

# Identificação e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de *Serratia marcescens* recuperadas de um rio urbano

Heloisa Silva Inácio<sup>1</sup>, Karina Marjorie Silva Herrera<sup>1</sup>, William Gustavo Lima<sup>2</sup>, Adrielle Pieve de Castro<sup>3</sup>, Lucienne França Reis Paiva<sup>4</sup>, Magna Cristina de Paiva<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica, Campus Centro Oeste Dona Lindu, Universidade Federal de São João del Rei, Rua Sebastião Gonçalves Coelho, Nº 400, Bairro Chanadour, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. CEP: 35.501-296.

<sup>2</sup> Instituto de Ensino e Pesquisa Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>4</sup> MBA Gestão em Saúde e Controle de Infecção e CCIH Cursos – São Paulo, Brasil.

\*Autora correspondente: magnacpaiva@ufsj.edu.br

Recebido: 2 de agosto de 2023

Revisado: 20 de agosto de 2023

Aceto: 26 de agosto de 2023

## RESUMO

**Introdução:** *Serratia marcescens* é considerada causa de infecções em pacientes imunocomprometidos e recém-nascidos e o tratamento é desafiador, devido a sua resistência intrínseca a vários antimicrobianos. É encontrada no solo, plantas e água, nesta última a resistência antimicrobiana é menos estudada. Neste trabalho foi investigada a presença e a susceptibilidade antimicrobiana de *S. marcescens* em água de um rio urbano. **Material e Métodos:** Para tal objetivo foi conduzida uma cultura enriquecida da água sob pressão seletiva da colistina. Os isolados foram identificados por métodos bioquímicos-fisiológicos e os testes de perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos e investigação da produção de betalactamases de espectro estendido (ESBL) e ampicilinase tipo C (AmpC) seguiram o BrCAST 2017 e 2022.

**Resultados:**  $1,9 \times 10^3$  UFC/mL (aproximadamente 9%) das bactérias recuperadas eram *S. marcescens*. Alta sensibilidade aos betalactâmicos (73,7%) foi observada, mas dois isolados (10,5%) foram ertapenem-resistentes. Todos os isolados foram amicacina-sensíveis e três isolados (15,8%) apresentaram resistência a gentamicina. Também resistência a fosfomicina (52,6%) e sulfametoxazol-trimetoprima (57,9%)

foi observada. De particular preocupação foi o achado de *S. marcescens* multirresistente (31,5 %), mais frequentemente a sulfametoazol-trimetoprima, cloranfenicol e fosfomicina. De acordo com os testes fenotípicos, foi sugerido que nenhum isolado era produtor de ESBL e AmpC, porém é provável a produção de carbapenemase por dois isolados. **Conclusão:** Rios urbanos são um importante reservatório de *S. marcescens* resistentes a múltiplos antimicrobianos e políticas de vigilância ambiental nestes ambientes devem ser estimuladas para minimizar o impacto de achados como esses sobre a saúde da comunidade local.

*Palavras-chave:* *Serratia marcescens*, Resistência, Antimicrobianos, Meio ambiente.

## SUMMARY

### Identification and antimicrobial susceptibility assessment of *Serratia marcescens* recovered from an urban river

**Introduction:** *Serratia marcescens* is considered a cause of infections in immunocompromised patients and newborns and treatment is challenging due to its intrinsic resistance to several antimicrobials. It is found in soil, plants and water, in the latter antimicrobial resistance is less studied. In this work, the presence and antimicrobial susceptibility of *S. marcescens* in water from an urban river were investigated. **Material and Methods:** For this purpose, an enriched water culture was carried out under selective colistin pressure. The isolates were identified by biochemical-physiological methods and the antimicrobial susceptibility profile tests and investigation of the production of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and ampicillinase type C (AmpC) followed the BrCAST 2017 and 2022. **Results:**  $1.9 \times 10^3$  CFU/mL (approximately 9%) of the recovered bacteria were *S. marcescens*. High sensitivity to beta-lactams (73.7%) was observed, but two isolates (10.5%) were ertapenem-resistant. All isolates were amikacin-sensitive and three isolates (15.8%) were resistant to gentamicin. Also, resistance to fosfomycin (52.6%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (57.9%) were observed. Of particular concern was the finding of multidrug-resistant *S. marcescens* (31.5%), most frequently to trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, and fosfomycin. According to the phenotypic tests, it was suggested that none of the isolates produced ESBL and AmpC, but it is probable that two isolates produced carbapenemase. **Conclusion:** Urban Rivers are an important reservoir of *S. marcescens* resistant to multiple antimicrobials and environmental surveillance policies in these environments should be encouraged to minimize the impact of findings like these on the health of the local community.

*Keywords:* *Serratia marcescens*, Resistance, Antimicrobials, Environment.

## RESUMEN

### Identificación y evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de *Serratia marcescens* recuperada de un río urbano

**Introducción:** *Serratia marcescens* se considera una causa de infecciones en pacientes inmunocomprometidos y recién nacidos y el tratamiento es un desafío debido a su resistencia intrínseca a varios antimicrobianos. Se encuentra en suelo, plantas y agua, en esta última está menos estudiada la resistencia antimicrobiana. En este trabajo se investigó la presencia y susceptibilidad antimicrobiana de *S. marcescens* en agua de un río urbano. **Material y Métodos:** Se realizó un cultivo enriquecido de agua bajo presión selectiva de colistina. Los aislamientos fueron identificados por métodos bioquímicos-fisiológicos y las pruebas de perfil de susceptibilidad antimicrobiana y la investigación de la producción de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) y ampicilinasa tipo C (AmpC) siguieron el BrCAST 2017 y 2022. **Resultados:**  $1,9 \times 10^3$  CFU/ml (aproximadamente el 9%) de las bacterias recuperadas eran *S. marcescens*. Se observó una alta sensibilidad a los betalactámicos (73,7%), pero dos aislados (10,5%) fueron resistentes a ertapenem. Todos los aislamientos fueron sensibles a la amikacina y tres (15,8%) fueron resistentes a la gentamicina. También se observó resistencia a fosfomicina (52,6%) y trimetoprim-sulfametoxazol (57,9%). De particular preocupación fue el hallazgo de *S. marcescens* multirresistente (31,5%), con mayor frecuencia a trimetoprima-sulfametoxazol, cloranfenicol y fosfomicina. De acuerdo con las pruebas fenotípicas, se sugirió que ninguno de los aislamientos produjo BLEE y AmpC, pero es probable que dos aislamientos produjeron carbapenemasa. **Conclusión:** Los ríos urbanos son un reservorio importante de *S. marcescens* resistente a múltiples antimicrobianos y se deben alentar políticas de vigilancia ambiental en estos entornos para minimizar el impacto de hallazgos como estos en la salud de la comunidad local.

*Palabras clave:* *Serratia marcescens*, Resistencia, Antimicrobianos, Medio ambiente.

## INTRODUÇÃO

*Serratia marcescens*, um bacilo gram-negativo da família *Yersiniaceae*, ordem Enterobacterales, por adaptar-se facilmente a variações de temperatura e pH, é encontrada em habitats naturais como água, solo, plantas, além de compor a microbiota intestinal de animais homeotérmicos e humanos [1, 2]. Apresenta como característica particular, a

produção de pigmento vermelho (prodigiosina), para o qual têm sido apontadas atividades biológicas, incluindo ação pro-apoptótica contra bactérias, fungos e linhagens celulares de câncer [3].

Apesar de ser associada à baixa virulência, *S. marcescens* tem sido considerada um importante patógeno para pacientes gravemente comprometidos e recém-nascidos, causando principalmente infecções do trato urinário e da corrente sanguínea [4]. No Brasil, surtos dessa espécie em Unidades de Terapia Intensiva têm sido relatados no Rio de Janeiro [5] e Distrito Federal [6], com óbitos confirmados.

O tratamento de infecções por *S. marcescens* é desafiador, uma vez que apresenta resistência intrínseca a vários antimicrobianos (cefalosporinas de primeira geração, tetraciclinas, polimixinas e nitrofuranos), além da crescente resistência adquirida a outros fármacos [7, 8].

Dentre os mais frequentes mecanismos de resistência identificados em *S. marcescens* destaca-se a produção de enzimas betalactamases de espectro estendido (ESBL), superexpressão de ampicilinase tipo C (AmpC), produção de carbapenemases, bomba de efluxo e modificações das proteínas da parede celular bacteriana [9]. Tornando esse cenário mais crítico, a maioria desses mecanismos é veiculada por elementos genéticos móveis, o que confere alto potencial de disseminação [10]. Além disso, espécies de *S. marcescens* multirresistente apresentando associação de determinantes de resistência têm sido encontradas, inclusive no Brasil [11].

Deve ser ressaltado que, ao contrário do cenário clínico, estudos que descrevam o contexto da resistência antimicrobiana de *S. marcescens* de origem ambiental são escassos. De acordo com Joutey *et al.* (2013) [12], bactérias ambientais geralmente são resistentes e conseguem suportar condições extremas, incluindo a presença de metais pesados e outros resíduos antrópicos. De fato, resistência a aminoglicosídeos, carbapenêmicos e quinolonas já foram descritas em *S. marcescens* de rio e efluentes não tratados [13, 14], além do achado de cepas multirresistentes e de maior virulência em peixes [15].

Considerando a perspectiva *One Health*, reconceitualizado e adotado pela Organização Mundial da Saúde [16] e os relatos de resistência antimicrobiana em *S. marcescens* recuperadas de ambientes não clínicos, mas pesquisas são necessárias a fim de ampliar o conhecimento do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos clinicamente relevantes nesta espécie, sobretudo em águas de rio urbano, o qual tem grande impacto na vida da população que vive à sua margem. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi investigar a possível presença de *S. marcescens* em água de rio, bem como determinar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos são considerados opções importantes na terapêutica das infecções humanas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Amostra de água e cultura enriquecida**

Amostra de água (um litro) foi coletada em um ponto do Rio Itapecerica próximo a uma área residencial, hospitalar e comercial da cidade de Divinópolis-MG (Latitude: 20° 28' 24" Sul, Longitude: 45° 7' 36" Oeste) em garrafa de polipropileno esterilizada e levada para o laboratório por transporte refrigerado e processada nas duas horas seguintes à coleta, no Laboratório de Microscopia/ Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica da Universidade Federal de São João Del-Rei (Divinópolis-MG/Brasil).

Para a seleção de *S. marcescens*, a amostra de água do rio foi inoculada em dois balões (20 mL em cada), contendo 100 mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (TM Media, Índia), sem e com colistina (COL) (ABL/Brasil) na concentração final de 4 µg/mL, considerando sua resistência intrínseca a este fármaco, e incubados a 35±2 °C por 24 horas. A concentração da COL foi definida de acordo com os breakpoints do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST, 2022) [17] que considera como “resistente” Enterobacteriales, cuja concentração inibitória mínima (CIM) seja superior a 2 µg/mL.

### **Quantificação, isolamento e identificação de *S. marcescens***

Após o período de incubação, os balões foram observados para a inspeção macroscópica da turbidez, um indício do crescimento bacteriano, foi realizada uma diluição seriada e 100, 10 e 1 µL de cada diluição foram transferidos para placas de ágar MacConkey (Isofar, Brasil), distribuídos na superfície das placas por meio da técnica de *spread plate*. O experimento foi realizado em duplicata e as placas incubadas a 35±2 °C por até 48 horas.

Após o crescimento bacteriano, foi realizada a quantificação total de bactérias gram-negativas resistentes a colistina nas placas de ágar MacConkey onde houve crescimento de 20 a 200 colônias. O número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) foi calculado usando a equação:

$$\text{UFC} = \text{Número de colônias} \times \text{Fator de diluição} / \text{Volume de inóculo}$$

Adicionalmente, colônias com características macroscópicas de *S. marcescens* crescidas em ágar MacConkey (colônias grandes, não fermentadoras de lactose e produtoras de pigmento vermelho) foram também quantificadas como citado anteriormente. Após quantificação, os morfotipos foram selecionados, inoculados em 1 mL de caldo BHI

(TM Media, Índia) e incubados em estufa a  $35\pm2$  °C por 24 horas. Após a incubação, foram inoculadas em ágar MacConkey e incubadas a  $35\pm2$  °C por até 48 horas para verificação da pureza e confirmação da produção de pigmentos específicos (prodigiosina).

A seguir, todas as colônias foram submetidas à coloração de Gram para confirmação da morfologia e identificadas utilizando provas de identificação bioquímico-fisiológicas clássicas, incluindo provas da produção da enzima oxidase, da fermentação de carboidratos (glicose, lactose e sacarose), da produção de pigmentos, da motilidade, da descarboxilação de lisina, da produção de indol, da produção de H<sub>2</sub>S, da utilização de citrato e malonato como fonte de carbono e da produção urease [18]. Após finalização da identificação da espécie, os isolados obtidos foram transferidos para microtubos contendo 500 µl de BHI acrescido de 20% de glicerol, sendo então rotulados e armazenados em freezer à -20°C.

#### **Determinação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos**

O perfil de susceptibilidade dos isolados de *S. marcescens* frente à fosfomicina (FOS), aztreonam (ATM), ciprofloxacina (CIP), amicacina (AMI), gentamicina (GEN), ceftazidima (CAZ), cefepime (CPM), ceftriaxona (CRO), meropenem (MEM), ertapenem (ETP), imipenem (IPM), cefotaxima (CTX), sulfametoxazol-trimetoprima (SUT) e clorafenicol (CIO) (CECON®, Brasil) foi determinado pelo método de disco difusão de acordo com o BrCAST (2022) [17], considerando os *breakpoints* estabelecidos para cada antimicrobiano. *S. marcescens* resistentes a compostos de pelo menos três classes diferentes foram consideradas multirresistentes (MDR) [19].

Inóculos em caldo BHI (TM Media, Índia) compatíveis com a escala 0,5 de MacFarland ( $10^8$  UFC/mL) foram realizados a partir das placas de ágar MacConkey. Posteriormente, foi realizado o inóculo em placas de ágar Mueller Hinton (MH) (Himedia, Índia), aplicados os discos de antimicrobianos e as placas incubadas a  $35\pm2$  °C, por 24 h.

#### **Detecção da produção da enzima betalactamase do tipo ESBL e AmpC**

Todos os isolados foram submetidos ao teste fenotípico para investigação da presença de enzimas betalactamases do tipo ESBL usando o método dupla difusão seguindo orientações do BrCAST (2017) [20]. Após inoculação de cada isolado de *S. marcescens* ( $10^8$  UFC/mL) em ágar MH (Himedia, Índia), um disco de amoxicilina com ácido clavulânico (30 µg) foi colocado no meio de placa e, a uma distância de 20 mm entre os discos, foram posicionados os substratos CTX, CAZ e CPM. As placas foram incubadas a  $35\pm2$  °C por 24h e os resultado avaliados por meio de uma distorção de halo de inibição observada em qualquer uma das cefalosporinas testadas, o qual indica a produção de ESBL pelo isolado.

A detecção da produção da enzima AmpC foi conduzida de acordo com Elsayed *et al.* (2015) [21], utilizando a abordagem do teste de disco com imipenem, cefoxitina e amoxicilina/ácido clavulânico como indutores e ceftazidima como substrato. Um achatamento do halo da ceftazidima indica resultado positivo, ou seja, produção da enzima AmpC. Além disso, foi utilizado o algoritmo para triagem de produção de AmpC padronizado pelo BrCAST (2017) [20] com a avaliação do perfil de susceptibilidade a cefoxitina, ceftriaxona e ceftazidima.

Adicionalmente, triagem da produção de carbapenemase pelos isolados foi avaliada de acordo com o BrCAST (2017) [20] utilizando os pontos de corte definidos para meropenem e ertapenem.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rios urbanos frequentemente recebem efluentes domésticos, industriais e hospitalares, o que resulta na composição de uma microbiota altamente diversificada. Além disso, neste microbioma, bactérias resistentes e genes de resistência podem estar presentes, fato pelo qual esses ambientes são considerados *hotspot* para o desenvolvimento e disseminação da resistência antimicrobiana [22].

Neste trabalho, após análise da amostra coletada, a carga total de bactérias resistentes a colistina foi superior a  $2,0 \times 10^5$  UFC/mL (202 colônias), sendo que  $1,9 \times 10^3$  UFC/mL (aproximadamente 9,0%) eram de *S. marcescens*, a qual é intrinsecamente resistente a este fármaco. De fato, espécies de Enterobacteriales estão presentes em ambientes aquáticos, tais como estação de tratamento de esgoto, e *S. marcescens* é relatada em estudos dessas amostras em proporções variadas, tais como 16,0% [23] e 6,2% [24].

No Brasil, a maioria dos estudos aponta para uma baixa proporção ou mesmo ausência de *S. marcescens* em ambientes aquáticos. Por exemplo, essa espécie não foi encontrada em águas de uma estação de tratamento de esgoto [25], nem em rios da Bacia do Rio Doce [26]. Além disso, um estudo na mesma região deste trabalho (centro-oeste de Minas Gerais) mostrou ausência de *S. marcescens* no Rio Pará [27].

A partir da cultura em placas, um total de 19 colônias produtoras de prodigiosina foi identificado como *S. marcescens*. Estes isolados foram submetidos ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos que pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados de *S. marcescens* recuperados do rio Itapecerica, Divinópolis-MG.

Isolados de <i>Serratia marcescens</i>	Antimicrobianos												
	CTX	CAZ	CRO	CPM	ATM	IPM	MEM	ERT	GEN	AMI	CIP	FOS	SUT
SRI1	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R
SRI2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R
SRI3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
SRI4	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R
SRI5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
SRI6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SRI7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
SRI8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R
SRI9	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S
SRI11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
SRI12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
SRI13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
SRI14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SRI15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SRI16	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SRI17	S	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R
SRI18	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R
SRI19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SRI20	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R

**SRI**: *Serratia marcescens*, Rio Itapecerica. **FOS**: Fosfomicina, **CIP**: Ciprofloxacina, **ATM**: Aztreonam, **CIP**: Ciprofloxacina, **AMI**: Amicacina, **GEN**: Gentamicina, **CAZ**: Ceftazidima, **CPM**: Cefepime, **CRO**: Ceftriaxona, **MEM**: Metropenem, **ERT**: Ertapenem, **IPM**: Imipenem, **CTX**: Cefotaxima, **SUT**: Sulfa metoxazol-trimetoprima, **CLO**: Clorafenicol, S: sensível, R: resistente.

Aqui, além da resistência intrínseca a colistina, a nitrofurano e a betalactâmicos (ampicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, ticarcilina, cefalotina, cefazolina, cefoxitina, cefotetan e cefuroxima) CLSI, 2022) [28], alguns isolados de *S. marcescens* também exibiram resistência a outros compostos antimicrobianos. No entanto, quatro isolados foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados (Tabela 1).

Com relação aos betalactâmicos, uma taxa geral de sensibilidade de 73,7% (14/19) foi observada, enquanto dois isolados mostraram resistência só ao aztreonam e um só a cefazidima. Curiosamente, resistência a cefepime, uma cefalosporina de quarta geração, também foi observada em dois isolados (SRI 17 e SRI 19), no primeiro a resistência foi associada à baixa susceptibilidade a cefazidima. Resistência a três compostos betalactâmicos (CAZ, CPM, ERT ou CPM, ATM, ERT), apesar de baixa (2/19, 10,5%), foi observada entre os isolados, um perfil relevante no contexto clínico uma vez que inutiliza antimicrobianos de gerações mais recentes dos betalactâmicos. De fato, tem sido relatado aumento da resistência a betalactâmicos em isolados extra-clínicos, como por exemplo, em *S. marcescens* recuperadas de animais, na qual altas taxas de resistência a CPM e CAZ, além de isolados com perfil de resistência multirresistência [29] são observadas.

Aqui, a taxa geral de sensibilidade aos três carbapenêmicos simultaneamente foi alta (17/19, 89,5%), mas dois isolados devem ser destacados, ambos apresentando resistência ao ertapenem. Enterobacteriales, incluindo *S. marcescens* carbapenem-resistentes estão na lista de prioridade crítica da *World Health Organization* (WHO, 2017) [30] uma vez que tem aumentado o relato de espécies com esse fenótipo no cenário clínico humano [31] e, apesar de taxas ainda baixas, também em isolados de origem veterinária [32]. Ao contrário do cenário clínico, estudos que investigam *S. marcescens* carbapenem-resistentes em ambientes como rio são escassos. Dessa forma, o achado deste estudo é preocupante, uma vez que se trata de antimicrobianos de última geração, utilizados para tratar infecções por bactérias gram-negativas multirresistentes, além da possibilidade de disseminação da resistência com limitação das opções terapêuticas [33].

Outra classe de antimicrobiano investigada neste estudo foi a dos aminoglicosídeos, especificamente gentamicina e amicacina. Todos os isolados foram sensíveis a amicacina, mas três isolados (15,8%) apresentaram resistência à gentamicina. Em um contexto de saúde animal, *S. marcescens* causando mastite em bovinos foram sensíveis a gentamicina e, provavelmente pela sua menor utilização para o tratamento dessas infecções, apresentou maior eficácia [34]. A sensibilidade dos isolados a amicacina nesse estudo, de acordo com Gad *et al.* (2011) [35], pode se dar pelo fato dos antimicrobianos aminoglicosídeos serem mais antigos e menos utilizados na atualidade. Dessa forma, a sensibilidade pode estar relacionada a pouca exposição da *S. marcescens* a esses antimicrobianos.

Ciprofloxacina, fosfomicina e sulfametoxazol-trimetoprima são antimicrobianos amplamente utilizados para o tratamento de infecções do trato urinário causadas por bactérias gram-negativas [36, 37]. Apesar dos resíduos de quinolonas poderem permanecer ativos em ambientes aquáticos e com isso favorecer a seleção de bactérias resistentes [38], resistência a ciprofloxacina foi observada apenas em um isolado de *S. marcescens* (SRI1). No entanto, apesar do perfil de susceptibilidade a esta classe de antimicrobianos ser pouco estudada em isolados ambientais, é relatada a presença de mecanismos de resistência a quinolonas nesta espécie, mais frequentemente bomba de efluxo (*superfamily RND*) [39], mas mutações em *gyrA* também têm sido descritas [40].

Por outro lado, resistência maior a fosfomicina (10/19, 52,6%) e sulfametoxazol-trimetoprima (11/19, 57,9%) alerta para um risco iminente de impossibilidade de utilização terapêutica desses antimicrobianos. Dados na literatura sobre o contexto da resistência de *S. marcescens* de ambiente aquático a esses fármacos são escassos, porém Li *et al.* (2022) [41] relataram que fosfomicina é pobramente degradada em águas residuais e exerce pressão seletiva na comunidade bacteriana, o que provavelmente resulta em resistência antimicrobiana. Da mesma forma, de acordo com Oharisi *et al.* 2023 [42], sulfametoxazol foi o antimicrobiano encontrado em maior concentração em estações de tratamento de esgoto e corpos d'água receptores do esgoto na África do Sul, o que impõe risco ao ecossistema aquático, inclusive com a possibilidade de aumento da resistência antimicrobiana.

Resistência ao cloranfenicol também tem sido relatada, relacionada à produção de acetiltransferase, que pode ser disseminada entre as espécies e, neste estudo, 42,1% dos isolados foram resistentes a esse fármaco. Em 1982, Bartlett *et al.* [43] já relatavam taxas de resistência elevadas (85,0%) a este antimicrobiano em isolados de *S. marcescens*, assim como Tomanic' *et al.* (2022) [34], que detectaram resistência ao cloranfenicol em todos os isolados de origem animal estudados.

De acordo com Magiorakos *et al.* (2012) [19], bactérias multirresistentes (MDR) apresentam resistência a pelo menos um antimicrobiano de três ou mais classes diferentes. A resistência simultânea a várias classes de antimicrobianos tem aumentado entre isolados bacterianos, desafiando a comunidade científica e causando grande preocupação na comunidade médica no tocante às opções terapêuticas.

No presente estudo, a análise dos dados mostrou que 31,5 % dos isolados de *S. marcescens* exibiram fenótipo MDR, mais frequentemente resistentes a SUT, FOS e CLO. Destacam-se nesse contexto os isolados SRI1 e SRI20, para os quais resistência a compostos de cinco classes distintas de antimicrobianos foi observada (Tabela 1). Assim, nossos achados revelam que *S. marcescens* MDR estão circulando no rio estudado, o

que leva a uma grande preocupação uma vez que a resistência microbiana é um dos mais graves e emergentes problemas de saúde pública [44]. Em paralelo, Iguchi *et al.* (2014) [45] relataram *S. marcescens* MDR no cenário clínico, com a resistência simultânea relacionada às cefalosporinas, como aqui observado, além de aminoglicosídeos. Ainda, um estudo em isolados de *S. marcescens* de origem animal relatou o achado de espécies extensivamente resistentes (XDR) [29], o que aponta para um cenário ainda mais crítico considerando que bactérias XDR são susceptíveis a apenas uma ou duas categorias de antimicrobianos atualmente disponíveis para a terapêutica das infecções [19].

Considerando a resistência antimicrobiana em ambiente aquático, deve ser discutida a presença de resíduos de fármacos como fator preponderante para o surgimento de bactérias resistentes. A maioria dos antimicrobianos usados é excretada diretamente ou indiretamente nos rios, através de esgoto hospitalar ou domiciliar e pelas indústrias farmacêuticas. O tempo de biodegradação desses antimicrobianos varia de meses a anos dependendo das suas condições físico-químicas, sendo que a capacidade de resistir aos processos de degradação aumenta seu tempo no ambiente e, por consequência, a pressão seletiva exercida [46]. Além disso, é frequente o descarte de antimicrobianos na sua forma original ou metabólitos ativos no ambiente, ocasionando acúmulo nos rios, maior exposição microbiana e resistência antimicrobiana [47]. Diante do exposto, além do uso racional de antimicrobianos, políticas de proteção ambiental deveriam ser implementadas para minimizar o aporte de antimicrobianos e o surgimento da resistência microbiana.

Vale ressaltar que o rio Itapecerica, objeto desse estudo, recebe esgoto em drenagem espontânea, sem qualquer tratamento e que a amostra de água incluída foi coletada próxima a pontos de descarga de esgoto doméstico e hospitalar. Assim, uma hipótese para a resistência observada nas cepas de *S. marcescens* seria a alta exposição a resíduos de antimicrobianos, os quais impactam no desenvolvimento de resistência aos fármacos por exercerem pressão seletiva sobre a comunidade bacteriana [48].

Tão importante quanto conhecer o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados ambientais é a investigação dos mecanismos de resistência bacteriana, sobretudo aqueles que são veiculados por elementos genéticos móveis, com o intuito de conter a disseminação dessa resistência. Todos os isolados de *S. marcescens* foram submetidos a testes investigativos da produção das enzimas ESBL e AmpC por abordagem fenotípica.

Curiosamente, nenhum isolado foi considerado produtor de ESBL, um importante mecanismo de resistência comum entre bactérias gram-negativas MDR no cenário clínico. De fato, *S. marcescens* ESBL-positivas de ambientes aquáticos não tem sido um relato frequente, apesar de ser considerada a espécie origem de uma classe de ESBL, a

enzima BES-1 descrita no Brasil [49] em um isolado clínico. Lu *et al.* (2010) [50] relataram o achado desta espécie com este fenótipo em um rio da China e Rybak *et al.* (2021) [51] encontraram *Serratia fonticola* produtora de ESBL em reservatório de água na Polônia, no entanto, no Brasil estudos são escassos e assim como neste trabalho, Chagas *et al.* (2011) [52] não detectaram *S. marcescens* ESBL-positiva em amostras de esgoto hospitalar no Rio de Janeiro.

Produção de AmpC não foi detectada entre os isolados considerando as abordagens fenotípicas propostas por Elsayed *et al.* (2015) [21] e BrCAST (2017) [20]. *S. marcescens*, assim como *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp, *Providência rettgeri*, *Providência stuartii* e *Morganella morganii* que compõem o grupo CESP, são caracterizadas por albergarem cromossomicamente o gene *ampC*, que em uma condição de indução ou superexpressão, resulta em perda da atividade e do espectro de ação das cefalosporinas da terceira geração, monobactâmicos e penicilinas [53, 54].

Por outro lado, o BrCAST (2017) [20] recomenda a triagem da produção de carbapenemase por análise dos halos de inibição obtidos para meropenem e ertapenem. Considerando o proposto (halos de inibição < 25 mm), a resistência ao ertapenem dos isolados SRI17 e SRI19, pode ser devido a produção de carbapenemase. É conhecido que a triagem com ertapenem tem sensibilidade alta, mas especificidade baixa, porém para descartar a produção de carbapenemase em isolados ertapenem-resistentes, testes para ESBL e AmpC fenotípicos devem ser positivos [20]. Valiatti *et al.* (2023) [29] mostraram que *S. marcescens* carbapenemases-positiva estão presentes em fezes de animais criados para consumo humano, fato esse que pode favorecer a disseminação desta bactéria para o ambiente aquático.

A não detecção de ESBL e AmpC sugere que a resistência aos betalactâmicos exibida pelos isolados estudados não está relacionada com mecanismo enzimático. Porém, apenas a abordagem molecular, considerada padrão-ouro, pode descartar a ausência dos genes produtores destas enzimas nos isolados [55]. Apesar de no ambiente clínico *S. marcescens* produtora dessas enzimas ser frequentemente relatada, na literatura pesquisada, dados sobre a produção dessas enzimas em isolados ambientais não são encontrados.

Finalmente, com relação a resistência antimicrobiana de *S. marcescens*, deve ser lembrado que isolados dessa espécie de origem clínica exibem maior resistência que aqueles de origem ambiental, apesar deste ser considerado reservatório de determinantes de resistência antimicrobiana [40]. Estudos que abordam a resistência antimicrobiana em *S. marcescens* de origem aquática são escassos na literatura, e assim, possivelmente a distribuição da resistência aos antimicrobianos nesta espécie pode estar subestimada.

## CONCLUSÃO

Esses resultados mostram que os rios urbanos são um importante reservatório de *S. marcescens* resistentes a múltiplos antimicrobianos. Assim, considerando a perspectiva *One Health*, onde a saúde está diretamente associada ao ambiente em que as pessoas estão inseridas, a presença de *S. marcescens* MDR deve estimular políticas de vigilância ambiental na bacia hidrográfica do rio Itapecerica para assim minimizar o impacto desses achados sobre a saúde da comunidade local.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Federal de São João del Rei por toda infraestrutura e materiais disponibilizados para a realização deste estudo.

## CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores não têm conflitos de interesse a declarar.

## REFERÊNCIAS

1. Y. Kim, K. Kim, J. Seo, S. Shrestha, H.H. Kim, M. Nalini, Y. Yi, Identification of an entomopathogenic bacterium, *Serratia* sp. anu101, and its hemolytic activity, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **19**(3), 314–322 (2009).
2. M. Adeolu, S. Alnajar, S. Naushad, R.S. Gupta, Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families enterobacteriaceae, erwiniaceae fam. nov., pectobacteriaceae fam. nov., yersiniaceae fam. nov., hafniaceae fam. nov., morganellaceae fam. nov., and budviciaceae fam. nov, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **66**(12), 5575-5599 (2016). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485>
3. R.G. Araújo, N.R. Zavala, C. Castillo-Zacarias, M.E. Barocio, E. Hidalgo-Vasquez, L. Parra-Arroyo, J. Rodriguez-Hernandez, M.A. Martinez-Prado, J.E. Sosa-Hernandez, M. Martinez-Ruiz, W.N. Chen, D. Barcelo, H.M.N. Igbal, R. Parra-Saldivia, Recent advances in prodigiosin as a bioactive compound in nanocomposite applications, *Molecules*, **27**(15), 4982 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27154982>

4. M. Cristina, M. Sartini, A. Spagnolo, *Serratia marcescens* infections in neonatal intensive care units (NICUs), *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **16**(4), 610 (2019). <https://doi.org/10.3390/ijerph16040610>
5. I.C. Ribeiro, B.G.C. Aguiar, Strategies adopted for the hospital infections's prevention and control caused by *Serratia marcescens* in the neonatal intensive unit-the nursing participating of the process, *Revista de Enfermagem UFPE On Line*, **4**(4), 1761 (2010). <https://doi.org/10.5205/reuol.1114-9555-1-le.0401201024>
6. A.R. Tavares, *Infecções por Serratia spp. em ambientes de terapia intensiva: uma revisão integrativa*, TCC (Graduação) - Curso de Enfermagem, Universidade de Brasília, Ceilândia, DF, 2015, 33 f.
7. R. Manfredi, A. Nanetti, M. Ferri, F. Chiodo, Clinical and microbiological survey of *Serratia marcescens* infection during HIV disease, *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, **19**(4), 248–253 (2000).
8. F. Tavares-Carreon, K.d. Anda-Mora, I.C. Rojas-Barrera, A. Andrade, *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review, *PeerJ*, **11**, e14399 (2023). <https://doi.org/10.7717/peerj.14399>
9. V.K. Phadke, J.T. Jacob, Marvelous but morbid: Infective endocarditis due to *Serratia marcescens*, *Infectious Diseases in Clinical Practice*, **24**(3), 143-150 (2016). <https://doi.org/10.1097/IPC.0000000000000360>
10. B. Suh, I.L.K. Bae, J. Kim, S.H. Jeong, D. Yong, K. Lee, Outbreak of meropenem-resistant *Serratia marcescens* cominated by chromosomal AmpC  $\beta$ -lactamase overproduction and outer membrane protein loss, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **54**(12), 5057–5061 (2010). <https://doi.org/10.1128/aac.00768-10>
11. G.S. Rezende, *Caracterização fenotípica e molecular da susceptibilidade antimicrobiana em Serratia marcescens isoladas de pacientes em um hospital terciário do estado de Tocantins*, Dissertação (Mestrado), Curso de Genética Evolutiva e Biologia Molecular, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2019, 69 f.
12. N.T. Joutey, W. Bahafid, H. Sayel, S. Ananou, N. El Ghachoui, Hexavalent chromium removal by a novel *Serratia proteamaculans* isolated from the bank of Sebou River (Morocco), *Environmental Science and Pollution Research*, **21**(4), 3060–3072 (2013). <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2249-x>

13. J. Dong, J. Ruan, N. Xu, Y. Yang, X. Ai, *In vitro* synergistic effects of fisetin and norfloxacin against aquatic isolates of *Serratia marcescens*, *FEMS Microbiology Letters*, **363**(1), fnv220 (2015). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv220>
14. A.F.G. Rave, A.V. Kuss, G.H.S. Peil, S.R. Ladeira, J.P.V. Villarreal, P.S. Nascente, Biochemical identification techniques and antibiotic susceptibility profile of lipolytic ambiental bacteria from effluents, *Brazilian Journal of Biology*, **79**(4), 555–565 (2019). <https://doi.org/10.1590/1519-6984.05616>
15. P.G. Preena, A. Dharmaratnam, N.S. Raj, S.A. Raja, R.R. Nair, T.R. Swaminathan, Antibiotic-resistant Enterobacteriaceae from diseased freshwater goldfish, *Archives of Microbiology*, **203**(1), 219–231 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02021-8>
16. B.R. Evans, F.A. Leighton, A history of One Health, *Revue Scientifique et Technique*, **33**(2), 413–420 (2014). <https://doi.org/10.20506/rst.33.2.2298>
17. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST), *Orientações do EUCAST/BRCast para a detecção de mecanismos de resistência e resistências específicas de importância clínica e/ou epidemiológica*, URL: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/07/Orientacoes-do-EUCAST-para-a-detectacao-de-mecanismos-de-resistencia-e-resistencias-especificas-de-importancia-clinica-e-ou-epidemiologica.pdf>, acessado Junho de 2022.
18. E.W. Koneman, G.W. Procop, G.L. Woods, W.M. Janda, D.L. Church, P.C. Schreckenberger, D.S. Hall, *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*, 6<sup>a</sup> ed., Guanabara-Koogan, São Paulo, 2008.
19. A.P. Magiorakos, A. Srinivasan, R.B. Carey, Y. Carmeli, M.E. Falagas, C.G. Giske, S. Harbarth, J.F. Hindler, G. Kahlmeter, B. Olsson-Liljequist, Multi-drug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance, *Clinical Microbiology and Infection*, **18**(3), 268–281 (2012). <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
20. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST), *Teste de sensibilidade aos antimicrobianos: Método de disco-difusão EUCAST*, versão 6, janeiro de 2017, URL: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/07/Manual-Disco-Difusao-BrCAST-21092018.pdf>.

21. N.Y. Elsayed, A.M.R. Awad, M.M. Omar, D.G. Desouki, Rapid simultaneous detection of ampC and ESBLs among enterobacteriaceae using mastd68c detection set and possible therapeutic options, *The Egyptian Journal of Medical Microbiology*, **24**(3), 1–12 (2015).
22. R.P. Pandey, A.F. Yousef, H. Alsafar, S.W. Hasan, Surveillance, distribution, and treatment methods of antimicrobial resistance in water: A review, *Science of the Total Environment*, **890**, 164360 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164360>
23. S. Riedel, N. Boire, K.A. Carson, A. Vadlamudi, J. Khuvis, V. Vadlamudi, V. Atukorale, V.A.A. Riedel, N. Parrish, A survey of antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae isolated from the Chesapeake Bay and adjacent upper tributaries, *Microbiologyopen*, **8**(9), e00839 (2019). <https://doi.org/10.1002/mbo3.839>
24. L.C. Corrales-Ramírez, L.C. Sánchez-Leal, M.E. Qimbayo-Salamanca, Microorganismos potencialmente fitopatógenos en aguas de riego proveniente de la cuenca media del río Bogotá, *Nova*, **16**(29), 71–89 (2018). <https://doi.org/10.22490/24629448.2691>
25. M.C. Paiva, M.P. Reis, P.S. Costa, M.F. Dias, L. Bleicher, L.L.S. Scholte, R.M.D. Nardi, A.M.A. Nascimento, Identification of new bacteria harboring qnrS and aac(6')-Ib/cr and mutations possibly involved in fluoroquinolone resistance in raw sewage and activated sludge samples from a full-scale WWTP, *Water Research*, **110**, 27–37 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.056>
26. M.L.S. Suhadolnik, P.S. Costa, M.C. Paiva, A.C.d.M. Salim, F.A.R. Barbosa, F.P. Lobo, A.M.A. Nascimento, Spatiotemporal dynamics of the resistome and virulome of riverine microbiomes disturbed by a mining mud tsunami, *Science of the Total Environment*, **806**, 150936 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150936>
27. D.C. Simião, F.P. Andrade, W.G. Lima, M.L. Jesus, P.H.G. Dorim, M.C. Paiva, Determination of mercury concentration by a new spectrophotometric method and evaluation of bacterial diversity in river water samples from Brazil, *Water Supply*, **22**(5), 5535–5548 (2022). <https://doi.org/10.2166/ws.2022.173>
28. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, CLSI supplement M100-S31, 31th ed., Wayne (PA), 2022.

29. T.B. Valiatti, F.O. Bessa-Neto, F.F. Santos, R.G.B. Silva, R. Veiga, D. Cassu-Corsi, T.C.F. Moura, A.R.F. Lobato, C.C. Pigntari, C.O. Souza, D.M. Brasiliense, R. Cauo, A.G. Gales, Clonal dissemination of highly virulent *Serratia marcescens* strains producing KPC-2 in food-producing animals, *One Health*, **17**, 100591 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100591>
30. World Health Organization (WHO), *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*, URL: <https://revive.gardp.org/wp-content/uploads/2023/01/WHO-global-PPL.pdf>, acessado em 29 mai 2023.
31. A.J. Overmeyer, E. Prentice, A. Brink, K. Lennard, C. Moodley, The genomic characterization of carbapenem-resistant *Serratia marcescens* at a tertiary hospital in South Africa, *JAC Antimicrobial Resistance*, **5**(4), dlad089 (2023). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad089>
32. Z. Liang, J. Shen, J. Liu, X. Sun, Y. Yang, Y. Lv, J. Zheng, X. Mou, H. Li, X. Ding, F. Yang, F. Prevalence and characterization of *Serratia marcescens* isolated from clinical bovine mastitis cases in Ningxia Hui autonomous region of China, *Infection and Drug Resistance*, **4**(16), 2727–2735 (2023). <https://doi.org/10.2147/IDR.S408632>
33. K.E. Silva, L. Rossato, S. Jorge, N.R. Oliveira, F.S. Kremer, V.F. Campos, L.S. Pinto, O.A. Dellagostin, S. Simionatto, Three challenging cases of infections by multidrug-resistant *Serratia marcescens* in patients admitted to intensive care units, *Brazilian Journal of Microbiology*, **52**(3), 1341–1345 (2021). <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00477-4>
34. D. Tomanić, B. Božin, N. Kladar, J. Stanojević, I. Čabarkapa, N. Stilinović, J. Apić, D.D. Božić, Z. Kovačević, Environmental bovine mastitis pathogens: Prevalence, antimicrobial susceptibility, and sensitivity to *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., and *Origanum vulgare* L. essential oils, *Antibiotics* (Basel), **11**(8), 1077 (2022). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081077>
35. G.F. Gad, H.A. Mohamed, H.M. Ashour, Aminoglycoside resistance rates, phenotypes, and mechanisms of Gram-negative bacteria from infected patients in Upper Egypt, *Plos One*, **6**(2), e17224 (2011). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017224>

36. G.M. Keating, Fosfomycin Trometamol: A review of its use as a single-dose oral treatment for patients with acute lower urinary tract infections and pregnant women with asymptomatic bacteriuria, *Drugs*, **73**(17), 1951–1966 (2013). <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0143-y>
37. S.G.P. Souza, I.C. Santos, M.A.D. Bondezan, L.F.M. Corsatto, I.C.S. Caetano, M.M. Zaniolo, R. Matta, L.S. Merlini, L.N. Barbosa, D.D. Gonçalves, Bacteria with a potential for multidrug resistance in hospital material, *Microbial Drug Resistance*, **27**(6), 835–842 (2021). <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0305>
38. L. Robles-Jimenez, E. Aranda-Aguirre, O.A. Castelan-Ortega, B.S. Schettino-Bermudez, R. Ortiz-Salinas, M. Miranda, X. Li, J. Angeles-Hernandez, E. Vargas-Bello-Pérez, M. Gonzalez-Ronquillo, Worldwide traceability of antibiotic residues from livestock in wastewater and soil: A systematic review, *Animals* (Basel), **12**(1), 60 (2021). <https://doi.org/10.3390/ani12010060>
39. S. Toba, Y. Minato, Y. Kondo, K. Hoshikawa, S. Minagawa, S. Komaki, T. Kumagai, Y. Matoba, D. Morita, W. Ogawa, N. Gotoh, T. Tsuchiya, T. Kuroda, Comprehensive analysis of resistance-nodulation-cell division superfamily (RND) efflux pumps from *Serratia marcescens*, Db10, *Scientific Reports*, **9**(1), 4854 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41237-7>
40. L. Sander-Miranda, P. Vinuesa, A. Cravioto, R. Morales-Espinosa, The genomic basis of intrinsic and acquired antibiotic resistance in the genus *Serratia*, *Frontiers in Microbiology*, **9**, 828 (2018). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00828>
41. S. Li, Z. Liu, C. Suring, L. Chen, S. Muller, P. Zeng, The impact of the antibiotic fosfomycin on wastewater communities measured by flow cytometry, *Frontiers in Microbiology*, **12**, 737831 (2022). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.737831>
42. O.L. Oharisi, S. Ncube, H. Nyoni, M.L. Madikizela, O.J. Olowoyo, B.R. Maseko, Occurrence and prevalence of antibiotics in wastewater treatment plants and effluent receiving rivers in South Africa using UHPLC-MS determination, *Journal of Environmental Management*, **345**, 118621 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118621>
43. J.G. Bartlett, Chloramphenicol, *Medical Clinics of North America*, **66**(1), 91–102 (1982). [https://doi.org/10.1016/s0025-7125\(16\)31444-4](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)31444-4)
44. L. Maragakis, E.N. Perencevich, S.E. Cosgrove, Clinical and economic burden of antimicrobial resistance, *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, **6**, 751–763 (2008). <https://doi.org/10.1586/14787210.6.5.751>

45. A. Iguchi, Y. Nagaya, E. Pradel, T. Ooka, Y. Ogura, K. Katsura, K. Kurokawa, K. Oshima, M. Hattori, J. Parkhill, M. Sebaihia, S.J. Couthurst, N. Gotoh, N.R. Thomson, J.J. Ewbank, T. Hayashi, Genome evolution and plasticity of *Serratia marcescens*, an important multidrug-resistant nosocomial pathogen, *Genome Biology and Evolution*, **6**(8), 2096–2110 (2014). <https://doi.org/10.1093/gbe/evu160>
46. C.I. Alvarez-Mendoza, A. Teodoro, L. Ramirez-Cando, Improving NDVI by removing cirrus clouds with optical remote sensing data from Landsat-8 – A case study in Quito, Ecuador, *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, **13**, 257-274 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.rsase.2018.11.008>
47. C.R. Costa, P. Olivi, C.M.R. Botta, E.L.G. Espindola, A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação, *Química Nova*, **31**(7), 1820-1830 (2008). <https://doi.org/10.1590/s0100-40422008000700038>
48. M.A. Pavez-Aguilar, *Análise molecular da expressão do fenótipo multidroga resistente (MDR) em Enterobactérias isoladas de amostras clínicas após exposição in vitro ao imipenem*, Tese de Doutorado em Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
49. R. Bonnet, J.L.M. Sampaio, C. Chanal, D. Sirot, C. De Champs, J.L. Viallard, R. Labia, J. Sirot, A novel Class A Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase (BES-1) in *Serratia marcescens* isolated in Brazil, *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **44**(11), 3061-3068 (20009). <https://doi.org/10.1128/aac.44.11.3061-3068.2000>
50. S.Y. Lu, Y.L. Zhang, S.N. Gen, T.Y. Li, Z.M. Ye, D.S. Zhang, F. Zou, H.W. Zhou, High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat, *Applied and Environmental Microbiology*, **76**, 5972–5976 (2010). <https://doi.org/10.1128/AEM.00711-10>
51. B. Rybac, N. Wawrzyniak, L. Wolska, M. Potrykus, *Escherichia coli* and *Serratia fonticola* ESBLs as a potential source of antibiotics resistance dissemination in the Tricity water reservoirs, *Acta Biochimica Polonica*, **68**(3), 437–448 (2021). [https://doi.org/10.18388/abp.2020\\_5740](https://doi.org/10.18388/abp.2020_5740)
52. T.P.G. Chagas, L.M. Seki, J.C. Cury, J.A.L. Oliveira, A.M.R. Dávila, D.M. Silva, M.D. Asensi, Multiresistance, beta-lactamase-encoding genes and bacterial diversity in hospital wastewater in Rio de Janeiro, Brazil, *Journal of Applied Microbiology*, **111**(3), 572–581 (2011). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05072.x>

53. M.A. Ramadan, A.F. Tawfik, A.M. Shibli, Effect of beta-lactamase expression on susceptibility of local isolates of *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa* to beta-lactam antibiotics, *Chemotherapy*, **41**(3), 193–199 (1995). <https://doi.org/10.1159/000239343>
54. K. Bush, G.A. Jacoby, Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **54**(3), 969–976 (2010). <https://doi.org/10.1128/aac.01009-09>
55. G.A. March-Rosselló, Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, **35**(3), 182–188 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.12.005>

## COMO CITAR ESTE ARTIGO

H. Silva-Inácio, K.M. Silva-Herrera, W.G. Lima, A.P. de Castro, L.F. Reis-Paiva, M.C. de Paiva, Identificação e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de *Serratia marcescens* recuperadas de um rio urbano, *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **52**(3), 1163-1182 (2023). <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n3.110420>