton R., Perez-Diaz J.C., et al. Aminoglycoside - modifying enzymes in clinical isolates harbouring extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2563-8.

FU-00011200-7