

# CAPÍTULO 6

## CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DE ENTEROBACTERIAES MULTIRESISTENTES A ANTIMICROBIANOS DE NEONATOS DE UM HOSPITAL NA ZONA NOROESTE DO PARANÁ

---

Data de submissão: 16/03/2025

Data de aceite: 01/04/2025

### **Luana Vilella de Freitas**

Universidade Estadual de Londrina,  
Departamento de Patologia, Análises  
Clínicas e Toxicológicas  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/9110745052988645>

### **Stefani Lino Cardim**

Universidade Estadual de Londrina,  
Departamento de Patologia, Análises  
Clínicas e Toxicológicas  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/6650418160269686>

### **Jaqueleine Dario Capobiango**

Universidade Estadual de Londrina,  
Departamento de Patologia, Análises  
Clínicas e Toxicológicas  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/4086610920656645>

### **Alanis Cassamassimo Cardoso**

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

### **Thaliny Leal Specian Sestak**

Hospital Associação Beneficente de  
Saúde do Noroeste do Paraná  
Umuarama – Paraná  
ORCID: 0000-0003-3601-6218

### **Maria Júlia Moreira Onça**

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

### **Mariana Eches Urbaneja Gasparotti**

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

### **Edvaldo Rodrigues de Oliveira Júnior**

Universidade Estadual de Londrina,  
Departamento de Patologia, Análises  
Clínicas e Toxicológicas  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/3987522576002635>

### **Deisy Mara Lima de Oliveira Aurora**

Universidade Estadual de Londrina,  
Departamento de Patologia, Análises  
Clínicas e Toxicológicas  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/3240041258472208>

### **Julia da Silva Pimenta**

Universidade Estadual de Londrina,  
Departamento de Patologia, Análises  
Clínicas e Toxicológicas  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/5616106639748174>

**Eliana Carolina Vespero**

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

**Márcia Regina Eches Perugini**

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e  
Toxicológicas  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/0396629445823469>

**RESUMO:** Em 2017, a Organização Mundial da Saúde agrupou uma série de patógenos como prioritários para o desenvolvimento de novos antimicrobianos. Dentre eles estão as enterobacterales, resistentes a betalactâmicos. Considerando que neonatos são mais vulneráveis às infecções, por não possuírem sistema imune maduro e frequentemente fazerem uso de uma série de antimicrobianos, este estudo tem como objetivo caracterizar fenotípicamente e genotípicamente Enterobacterales obtidos de culturas de *swab* de vigilância de um hospital da região noroeste do Paraná. As amostras foram identificadas por metodologia manual, a resistência foi visualizada por meio da técnica de disco difusão, sendo que foi verificada a produção de enzimas de betalactamase espectro estendido (ESBL) por meio da técnica de discos de aproximação e pela reação em cadeia da polimerase (PCR) para aquelas amostras ESBL positivo ou resistentes a carbapenêmicos (CR). Foram investigados os genes de β-lactamase, *bla*<sub>CTX-M1</sub>, *bla*<sub>CTX-M15</sub>, *bla*<sub>CTX-M2</sub>, *bla*<sub>CTX-M8</sub>, *bla*<sub>CTX-M9</sub> e *bla*<sub>CTX-M25</sub> e para genes de carbapenemases, *bla*<sub>KPC</sub> e *bla*<sub>NDM</sub>. Como resultado foram obtidos que 43,2% dos isolados foram positivos para *Klebsiella pneumoniae*, 24,6% para *Escherichia coli*, 15,3% para *Serratia marcescens* e 11,9% para *Enterobacter* spp. Destes, *K. pneumoniae* apresentou as maiores taxas de resistência sendo 18% ESBL positivo e 40% das suas amostras CR e, o segundo a apresentar maiores taxas foi *S. marcescens* apresentou 66,66% dos seus isolados positivos para ESBL, ao investigar os genes presentes em ambos, verificou-se predominância em *K. pneumoniae* sendo que 93% apresentaram o gene do grupo 1 *bla*<sub>CTX-M1</sub>, destes 90% também carreavam o *bla*<sub>CTX-M15</sub>, o qual está presente como subgrupo do grupo 1. Em relação à *S. marcescens*, 22,2% apresentaram o gene *bla*<sub>CTX-M8</sub>. Resistência a carbapenêmicos foi detectada apenas em *K. pneumoniae*, sendo que 90% apresentaram o gene *bla*<sub>KPC</sub>, e nenhuma o gene *bla*<sub>NDM</sub>. Em conclusão verificou-se uma alta prevalência de *K. pneumoniae* CR portadoras de *bla*<sub>KPC</sub>. Entre as bactérias produtoras de ESBL, o gene *bla*<sub>CTX-M1</sub> foi o mais frequente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Neonatos, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, Enterobacterales, Carbapenêmicos, Betalactamase de espectro ampliado.

# PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF MULTIDRUG-RESISTANT *ENTEROBACTERALES* OF NEONATES FROM A HOSPITAL IN THE NORTHWEST AREA OF PARANÁ

**ABSTRACT:** In 2017, the World Health Organization grouped a series of pathogens as priorities for the development of new antimicrobials. Among them are enterobacterales, resistant to beta-lactams. Considering that newborns are more vulnerable to infections, as they do not have a mature immune system and frequently use a series of antimicrobials, this study aims to phenotypically and genotypically characterize Enterobacterales obtained from surveillance swab cultures from a hospital in the northwest region of Paraná. The samples were identified using manual methodology, resistance was visualized using the disk diffusion technique, and the production of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) enzymes was verified using the approximation disk technique and polymerase chain reaction. (PCR) for those ESBL positive or carbapenem resistant (CR) samples. The  $\beta$ -lactamase genes, blaCTX-M1, blaCTX-M15, blaCTX-M2, blaCTX-M8, blaCTX-M9 and bla CTX-M25, and the carbapenemases genes, blaKPC and blaNDM, were investigated. As a result, 43.2% of the isolates were positive for *Klebsiella pneumoniae*, 24.6% for *Escherichia coli*, 15.3% for *Serratia marcescens* and 11.9% for *Enterobacter spp.* Of these, *K. pneumoniae* presented the highest resistance rates, with 18% being ESBL positive and 40% of its samples CR, and the second to present the highest rates was *S. marcescens*, presenting 66.66% of its isolates positive for ESBL, when investigating the genes present in both, there was a predominance in *K. pneumoniae*, with 93% presenting the blaCTX-M1 group 1 gene, of which 90% also carried blaCTX-M15, which is present as a subgroup of group 1. In relation to *S. marcescens*, 22.2% presented the blaCTX-M8 gene. Resistance to carbapenems was detected only in *K. pneumoniae*, with 90% having the blaKPC gene, and none the blaNDM gene. In conclusion, there was a high prevalence of *K. pneumoniae* CR carrying blaKPC. Among ESBL-producing bacteria, the blaCTX-M1 gene was the most common.

**KEYWORDS:** Newborns, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacterales*, Carbapenem, extended spectrum beta-lactamase.

## INTRODUÇÃO

A disseminação global de patógenos com resistência tornou-se uma preocupação urgente na atualidade. Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) apontou seis patógenos como prioritários para o desenvolvimento de antimicrobianos, são eles o *Enterococcus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumanii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* (Babu Rajendran et al., 2019; Fao et al., 2017; Tacconelli et al., 2018). Além disso, em 2019 o Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos da América (CDC) considerou bacilos Gram-negativos produtores de betalactamases de espectro estendido (ESBL) e de carbapenemases como ameaças sérias.

A produção das enzimas do tipo ESBL, levam a resistência a cefalosporinas de 1<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> geração e aos monobactâmicos, não são induzíveis, mediadas por genes presentes nos plasmídeos e hidrolisam a cadeia oxamino-beta-lactâmica presente na estrutura química dos antibióticos (Cordova; Blatt; Dalmarco, 2006), os genes frequentemente encontrados são o bla<sub>CTX M</sub>, bla<sub>TEM</sub> e bla<sub>SHV</sub> cada um possui subtipos, e podem estar presentes concomitantemente no microrganismo.

Após o aparecimento dos patógenos produtores de ESBL, em especial nas enterobactérias (Picoli; Martins, 2011; Brolund, 2014), houve o aumento do tratamento com antimicrobianos alternativos, sua larga administração causou a estes microrganismos uma menor susceptibilidade, levando ao uso de carbapênemicos, acarretando o surgimento das enzimas com espectro mais amplo que a ESBL, as carbapenemases, estas são divididas em quatro classes: A, B, C e D. Sendo que as classes A e D possuem a serina como seu sítio alvo, já a classe B possui o zinco em seu sítio ativo.

Os genes mais prevalentes da classe A são: bla<sub>KPC</sub> e o bla<sub>GES</sub> (Nordmann et al., 2009; Arend, 2014), proporcionam resistência a todas cefalosporinas, monobactâmicos e carbapênemicos; os carreadores da classe B, são chamados de metalo β-lactamases, diferentes da classe A, não são resistentes a monobactâmicos (Ambler, 1980; Bush; et al., 2010; Martínez-Martínez, et al., 2014), os genes mais encontrados nesta classe são bla<sub>IMP</sub>, bla<sub>VIM</sub> e bla<sub>NDM</sub> (Tzouvelekis et al., 2012; ANVISA, 2013<sup>a</sup>); na classe C, temos os patógenos que produzem ampC, um gene cromossomal que confere resistência a cefalosporinas (com exceção da 4<sup>a</sup> geração) e a monobactâmicos, este gene está presente em patógenos específicos (*Morganella sp*, *Serratia sp*, *Providencia sp*, *Aeromonas sp*, *Citrobacter sp*, *Enterobacter sp.*); a classe D, também é chamada de oxacilinases, hidrolisam oxacilina e carbapênemicos, sendo seu gene mais comum o OXA-48 (Queenan, 2007; Nordmann; et al., 2011; Arend, 2014).

As enterobactérias, em especial grupo *Enterobacteriales*, representam uma das principais causas de infecções graves em unidades neonatais (Arhoude et al., 2017; Ding et al., 2019; Nordbeg et al., 2018). *Enterobacteriales* produtoras de ESBL ocorrem no mundo todo, tanto em hospitais quanto na comunidade, e têm sido apontadas por diversos autores em infecções de pacientes pediátricos (Bulabula et al., 2020; Sands et al., 2021; Talaga-Ćwiertnia, et al., 2017).

As infecções invasivas, onde são encontradas bactérias em fluídios corporais estéreis, quando causadas por bacilos Gram-negativos produtores de ESBL, desafiam a possibilidade de tratamento para infecções neonatais, estão associadas a maior mortalidade e a maiores custos de saúde (Clock et al., 2017; Danino et al., 2018; Nordberg, et al., 2013).

A colonização pode contribuir para a infecção clínica, se caracteriza por possuir bactérias em um determinado local do organismo, entretanto não provocando respostaativa do hospedeiro a sua presença. Pacientes colonizados atuam como reservatórios para estes patógenos (Bulabula et al., 2020; Sands et al., 2021). Os neonatos são particularmente

vulneráveis devido a internação prolongada, o uso extensivo de antimicrobianos e a utilização de procedimentos invasivos, os quais associados à imaturidade do sistema imunológico, constituem fatores de risco para aquisição de microrganismos multirresistentes (Clock et al., 2017).

O conhecimento da colonização de neonatos internados pode fornecer subsídios para intervenções eficazes de controle de infecção a fim de reduzir doenças infecciosas, entretanto há poucos estudos sobre subtipos de genes causadores de ESBL na região sul do Brasil. Dessa forma, esse estudo teve por objetivo caracterizar fenotípicamente e genotípicamente amostras de *swab* de culturas de vigilância de neonatos para o grupo *Enterobacteriales*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo no qual foram analisadas amostras de vigilância de recém-nascidos, sendo excluídos deste trabalho os natimortos e recém-nascidos que evoluíram a óbito em menos de 24 horas de vida.

Os *swabs* foram colhidos de dois diferentes sítios, nasal e retal, foram incluídos no estudo as amostras positivas para o grupo *Enterobacteriales*, totalizando 118 amostras, isoladas de culturas de neonatos internados no Hospital Associação Beneficente de Saúde do Noroeste do Paraná, no período de outubro de 2020 a maio de 2021. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Estadual de Londrina sob o CAAE número 58344722.4.3001.0109.

As amostras passaram por identificação previamente no hospital de origem pelo Sistema Automatizado MicroScan-autoSCAN4® (Beckman Coulter), quando finalizadas foram encaminhadas ao setor de microbiologia do Laboratório de Habilidades Farmacêuticas/UEL, em meio de transporte Stuart. Ao chegar, realizou-se sua reativação em caldo de soja e tripticaseina (TSB) e após incubação *overnight*, foram inoculadas nos ágaros MacConkey e Cromogênio e incubadas de 24 a 48 horas, a 36°C. A confirmação da identificação quanto ao gênero e espécie das colônias que se desenvolveram se deu por metodologia manual.

A sensibilidade a antimicrobianos foi determinada utilizando a técnica Kirby-Bauer, a qual consiste na preparação de uma suspensão com 0,9% de salina possuindo 0,5% de turbidez na escala de McFarland, inoculadas em ágar Mueller Hinton, onde são inseridos os discos difusão contendo antimicrobianos, foram utilizados neste projeto: Ceftazidima (CAZ), Cefoxitina (FOX), Amoxicilina com Ácido Clavulânico (AMC), Ceftriaxona (CRO), Cefepime (FEP), Imipenem (IMP), Ertapenem (ETP), Meropenem (MEM), Aztreonam (ATM), Ciprofloxacino (CIP), Sulfametaxol- Trimetoprim (SXT), Gentamicina (CN), Amicacina (AK). A interpretação de resultados seguiu o Comitê Brasileiro de Susceptibilidade a Antimicrobianos (BrCAST).

Foi utilizado o teste de triagem para resistência de Colistina e Polimixina, seguindo a padronização de Vespero e colaboradores em 2021, onde foi encontrado que a concentração de 4,0 $\mu$ g/mL de Colistina e Polimixina, produzem resultados similares ao sistema automatizado VITEK® 2.

Para avaliação da produção de ESBL foi aplicado o método de aproximação de discos, utilizando: amoxicilina com ácido-clavulânico, cefotaxima, ceftazidima, aztreonam e cefepime, sendo considerada positivo quando apresentou a distorção do halo de inibição de pelo menos um destes antimicrobianos. A resistência aos carbapenêmicos foi determinada por disco difusão (BrCAST, 2023).

Após a confirmação de gênero, espécie e avaliação fenotípica da resistência aos antimicrobianos, as amostras identificadas como ESBL ou CR foram submetidas à extração por fervura para a Reação de Cadeia de Polimerase (WOODFORD, et al., 2005). Foram investigados os genes de ESBL do tipo  $bla_{CTX\ M}$ , grupos 1, 2, 8, 9 e 25, os quais são considerados subtipos mais comuns ou significativos (Rivoarilala, O, et al., 2018).

Para os genes  $bla_{CTX\ M1}$ ,  $bla_{CTX\ M2}$ ,  $bla_{CTX\ M8}$ ,  $bla_{CTX\ M9}$ ,  $bla_{CTX\ M25}$ , a PCR se deu pela desnaturação inicial em 94°C por 5 minutos, 30 ciclos em 94°C por 25 segundos, o anelamento foi realizado em 52°C por 40 segundos e 72°C por 50s, finalizando com a extensão em 72°C por 6 minutos, foi realizado este processo para cada par de primer (Tabela 1). Para o gene  $bla_{CTX\ M15}$  foi utilizado o protocolo de desnaturação inicial 5 minutos à 94°C, amplificação 30 ciclos com desnaturação 30 segundos 94°C, anelamento 30 segundos 55°C, extensão 10 minutos por 72°C.

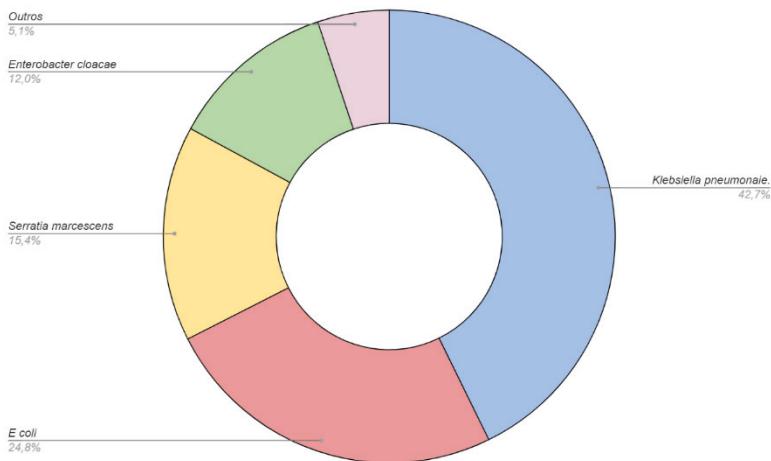
Gene	Seqüência	Tipo
$bla_{CTX\ M1}$	5'-AAA AAT CAC TGC GCC AGT TC	Forward
	5' AGC TTA TTC ATC GCC ACG TT	Reverse
$bla_{CTX\ M2}$	5'-CGA CGC TAC CCC TGC TAT T	Forward
	5'CCA GCG TCA GAT TTT TCA GG	Reverse
$bla_{CTX\ M8}$	5'-TGC CGT TAA GCG GAT GAT GC	Forward
	5'- AAC CCA CGA TGT GGG TAG C	Reverse
$bla_{CTX\ M9}$	5'-CAA AGA GAG TGC AAC GGA TG	Forward
	5'-ATT GGA AAG CGT TCA TCA CC	Reverse
$bla_{CTX\ M15}$	5' CGG GAT CA TGA ATA ACG CTG C	Forward
	5' GGA TCC CGA CAT TGC CCA AGA T	Reverse
$bla_{CTX\ M25}$	5'- GCA CGA TGA CAT TCG GG	Forward
	5'- AAC CCA CGA TGT GGG TAG C	Reverse
$bla_{KPC}$	5' ATG TCA TTA GCA CTG TTG TC	Forward
	5' TTA GGC GCG TAG TGA TGT TA	Reverse
$bla_{NDM}$	5' ATG GAA TGA GCA CTG TTA	Forward
	5' TTA CAT CGC TGG TTT GGC ATC	Reverse

**Tabela 1:** Seqüência de primers utilizados para determinar presenças dos genes produtores de ESBL e carbapenemases.

Fonte: Autoria própria, Londrina-PR 2023

## RESULTADOS

Das 118 Enterobacteriales analisadas, foram identificadas 50, *Klebsiella pneumoniae* (42,7%); 29, *Escherichia coli* (24,8%); 18, *Serratia marcescens* (15,4%); 13, *Enterobacter cloacae* (12%) e 4 do gênero *Citrobacter* (3,38 %), sendo três destes *C. freundii*, e um *C. koseri*. Também foram encontradas duas espécies de *Pantoeae agglomerans*, uma de *Kluyvera intermedium* e uma *Klebsiella aerogenes* (Gráfico 1).



**Gráfico 1:** Percentual de patógenos identificados nas amostras de swab de vigilância no período de outubro de 2020 a maio de 2021 do Hospital Associação Beneficente do Noroeste do Paraná.

Fonte: Autoria própria, Londrina-PR 2023

O gênero *K. pneumoniae* apresentou-se resistência a diferentes antimicrobianos (tabela 2): cefalosporinas de 3<sup>a</sup> geração, 32 amostras resistentes (9 ESBL, 3 sensíveis e 20 CR); cefalosporina de 4<sup>a</sup> geração, 28 (19 CR, 9 ESBL); Carbapênemicos, 20 amostras; Monobactâmicos, 13 (23 não testadas); Sulfametaxol com trimetropim o qual é uma sulfonamida com um antagonista do ácido fólico, 30 (18 CR, 7 ESBL e 5 sensíveis); aminoglicosídeos, 29 (8 ESBL, 3 sensíveis e 18 CR).

	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n 50)		<i>Escherichia coli</i> (n 29)		<i>Serratia marcescens</i> (n 18)		<i>Enterobacter cloacae</i> . (n 13)	
	R	%	R	%	R	%	R	%
Cefalosporinas								
3ª Geração	32	64	1	3,4	12	66,6	6	46,1
4ª Geração	28	56	1	3,4	11	61,1	3	23
Carbapenêmicos	20	40	0	0	0	0	0	0
Monobactâmicos	13	26	2	6,9	2	11,1	5	38,46
Sulfa-trimetoprim	30	60	14	48,2	1	5,5	2	15,4
Aminoglicosídeos	29	58	7	24,1	9	50	3	23

**Tabela 2:** Resultado por classe antimicrobiana dos antibiogramas realizados para os quatro patógenos mais encontrados em um Hospital do Noroeste do Paraná, no período de outubro de 2020 a maio de 2021.

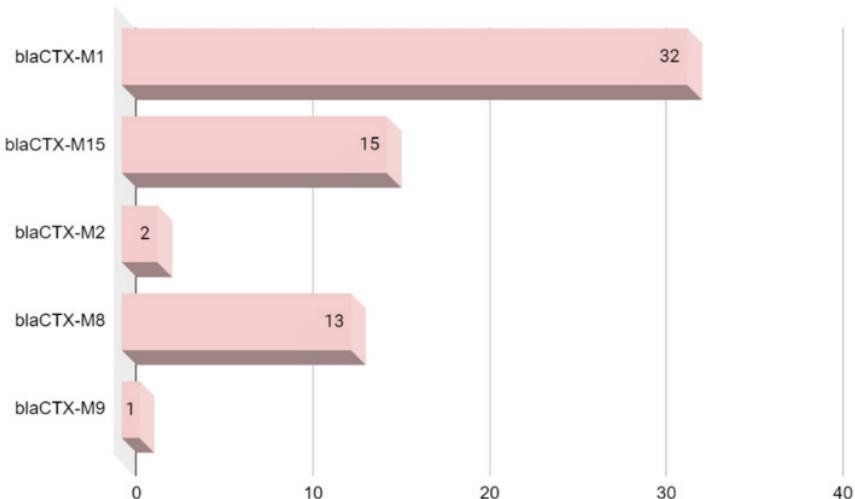
Fonte: Autoria própria, Londrina-PR 2023

Foram encontrados no gênero *Klebsiella*, 20 amostras resistentes a Carbapenêmicos (40%) e 9 ESBL positivo (18%), apenas 1 amostra de *E. coli* apresentou ESBL positivo (3,4%) e 12 amostras de *S. marcescens* (66,6%), já as amostras do gênero *Enterobacter* três apresentaram (21,4%). Em relação às outras espécies observadas em menores quantidades, apenas 2 positivaram para ESBL, ambas do gênero *Citrobacter*. Totalizando assim 22,9% das amostras ESBL positivo e 16,9% dos isolados resistentes aos carbapenêmicos.

Foi realizada a PCR para 47 Enterobacterales que apresentaram teste de ESBL positivo ou resistência a carbapenêmicos. Destas, trinta e duas foram positivas para o gene *bla*<sub>CTX-M1</sub> (68,08%), sendo quinze para o subtipo do grupo 1 *bla*<sub>CTX-M15</sub> (31,91%); duas para *bla*<sub>CTX-M2</sub> (7,4%); treze para *bla*<sub>CTX-M8</sub> (27,65%), uma para *bla*<sub>CTX-M9</sub> (2,12%). Não foram identificados isolados portadores do gene *bla*<sub>CTX-M25</sub> (Gráfico 2 e Tabela 3).

Avaliando as 29 amostras do gênero *Klebsiella*, verificou-se que vinte e sete apresentavam o gene *bla*<sub>CTX-M1</sub> (93,1%), destes quinze para o *bla*<sub>CTX-M15</sub> (51,72%); duas, *bla*<sub>CTX-M2</sub> (6,89%); cinco, *bla*<sub>CTX-M8</sub> (17,24%). A única amostra de *E. coli* que apresentou resistência, demonstrou possuir genes *bla*<sub>CTX-M1</sub>, *bla*<sub>CTX-M8</sub> e *bla*<sub>CTX-M9</sub>.

Foram encontradas apenas quatro amostras positivas para os grupos do gene *bla*<sub>CTX-M</sub>, nas amostras de *S. marcescens* sendo todas para o grupo 8. Em relação ao *E. cloacae*, os três apresentaram possuir genes do grupo 1, e apenas um destes não possuía o grupo 8. O único isolado do gênero *Citrobacter* apresentou possuir genes do tipo *bla*<sub>CTX-M15</sub>, o qual pertence ao grupo 1 (Tabela 3).



**Gráfico 2:** Frequência dos grupos do gene  $bla_{CTX-M}$  entre 47 Enterobacteriales ESBL ou CR no período de outubro de 2020 a maio de 2021 do Hospital Associação Beneficente do Noroeste do Paraná.

Fonte: Autoria própria, Londrina-PR 2023

	n	$bla_{CTX-M1}$ (%)	$bla_{CTX-M15}$ (%)	$bla_{CTX-M2}$ (%)	$bla_{CTX-M8}$ (%)	$bla_{CTX-M9}$ (%)	$bla_{CTX-M25}$ (%)
<i>K. pneumoniae</i>	29	93,1	51,72	6,89	17,24	0	0
<i>S. marcescens</i>	12	0	0	0	33,33	0	0
<i>E. cloacae</i>	3	100	0	0	66,66	0	0
<i>Citrobacter sp.</i>	2	50	0	0	50	0	0
<i>E. coli</i>	1	100	0	0	100	100	0

**Tabela 3:** Percentual de frequência do gene  $bla_{CTX-M}$  por diferentes gêneros do grupo Enterobacteriales ESBL ou CR no período de outubro de 2020 a maio de 2021 do Hospital Associação Beneficente do Noroeste do Paraná.

Fonte: Autoria própria, Londrina-PR 2023

## DISCUSSÃO

No hospital em estudo foi observado uma prevalência maior de bactérias da espécie *K. pneumoniae* (43,2%), estas pertencem ao grupo *Enterobacteriales*, que podem estar presente no trato respiratório superior e intestinos do corpo humano, é um importante patógeno colonizador no ambiente hospitalar, sendo frequentemente associadas a infecção, as quais podem levar a uma maior taxa de mortalidade (Tischendorf, et al. 2017).

O estudo realizado por Juliane Seidel e colaboradores em 2018, que realizou uma revisão da colonização por Gram-negativos em neonatos em diversos países (Europa, América do Norte e Ásia) demonstrou resultados semelhantes com a *Klebsiella* sendo o gênero mais presente, em um estudo realizado no hospital pediátrico do norte do Vietnã onde que 74% dos seus pacientes que apresentaram colonização, foram por *K. pneumoniae* (Berglunde, et al, 2021).

Já na Etiópia em 2012, obteve que 63,1% de seus neonatos colonizados pela mesma, no Brasil os resultados se demonstraram compatíveis, o estudo transversal realizado no Rio de Janeiro, observou casos de 2014 a 2017, obtiveram a *Klebsiella*, como a mais prevalente nas colonizações dos neonatos internados (Oliveira, et al. 2019).

O segundo patógeno mais presente no estudo foi *E. coli*, com 24,6% das culturas positivas, dado o qual é semelhante ao estudo de revisão que considerou países da Europa, América do Norte e Ásia (Seidel, et al., 2018), ao compararmos com o Brasil, um estudo realizado no Rio de Janeiro obteve resultados semelhantes, com a *K. pneumoniae* e a *E.coli* predominando na colonização em recém-nascidos hospitalizados (Oliveira, et al. 2019).

Em relação ao terceiro patógeno mais presente a *S. marcescens*, a qual é um dos principais patógenos causadores de infecções em neonatos (Montagnani et al., 2015) foi encontrada em 15,3%, resultado o qual compactua com resultados observados no ano 2000 na Europa (Raymond; Aujard, 2000), e com o estudo realizado em Goiás por Angélica Oliveira Paula e colaboradores em 2016, o qual obteve-se semelhança com o estudo de revisão de IRAS dos anos 2000 a 2015, tendo *S. marcescens* como um dos principais bacilos Gram-negativos presentes nestas infecções.

Ao contrário do que apresentado em diversos estudos no Brasil que evidenciam surtos causados por tal patógeno (Oliveira; Prado, 2016; Von, 2020), ele não foi o principal colonizador no hospital observado, entretanto estes estudos demonstram a importância de controle e epidemiologia.

As frequências dos microrganismos no estudo realizado em 2015 na Irlanda, o qual revisou 75 estudos de colonização e infecção em neonatos em diferentes regiões do mundo obtiveram resultados semelhantes, sendo que apresentou maiores números de *Klebsiella*, *Enterobacter* spp, e *E. coli*, tendo também encontrado *S. marcescens* entretanto em menores números (Stapleton, et al., 2015).

Ao relacionarmos a resistência demonstrada com os microrganismos mais encontrados vemos que a *K. pneumoniae* e a *S. marcescens* apresentaram as maiores taxas resistência. O estudo por Luo e colaboradores em 2020 o qual avaliou as infecções nosocomiais do ano de janeiro de 2013 a dezembro de 2018 no *West China Second Hospital of Sichuan University* demonstrou que das amostras positivas para *K. pneumoniae* em média 27,5% possuíam ESBL e apenas 15% apresentaram resistência a carbapenêmicos, entretanto eles observaram que ao passar dos anos as proporções se alteram, tendo uma ascendência nas amostras CR e uma diminuição do ESBL.

Outro estudo de revisão, em específico da América Latina, realizado pelo Departamento de Pediatria e Cuidado Infantil da Santa Casa de São Paulo Escola de Medicina, no Brasil e do Hospital Pediátrico Centro Médico Nacional Siglo XXI do México, demonstrou resultados semelhantes, tendo noticiados aumento de surtos por *K. pneumoniae* produtoras de ESBL, entretanto nos últimos anos (2008-2010) investigados foram evidenciados 2 surtos de *K. pneumoniae* CR demonstrando o aumento dos patógenos CR, o estudo também demonstrou que há endemicidade de infecções por Gram-negativos multirresistentes nas unidades de terapia neonatal latino-americanas (Berezin, & Solórzano, 2014).

*S. marcescens* apresentou 66,6% de suas amostras produtoras de ESBL, estudo realizado por Mostatabi et al. (2013) obteve que 48,5% de *S. marcescens* presentes em seus neonatos possuem fenótipos de ESBL, este patógeno com esta forma de resistência é frequentemente associado a diversos surtos relatados pelo mundo da (Ivanova et al., 2008; Martineau, et al., 2018; Ojan Assadian et al., 2002), incluindo no Brasil, demonstrando como no estudo altas taxas de produção de ESBL (Valeria et al., 2011; Von, 2020).

Observando os resultados genotípicos dos isolados multirresistentes presentes, foram identificados que a *K. pneumoniae* apresentou de seus 29 isolados, vinte sete portadores do gene *bla*<sub>CTX-M<sub>1</sub></sub> (93%) e destes quinze apresentaram também o gene *bla*<sub>CTX-M<sub>15</sub></sub>, o qual faz parte do grupo 1 de genes produtores de ESBL, assim como o estudo realizado no Irã, o qual identificou 60% de suas amostras de *K. pneumoniae* positivas para *bla*<sub>CTX-M<sub>1</sub></sub>, número semelhante no Tocantins, Brasil que demonstrou altas taxas de *K. pneumoniae* portadoras deste gene, 72% (Ferreira et al., 2019).

A literatura demonstra em diversos estudos tais patógenos carreados com estes genes possuem um alto impacto para os neonatos, causando por diversas vezes surtos, como o ocorrido na Tanzânia em 2010 (Mshana et al., 2013), e em Nova Delhi na Índia em 2008 (Gaind, 2013), no Brasil foi observado no Hospital de São José do Rio Preto, em São Paulo de 2011 a 2014, 73,7% de *K. pneumoniae* carreavam *bla*<sub>CTX-M<sub>15</sub></sub>, sendo que 21% carreavam o *bla*<sub>CTX-M<sub>2</sub></sub> (Tolentino, et al., 2019), contrário do apresentado no Hospital observado o qual apresentou 6,89%, com seu segundo maior gene frequente sendo o *bla*<sub>CTX-M<sub>8</sub></sub> (17,24%), sendo que o grupo *bla*<sub>CTX-M<sub>2</sub></sub> e *bla*<sub>CTX-M<sub>8</sub></sub> estão entre as mais presentes nos países Sul americanos (Canton, Coque 2006; Villegas, et al., 2008), *S. marcescens*, mesmo sendo um dos isolados multirresistentes mais presentes, sendo identificado 12 de suas 18 amostras positivas para produção de ESBL, apenas 4 amostras mostraram positividade para genes do tipo *bla*<sub>CTX-M</sub>, ambas positivas para o gene *bla*<sub>CTX-M<sub>8</sub></sub>, não foi encontrado artigos de colonização neonatal por *S. marcescens* com o gene em questão.

A resistência a carbapenêmicos é uma das maiores preocupações para a saúde pública, nesse estudo foi observado 20 das 50 amostras do gênero *Klebsiella* (40%) eram resistentes a essa classe de antimicrobianos, destas nenhuma positivou para o gene *bla*<sub>NDM</sub>, entretanto 18 positivaram para *bla*<sub>KPC</sub> (90%), o qual compactua com os resultados apresentados em diversos estudos que demonstram a prevalência deste gene de resistência entre os patógenos desse gênero. Um estudo realizado no Tocatins por Ferreira et al. (2019) demonstrou que 100% positivas, outro estudo realizado no Egito demonstrou resultados parecidos com 95,8% (Hassuna et al., 2020), bem como estudos na China e Sérvia também demonstraram a predominância do gene *bla*<sub>KPC</sub> nas amostras de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenêmicos (Zhou et al., 2020; Mijac et al., 2023).

## CONCLUSÃO

Neste estudo foi observada uma alta prevalência de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. marcescens* e *Enterobacter sp.* respectivamente. *K. pneumoniae* e *S. marcescens* tiveram maiores taxas de multirresistência, sendo no caso de *K. pneumoniae* prevalente os genes do tipo *bla*<sub>CTX-M1</sub>, com subtipo *bla*<sub>CTX-M15</sub> e o gene *bla*<sub>KPC</sub>. *S. marcescens* apresentou poucos isolados positivos, os quais apresentaram apenas o gene *bla*<sub>CTX-M8</sub>, não havendo *S. marcescens* resistente a carbapênemicos.

## REFERÊNCIAS

1. AKTURK, H. et al. Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae colonization in pediatric and neonatal intensive care units: Risk factors for progression to infection. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, n. 2, p. 134–140, 1 mar. 2016.
2. AMBLER, R. P. The Structure of Beta-Lactamases. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321-331, 1980
3. ANGÉLICA OLIVEIRA PAULA; KARINA, A.; PRADO, A. Infecções relacionadas à assistência em saúde em unidades de terapia intensiva neonatal: uma revisão integrativa. **Enfermería global**, v. 16, n. 1, p. 508–508, 28 dez. 2016.
4. ANVISA. **Nota Técnica Nº 01/2013 - Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2013a.
5. AREND, L. N. V. S. Caracterização molecular, fenotípica e epidemiológica de micro-organismos produtores de carbapenemase KPC isolados no Estado do Paraná. 2014. 68 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Interna), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
6. BEREZIN, EN, & SOLÓRZANO, F. (2014). Infecções por Gram-negativos em unidades de terapia intensiva pediátrica e neonatal da América Latina. **O Jornal de Infecção em Países em Desenvolvimento**, 8 (08). doi:10.3855/jidc.4590 10.3855/jidc.4590
7. BERGLUND, B. et al. Clonal spread of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae among patients at admission and discharge at a Vietnamese neonatal intensive care unit. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 10, n. 1, 20 nov. 2021.
8. BROLUND, Alma. Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. **J Infect Ecol Epidemiol**, 2014.
9. BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of β-lactamases. **Antimicrobial Agents and chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969-976, 2010
10. CARVALHO, R. G. C. et al. Caracterização fenotípica e genotípica de *Serratia marcescens* provenientes de Unidade Neonatal de Referência em Belém, Pará. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 1, mar. 2010.
11. CANTÓN R, COQUE TM. The CTX-M β-lactamase pandemic. **Curr Opinion in Microbiol** 2006; 9(5):466-75
12. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 1, p. 1–113, 2019.
13. CLOCK, S. A. et al. Colonization with antimicrobial-resistant Gram-negative bacilli at neonatal intensive care unit discharge. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 6, n. 3, p. 219–226, 2017.

14. CORDOVA, Caio Maurício Mendes; BLATT, Solange Lucia; DALMARCO, Eduardo Monguilhott. Identificação Laboratorial de Beta Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs). **RBAC**, v. 38, n. 3, p. 171-177, Blumenau, 2006.
15. DANINO, D. et al. Mother to Child Transmission of Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing Enterobacteriaceae. **Journal of Hospital Infection**, 2018.
16. DE OLIVEIRA, P. M. N. et al. Surveillance of multidrug-resistant bacteria in pediatric and neonatal intensive care units in Rio de Janeiro State, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, p. 1–7, 2019.
17. FERNANDA MODESTO TOLENTINO et al. Endemicity of the High-Risk Clone *Klebsiella pneumoniae* ST340 Coproducing QnrB, CTX-M-15, and KPC-2 in a Brazilian Hospital. **Microbial Drug Resistance**, v. 25, n. 4, p. 528–537, 1 maio 2019.
18. FREITAS, L. Caracterização molecular de *Serratia marcescens* produtoras de ESBL em Unidades de Cuidados Intensivos Neonatal. **CONIC, 21º Congresso de Iniciação Científica**. Trabalho 1000008038.
19. FOLGORI, L. et al. The relationship between Gram-negative colonization and bloodstream infections in neonates: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 24, n. 3, p. 251–257, 2018.
20. GHADDAR, N. et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases Produced by *Escherichia coli* Colonizing Pregnant Women. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 2020, p. 1–7, 23 jan. 2020.
21. GIUFFRE, M. et al. The increasing challenge of multidrug-resistant gram-negative bacilli: results of a 5-year active surveillance program in a neonatal intensive care unit. **Medicine (United States)**, v. 95, n. 10, 4 mar. 2016.
22. HAASE, R. et al. Colonization and Infection due to Multi-resistant Bacteria in Neonates: A Single Center Analysis. **Klinische Pädiatrie**, v. 226, n. 01, p. 8–12, 28 out. 2014.
23. HASSUNA, N. A. et al. Extensively-Drug Resistant *Klebsiella pneumoniae* Recovered From Neonatal Sepsis Cases From a Major NICU in Egypt. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 19 jun. 2020.
24. HULTÉN, K. G. et al. Analysis of Invasive Community-Acquired Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Infections During a Period of Declining Community Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections at a Large Children's Hospital. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 37, n. 3, p. 235–241, mar. 2018.
25. IVANOVA, D. et al. Extended-spectrum β-lactamase-producing *Serratia marcescens* outbreak in a Bulgarian hospital. **Journal of Hospital Infection**, v. 70, n. 1, p. 60–65, 1 set. 2008.
26. JORGENSEN, J. H. et al. **Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition**. 11. ed. Washington: American Society of Microbiology, 2015.
27. LAISLA ZANETONI MARTINS et al. Investigation of blaKPC and blaNDM genes in enterobacteriaceae received in a public health laboratory. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 28, n. 1, p. 26–26, 23 nov. 2021.
28. LAGO, A.; RICCARDI, R.; DAIANE BOPP FUENTEFRIA. Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo Fundo, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 430–434, 1 ago. 2010.
29. LUO, K., TANG, J., QU, Y., YANG, X., ZHANG, L., CHEN, Z., ... MU, D. (2021). Nosocomial infection by *Klebsiella pneumoniae* among neonates: a molecular epidemiological study. **Journal of Hospital Infection**, 108, 174–180. doi:10.1016/j.jhin.2020.11.028

30. MARTINEAU, C., LI X., LALANCETTE, C., PERREAULT, T., FOURNIER, E., TREMBLAY, J., GONZALES, M., YERGEAU, E., QUACH, C., *Serratia marcescens* Outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit: New Insights from Next-Generation Sequencing Applications I. **Journal of Clinical Microbiology**. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/jcm.00235-18>>. Acesso em: 14 set. 2023.
31. MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. J.. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Types and molecular epidemiology. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 32, p. 4-9, 2014.
32. M. DALBEN et al. Investigation of an outbreak of *Enterobacter cloacae* in a neonatal unit and review of the literature. **Journal of Hospital Infection**, v. 70, n. 1, p. 7–14, 1 set. 2008.
33. MIJAC, V. et al. Intestinal Colonization of Preterm Neonates with Carbapenem Resistant Enterobacteria at Hospital Discharge. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, p. 284–284, 1 fev. 2023.
34. MONTAGNANI, C. et al. *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit: crucial role of implementing hand hygiene among external consultants. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, 13 jan. 2015.
35. MCCONVILLE, T. H. et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization (CRE) and subsequent risk of infection and 90-day mortality in critically ill patients, an observational study. **PLOS ONE**, v. 12, n. 10, p. e0186195–e0186195, 12 out. 2017.
36. MSHANA, S. E. et al. Predominance of *Klebsiella pneumoniae* ST14 carrying CTX-M-15 causing neonatal sepsis in Tanzania. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, 7 out. 2013.
37. NORDBERG, V. et al. Neonatal intestinal colonization with extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae-a 5-year follow-up study. **Clinical Microbiology and Infection**, p. 10–15, 2018.
38. NORDMANN, P.; CUZON, G.; NAAS, T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 9, n. 4, p. 228–236, 2009.
39. NUNES, M. et al. Surveillance of multidrug-resistant bacteria in pediatric and neonatal intensive care units in Rio de Janeiro State, Brazil. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 52, 1 jan. 2019.
40. OJAN ASSADIAN et al. Nosocomial Outbreak of *Serratia Marcescens* in a Neonatal Intensive Care Unit. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 23, n. 8, p. 457–461, 1 ago. 2002.
41. PICOLI, Simone Ulrich; MARTINS, Alexandre Costa; Métodos Alternativos para detecção de betalactamase de espectro estendido em *Escherichia Coli* e *Klebsieella pneumoniae*. **Rev. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 47, n. 4, p. 421–426, ago. 2011.
42. QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile β-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3, p. 440–458, 2007.
43. RAYMOND, J.; Y. AUJARD. Nosocomial Infections in Pediatric Patients A European, Multicenter Prospective Study. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 21, n. 4, p. 260–263, 1 abr. 2000.
44. RIVOLIARILALA OL, Garin B, Andriamahery F, Collard JM (2018) Rapid in vitro detection of CTXM groups 1, 2, 8, 9 resistance genes by LAMP assays. **PLoS ONE** 13(7): e0200421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200421>
45. ROBERTS, T. et al. Antimicrobial-resistant Gram-negative colonization in infants from a neonatal intensive care unit in Thailand. **Journal of Hospital Infection**, v. 103, n. 2, p. 151–155, out. 2019.
46. ROUMAYNE LOPES FERREIRA et al. High Prevalence of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Harboring Several Virulence and β-Lactamase Encoding Genes in a Brazilian Intensive Care Unit. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 22 jan. 2019.

47. SALEEM, A. F. et al. The Gut of Healthy Infants in the Community as a Reservoir of ESBL and Carbapenemase-Producing Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 286, 27 maio 2020.
48. SANDS, K. et al. Characterization of antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria that cause neonatal sepsis in seven low- and middle-income countries. **Nature Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 512–523, 1 abr. 2021.
49. SEIDEL, J., HALLER, S., ECKMANS, T., & HARDER, T. (2018). Triagem de rotina para colonização por bactérias Gram-negativas em neonatos em unidades de terapia intensiva para predição de sepse: revisão sistemática e meta-análise. **Jornal de Infecção Hospitalar**, 99(4), 367–380. doi:10.1016/j.jhin.2018.03.01
50. S;GAIND, R. Neonatal septicaemia caused by diverse clones of Klebsiella pneumoniae & Escherichia coli harbouring blaCTX-M-15. **The Indian journal of medical research**, v. 137, n. 4, 2013.
51. STAPLETON, PJ, MURPHY, M., MCCALLION, N., BRENNAN, M., CUNNEY, R., & Drew, RJ (2015). Surtos de Enterobacteriaceae produtoras de beta-lactamase de espectro estendido em unidades de terapia intensiva neonatal: uma revisão sistemática. **Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition**, 101(1), 72–78. doi: 10.1136/archdischild-2015-308707
52. TZOUVELEKIS, L. S.; MARKOGIANNAKIS, A.; PSICHOGIOU, M.; TASSIOS, P. T.; DAIKOS, G. L. Carbapenemases in Klebsiella pneumonia and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 4, p. 682-707, 2012.
53. VALÉRIA, K. et al. Outbreak of neonatal infection by an endemic clone of *Serratia marcescens*. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 106–109, 1 fev. 2011.
54. VESPERO, E.; MAGALHÃES, G.; PELISSON, M.; SANOS, R., SIQUEIRAM, J.; PIMENTA, J.; DANELLI, T.; PERUGINI, M., Performance of Laboratory Methods for Detection of Polymyxin-Resistance in Gram-Negatives Bacillus. **Journal of Clinical & Experimental Pathology**, 2021, 11:S13
55. VILLEGAS MV, KATTAN JN, QUINTEROS MG et al. Prevalence of extended-spectrum β-lactamases in South America. **Clin Microbiol Infect** 2008; 14:154-8
56. VON, D. 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-UFG). **Repositorio.ufu.br**, 2020.
57. WEINER-LASTINGER, L. M. et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 41, n. 1, p. 1–18, 2020a.
58. WEINER-LASTINGER, L. M. et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with pediatric healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 41, n. 1, p. 19–30, 25 jan. 2020b.
59. WHO WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis. p. 1–83, 2017.
60. WOODFORD, et al. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding “X-M” extended-spectrum β-lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p 154-155, 10 november 2005.
61. ZHOU, J. et al. Clinical and Molecular Epidemiologic Characteristics of Ceftazidime/Avibactam-Resistant Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae in a Neonatal Intensive Care Unit in China. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 13, p. 2571–25