



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

THALINY LEAL SPECIAN SESTAK

**COLONIZAÇÃO POR BACIOS GRAM-NEGATIVOS EM
RECÉM-NASCIDOS, CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS E
DE ÁLCOOL A 70% EM UMA UNIDADE NEONATAL NO
BRASIL**

Londrina - Paraná

2023

THALINY LEAL SPECIAN SESTAK

**COLONIZAÇÃO POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS EM
RECÉM-NASCIDOS, CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS E
DE ÁLCOOL A 70% EM UMA UNIDADE NEONATAL NO
BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de título de mestre em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial pelo programa de Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina

Orientadora: Dra. Jaqueline Dario Capobiango

Co-orientadora: Dra. Marcia Regina Eches Perugini

Londrina - Paraná

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Sestak, Thaliny Leal Specian.

Colonização por Bacilos Gram-Negativos em recém-nascidos, consumo de antimicrobianos e de álcool a 70% em uma unidade neonatal no Brasil / Thaliny Leal Specian Sestak. - Londrina, 2023.
113 f. : il.

Orientador: Jaqueline Dario Capobiango.

Coorientador: Marcia Regina Eches Perugini.

Dissertação (Mestrado Profissional em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2023.
Inclui bibliografia.

1. Enterobacteriaceae - Tese. 2. Bacilos Gram-Negativos - Tese. 3. Infecção Hospitalar - Tese. 4. Auditoria Clínica - Tese. I. Capobiango, Jaqueline Dario . II. Perugini, Marcia Regina Eches. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. IV. Título.

THALINY LEAL SPECIAN SESTAK

**COLONIZAÇÃO POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS EM
RECÉM-NASCIDOS, CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS E
DE ÁLCOOL A 70% EM UMA UNIDADE NEONATAL NO
BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de título de mestre em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial pelo programa de Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina

BANCA EXAMINADORA

Dra. Jaqueline Dario Capobiango
Universidade Estadual de Londrina -UEL

Dra. Eliana Carolina Vespero
Universidade Estadual de Londrina -UEL

Dra. Gilselena Kerbauy Lopes
Universidade Estadual de Londrina -UEL

Londrina, 21 de julho de 2023.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, porque Dele veio minha maior inspiração e incentivo. Ao meu esposo, pela colaboração em todos os momentos e a toda a minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao meu esposo Marcelo Sestak, pela paciência, amor e colaboração sem medida.

A minha mãe Ana Maria Veloso Leal, pelo grande incentivo aos estudos.

Ao meu pai Reynaldo Specian.

A minha orientadora Dra. Jaqueline Dario Capobiango, minha maior inspiração.

A minha coorientadora Dra. Márcia Regina Eches Perugini, pelos ensinamentos e auxílios mesmo à distância.

A toda equipe do laboratório da Universidade Estadual de Londrina, em especial, a aluna Luana Villela de Freitas.

A enfermeira Sandra Giane, pela colaboração com a coleta de dados deste trabalho.

A farmacêutica Franciele da Silva Quemel, pela colaboração com o fornecimento de dados para elaboração deste trabalho.

A toda equipe de enfermagem, laboratório e médicos do Hospital Associação Beneficente de Saúde do Noroeste do Paraná, instituição onde ocorreu este trabalho, pois viabilizaram a realização de todas as etapas da pesquisa.

“Gratidão...É reconhecer a mão de Deus em todos os detalhes de nossa vida, é Ele quem vai arrumando tudo em seu lugar, pode doer, mas é melhor. Que sejamos gratos a Deus pelas alegrias e dores, pois tudo é permissão de Deus para realizar o melhor em nossas vidas”.

Yla Fernandes

SESTAK, Thaliny Leal Specian. **COLONIZAÇÃO POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS EM RECÉM-NASCIDOS, CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS E DE ALCOOL A 70% EM UMA UNIDADE NEONATAL NO BRASIL.** 2023. 113 folhas. Dissertação de Mestrado no Programa em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

RESUMO

Introdução: O progresso na área da saúde permitiu a sobrevivência de recém-nascidos cada vez mais prematuros com risco aumentado para colonização. Logo, faz-se necessário o controle do consumo de antimicrobianos e reforços no uso de álcool a 70%. **Objetivo:** analisar a frequência e o perfil de resistência das principais enterobactérias isoladas dos processos de colonização de recém-nascidos, o padrão de consumo de antimicrobianos e de álcool à 70% em uma unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN). **Metodologia:** Estudo retrospectivo observacional, que analisou a colonização por enterobactérias de 43 recém-nascidos que foram submetidas a análise microbiológica e molecular, realizado em uma UTIN localizada no noroeste do Paraná, no período de outubro de 2020 a maio de 2021. **Resultados:** A amostra do estudo foi composta por 43 neonatos, dos quais 32,5% nasceram com idade gestacional entre 28 e 32 semanas. A colonização por Bacilos Gram- Negativos (BGN) ocorreu entre 7 e 95 dias de vida, com mediana de 19 dias de vida; 69,7% dos casos apresentaram infecções e colonizações mutuamente. Em relação ao total de 100 coletas de *swab* retal e nasal provenientes da amostra do estudo, *Klebsiella pneumoniae* foi o micro-organismo predominante. Evolutivamente observou-se diminuição da positividade para BGN nos *swabs* de vigilância. Em relação aos resultados genotípicos, o gene *bla*-CTXM1 foi prevalente, presente em 29 amostras (39%) de colonização, seguido do gene *bla*-KPC presente em 16 (21,6%), o gene *bla*-CTXM15 em 13 (17,5%), o gene *bla*-CTXM8 em 12 (16,2%) e 2 amostras (2,7%) com o gene *bla*-CTXM2. Houve redução de incidência de infecções relacionadas a assistência à saúde (IRAS) e de enterocolite necrozante. A auditoria de antibióticos evidenciou através dos cálculos de dias de terapia de cada antibiótico (*Days of Therapy*- DOT) a redução da prescrição de antimicrobianos de amplo espectro. O consumo de álcool a 70% se manteve acima da média preconizada no período. **Conclusão:** foi possível analisar a frequência e o perfil de resistência das principais enterobactérias isoladas dos processos de colonização de recém-nascidos, o padrão de consumo de antibióticos e de álcool a 70% em uma unidade de terapia intensiva neonatal.

Palavras-chave: *Enterobacteriaceae*, Bacilos Gram-Negativos, Infecção Hospitalar, Auditoria Clínica.

SESTAK, Thaliny Leal Specian. **COLONIZATION BY GRAM-NEGATIVE BACILI IN NEWBORN INFANTS AND ANTIBIOTIC CONSUMPTION IN A NEONATAL UNIT IN BRAZIL 2023**. 113 pages. Master's Dissertation of the Postgraduate Course in Clinical and Laboratory Pathophysiology – Health Sciences Center, State University of Londrina, Londrina, 2023.

ABSTRACT

Introduction: Progress in the health area has allowed the survival of increasingly premature newborns with an increased risk of colonization. Therefore, it is necessary to control the consumption of antimicrobials and reinforce the use of 70% alcohol.

Objective: to analyze the frequency and resistance profile of the main enterobacteria isolated from the colonization processes of newborns, the pattern of consumption of antimicrobials and 70% alcohol in a neonatal intensive care unit (NICU).

Methodology: Retrospective observational study, which analyzed the colonization by enterobacteria of 43 newborns who underwent microbiological and molecular analysis, carried out in a NICU located in northwest Paraná, from October 2020 to May 2021.

Results: A The study sample consisted of 43 neonates, of which 32.5% were born with a gestational age between 28 and 32 weeks. Colonization by Gram-Negative Bacilli (GNB) occurred between 7 and 95 days of life, with a median of 19 days of life; 69.7% of the cases presented mutual infections and colonizations. Regarding the total of 100 collections of rectal and nasal swabs from the study sample, *Klebsiella pneumoniae* was the predominant pathogen. Evolutionarily, there was a decrease in positivity for BGN in surveillance swabs. Regarding the genotypic results, the bla-CTXM1 gene was prevalent, present in 29 colonization samples (39%), followed by the bla-KPC gene present in 16 (21.6%), the bla-CTXM15 gene in 13 (17, 5%), bla-CTXM8 gene in 12 (16.2%) and 2 samples (2.7%) with bla-CTXM2 gene. There was a reduction in the incidence of healthcare-associated infections (HAIs) and necrotizing enterocolitis. The antibiotics audit showed, through the calculation of days of therapy for each antibiotic (*Days of Therapy* - DOT), a reduction in the prescription of broad-spectrum antimicrobials. Consumption of 70% alcohol remained above the recommended average in the period. **Conclusion:** it was possible to analyze the frequency and resistance profile of the main enterobacteria isolated from the colonization processes of newborns, the pattern of consumption of antibiotics and 70% alcohol in a neonatal intensive care unit.

Keywords: Enterobacteriaceae, Gram-Negative Bacillus, Hospital Infection, Clinical Audit.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Percentual de óbitos por componente de mortalidade infantil, segundo local de ocorrência, Brasil, 2018.....	24
Figura 2. Causas de Morte por Componente de Mortalidade Infantil, Brasil, 2018.....	25
Figura 3. Valores de neutrófilos (por mm ³) em recém-nascidos.....	27
Figura 4. Parede celular das bactérias Gram-negativas.....	35
Figura 5. Mecanismos de transferência horizontal de genes de resistência.....	36
Figura 6. Betalactamases intrínsecas e adquiridas em Enterobactérias.....	40

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

Gráfico 1. Frequência de Microrganismos isolados de recém-nascidos na primeira coleta de <i>swab</i> (mo col1)	62
Gráfico 2. Frequência de Microrganismos isolados de recém-nascidos na segunda coleta de <i>swab</i> (mo col2)	62
Gráfico 3. Frequência de Microrganismos isolados de recém-nascidos na terceira coleta de <i>swab</i> (mo col3)	63
Gráfico 4. Frequência de Microrganismos isolados de recém-nascidos na quarta coleta de <i>swab</i> (mo col4)	63
Gráfico 5. Frequência de Microrganismos isolados de recém-nascidos na quinta coleta de <i>swab</i> (mo col5)	64
Gráfico 6. Frequência de Microrganismos isolados de recém-nascidos na sexta coleta de <i>swab</i> (mo col6)	64
Gráfico 7. Perfil de Sensibilidade dos Microrganismos.....	65
Gráfico 8. Resultado Genotípico.....	66
Gráfico 9. Comparação Densidade de Incidências de IRAS e Enterocolite.....	67
Gráfico 10. Relação entre Densidade de Incidência de IRAS, Taxa de Letalidade e Taxa de Colonização.....	68
Gráfico 11. Dias de Terapia (<i>Days of Therapy- DOT</i>) de antibióticos utilizados no tratamento de infecções por bacilos Gram-negativos resistentes.....	83
Gráfico 12. Dias de Terapia (<i>Days of Therapy- DOT</i>) de antimicrobianos utilizados no tratamento empírico de infecções em neonatologia	84
Gráfico 13. Dias de Terapia (<i>Days of Therapy- DOT</i>) de antibióticos utilizados no tratamento de infecções por bactérias Gram-positivas.....	85
Gráfico 14. Dias de Terapia (<i>Days of Therapy- DOT</i>) de antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções fúngicas	86
Gráfico 15. Duração da Terapia (<i>Length of Therapy- LOT</i>) para o tratamento de infecções neonatais	87
Gráfico16. Consumo de álcool na unidade neonatal.....	88
Tabela 1. Perfil clínico e microbiológico dos recém-nascidos com Infecções Relacionadas à assistência à saúde, 2020 e 2021.....	59

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BGN	Bacilo Gram Negativo
CDC	Center for Diseases Control and Prevention
CP-BGN	Bacilos Gram-Negativos Produtores de Carbapenemases
CR-AB	<i>Acinetobacter baumannii</i> Resistente a Carbapenem
CRE	Enterobactérias Resistentes aos Carbapenens
CR-PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Resistente a Carbapenem
DDD	Dose Diária Definida
DOT	<i>Days of therapy</i>
ESBL	Betalactamases de Espectro Estendido
ESBL-BGN	Bacilos Gram Negativos Produtores de Betalactamases
IRAS	Infecção Relacionada à Assistência à Saúde
IPCSL	Infecção Primária de Corrente Sanguínea com Confirmação Laboratorial
IPCSC	Infecção Primária de Corrente Sangüínea sem Confirmação Laboratorial
ITU	Infecção de Trato Urinário
LOT	<i>Lenght of Therapy</i>
MDR	Multidroga Resistente
OMS	Organização Mundial da Saúde
RN	Recém-nascido
SIM	Sistema de Informações de Mortalidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1	INFECÇÃO NEONATAL.....	26
2.1.1	Critérios Diagnósticos Das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde	27
2.2	INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE EM RECÉM-NASCIDOS.....	31
2.3	COLONIZAÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS POR BACIOS GRAM NEGATIVOS	31
2.4	BACIOS GRAM-NEGATIVOS	34
2.4.1	Resistência Antimicrobiana	35
2.4.2	Diagnóstico da Resistência Antimicrobiana.....	40
2.5	CONTROLE DE CONSUMO DE Antibióticos - LOT e DOT	41
3	JUSTIFICATIVA	43
4	OBJETIVOS	44
4.1	OBJETIVO GERAL.....	44
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
5	MÉTODOS	45
5.1	DELINEAMENTO	45
5.2	LOCAL DE ESTUDO	45
5.3	POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	46
5.4	COLETA DE AMOSTRAS	46
5.5	PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	46
5.5.1	Análise fenotípica e perfil de sensibilidade	47
5.5.2	Extração do DNA e Análise genotípica.....	48
5.6	ANÁLISE DO CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS	49

5.7	ANÁLISE DO CONSUMO DE ÁLCOOL	49
5.8	COLETA DE DADOS	50
5.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
5.10	ASPECTOS ÉTICOS	50
6	RESULTADOS	51
7	ARTIGO 1	52
8	ARTIGO 2	78
9	CONCLUSÃO	95
10	CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
11	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
	APÊNDICES	103
	APÊNDICE A - Questionário de coleta de dados.....	104
	APÊNDICE B - Resultados das culturas de vigilância.....	107
	ANEXOS	110
	ANEXO A – Parecer da Comissão de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos.....	111

1. INTRODUÇÃO

A infecção neonatal é uma causa importante de mortalidade na faixa etária pediátrica. Os avanços na tecnologia e na medicina permitiram a sobrevivência de recém-nascidos (RN) cada vez mais prematuros e de extremo baixo peso (NAGATA, et al., 2002).

As unidades de terapia intensiva neonatais (UTIN) recebem cada vez mais pacientes com necessidades de procedimentos invasivos, uso de cateteres venosos centrais, ventilação mecânica e uso de antibióticos de largo espectro e por tempo prolongado (LOPES et al., 2008). Como consequência, ocorre aumento expressivo no número de sepse neonatal tardia, ou seja, aquelas que ocorrem após 48 horas de vida, com incremento nas taxas de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e surgimento de microrganismos multirresistentes (LOPES et al., 2008).

Os recém-nascidos apresentam particularidades próprias com relação às barreiras às infecções. A imaturidade do sistema imunológico, além da fragilidade da barreira cutânea e de mucosas, os torna mais suscetíveis às infecções (ANVISA, 2017a).

Neste Contexto, O *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC) caracterizaram como IRAS, as infecções adquiridas durante o trabalho de parto ou durante a hospitalização, exceto quando há evidência de transmissão transplacentária (ANVISA, 2017a).

As IRAS em neonatologia contemplam também as infecções relacionadas à falha na assistência, no que se refere à prevenção, diagnóstico e tratamento das infecções. Este novo conceito visa à prevenção mais abrangente das infecções do período pré-natal, perinatal e neonatal. (ANVISA, 2017a).

Um estudo de revisão sistemática evidenciou o impacto das práticas e procedimentos para prevenção e controle da transmissão dos principais patógenos multirresistentes como *Enterobacteriaceae* resistente aos carbapenens (CRE), *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenens (CR-AB) e *Pseudomonas aeruginosa* resistente aos carbapenens (CR-PA). Este estudo reportou a efetividade de intervenções como precaução de contato, cultura de vigilância, isolamento de pacientes por coorte, monitoramento e auditoria de antibióticos e “*feedback*” das

medidas de prevenção com a equipe de saúde, além da limpeza de ambiente e higiene das mãos (TOMCZYK et al., 2019)

Com relação às práticas efetivas de organização e cuidados contra patógenos CRE, CR-AB e CR-PA, uma revisão sistemática evidenciou que os mais frequentes componentes de intervenção incluem precaução de contato (90%), culturas de vigilância (80%), auditoria de antibióticos (80%), isolamento e coorte de pacientes (70%), lavagem mãos (50%) e limpeza de ambiente (40%). Nesta revisão, aproximadamente todos os estudos demonstraram uma significativa redução de infecções relacionadas a assistência à saúde (IRAS) com essas medidas de intervenções (TOMCZYK et al., 2019).

Um *guideline* elaborado pelo Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças Infecciosas evidenciou que uma melhoria das medidas de higiene de mãos e consumo de álcool reduziu significativamente as taxas de IRAS. Além disso, precaução de contato, isolamento por coorte, comunicação de casos, *screening* de contatos, melhoria de limpeza de ambiente e banhos com antissépticos são medidas muito efetivas para controle de IRAS (MAGIORAKOS et al., 2017).

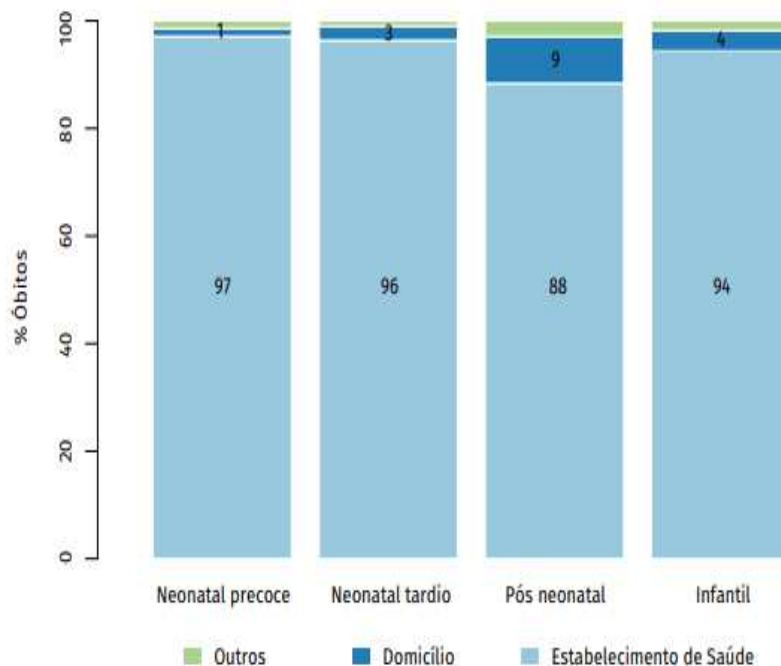
A motivação do presente estudo partiu da necessidade de retratar as taxas de IRAS, em especial de enterocolite necrozante, pneumonia associada à ventilação mecânica e infecção de corrente sanguínea, relacionadas a micro-organismos multirresistentes, em uma unidade neonatal com enfoque no estudo das colonizações por BGN e nas ações de prevenção de infecções neonatais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Estima-se que no Brasil 60% da mortalidade infantil ocorra no período neonatal, sendo a sepse neonatal uma das principais causas, conforme dados nacionais disponibilizados no Sistema de Informação de Mortalidade (SIM). No Brasil, em 2018, 53% dos 35.857 óbitos infantis ocorreram em crianças com idade de 0 a 6 dias (óbito neonatal precoce); 17% ocorreram em crianças de 7 a 27 dias (óbito neonatal tardio); e 30% em crianças de 28 a 364 dias (óbito pós-neonatal) (BRASIL, 2021).

Nesse mesmo ano, no Brasil, o Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (SINASC) registrou 2.944.932 nascidos vivos. No componente neonatal precoce, 97% dos óbitos ocorreram em hospital ou outro estabelecimento de saúde. No componente neonatal tardio, 96% dos óbitos ocorreram em hospital ou outro estabelecimento de saúde e 3% no domicílio. No componente pós-neonatal, 88% ocorreram em hospital ou outro estabelecimento de saúde, 9% no domicílio e 3% em outros lugares. Portanto, a grande maioria dos óbitos nos períodos neonatal precoce, neonatal tardia, pós neonatal e infantil ocorreram dentro dos hospitais. (Figura 1) (BRASIL, 2021).

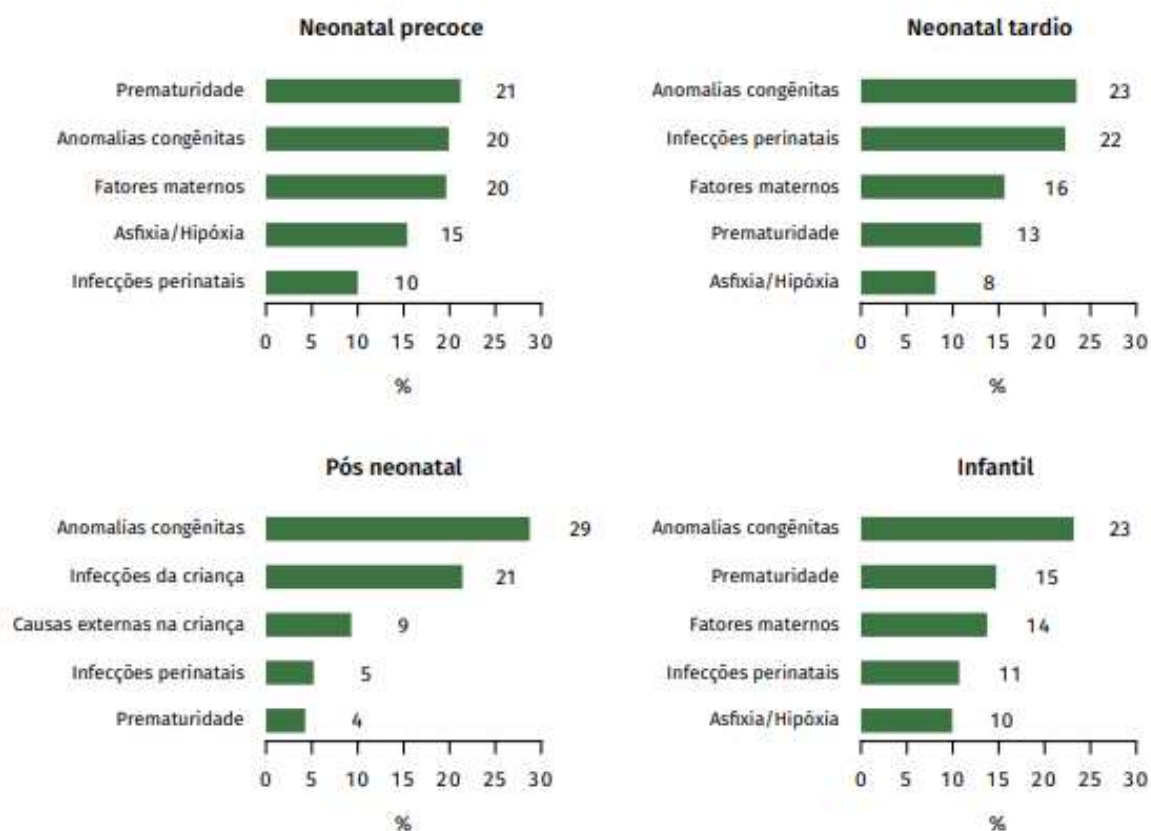
Figura 1 - Percentual de óbitos por componente de mortalidade infantil, segundo local de ocorrência, Brasil, 2018.



Fonte: Cgiae/DASNT/SVS/MS - Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM).

Em 2018, no Brasil, as principais causas de mortalidade infantil foram: anomalias congênitas (23%), prematuridade (15%), fatores maternos (14%), infecções perinatais (11%) e asfixia/hipóxia (10%), totalizando 72% das causas de óbitos de menores de 1 ano de idade (Figura 2) (BRASIL, 2021). Esses dados reforçam a problemática das IRAS como causa de mortalidade infantil e a importância da abordagem desse tema.

Figura 2 - Causas de Morte por Componente de Mortalidade Infantil, Brasil, 2018.



Fonte: Cgiae/DASNT/SVS/MS - Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM).

Portanto, as infecções apresentam um grande impacto no período neonatal. Essa situação está também relacionada à prematuridade, que promove períodos prolongados de internação hospitalar para o ganho de peso, além de exposição a múltiplos procedimentos invasivos. (ANVISA, 2017a).

2.1 INFECÇÃO NEONATAL

Entre as infecções no período neonatal, a sepse é a mais frequentemente encontrada. O diagnóstico de sepse neonatal é baseado em um conjunto de sinais e sintomas inespecíficos. Esses dados podem fazer parte do quadro clínico de outras patologias em neonatologia, portanto devem ser avaliados como um todo e não apenas isoladamente (ANVISA, 2023a).

Os sinais e sintomas que devem ser observados no diagnóstico de infecção em neonatologia são: instabilidade térmica, temperatura menor que 36°C (hipotermia) ou temperatura maior que 37,5°C (hipertermia), concentrações de glicose superiores a 145 mg/dl no sangue total (hiperglicemia) ou menores que 40 mg/dl (hipoglicemia), pausas respiratórias com duração maior que 20s (apneias) ou com durações menores associadas à bradicardia, desconforto respiratório, sangramento, coagulação intravascular disseminada (CIVD), instabilidade hemodinâmica e choque (ANVISA, 2023a).

Em casos graves de sepse, ocorre a disfunção dos órgãos, secundária à inadequação do fluxo sanguíneo e da oxigenação, tornando-se o metabolismo celular predominantemente anaeróbico com produção de ácido láctico. Logo, a acidose metabólica que se instala é o resultado de circulação sanguínea inadequada. (ANVISA, 2017a).

Além da taquicardia e hipotensão, o choque pode manifestar-se com palidez cutânea, má perfusão periférica, extremidades frias, redução de débito urinário e letargia. (ANVISA, 2017a).

Para o auxílio no diagnóstico de infecção neonatal utiliza-se um score hematológico, que foi desenvolvido por Rodwell (apud ANVISA, 2017a). Esse score considera um ponto para cada uma das seguintes características:

- Leucocitose ou leucopenia, com número de leucócitos ≥ 25000 ao nascer ou ≥ 30000 entre 12 e 24 horas ou acima de $21000 \geq 48\text{horas} \leq 5000$ em qualquer idade.
- Neutrofilia ou neutropenia (Figura 3)
- Índice neutrofílico aumentado (Figura 3)
- Razão dos neutrófilos imaturos sobre os segmentados $\geq 0,3$
- Alterações degenerativas nos neutrófilos com vacuolização e granulação tóxica

- Plaquetopenia (≤ 150000)

Um score ≥ 3 oferece sensibilidade de 96% e especificidade de 78% para o diagnóstico de infecção, e um score de 0,1 ou 2 fornece valor preditivo negativo de 99% (ANVISA, 2017a).

Figura 3 - Valores de neutrófilos (por mm^3) em recém-nascidos

	NEUTROPENIA		NEUTROFILIA		↑IMATUROS	
	PN <1,5kg*	PN >1,5kg*	PN <1,5kg*	PN >1,5kg*	Imaturos* *	Totais* *
Nascimento	< 500	< 1.800	> 6.300	> 5.400	> 1.100	> 0,16
12 horas	<1.800	< 7.800	> 12.400	> 14.500	> 1.500	> 0,16
24 horas	< 2.200	< 7.000	> 14.000	> 12.600	> 1.280	> 0,16
36 horas	< 1.800	< 5.400	> 11.600	> 10.600	> 1.100	> 0,15
48 horas	< 1.100	< 3.600	> 9.000	> 8.500	> 850	> 0,13
60 horas	< 1.100	< 3.000	> 6.000	> 7.200	> 600	> 0,13
72 horas	< 1.100	< 1.800	> 6.000	> 7.000	> 550	> 0,13
120 horas	< 1.100	< 1.800	> 6.000	> 5.400	> 500	> 0,12
4º ao 28º dia	< 1.100	< 1.800	> 6.000	> 5.400	> 500	> 0,12

Fonte: Manroe et al., 1979; *Mouzinho et al., 1994.

2.1.1 Critérios Diagnósticos Das Infecções Relacionadas À Assistência À Saúde

As principais IRAS identificadas na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) de acordo com os critérios diagnósticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) são infecção primária de corrente sanguínea (IPCS), pneumonia, enterocolite necrozante, meningite, onfalite, infecção de trato urinário, infecção relacionada a acesso vascular e endocardite (ANVISA, 2017a). Embora, sabe-se que para fins de notificação nacional é obrigatória somente a notificação das IPCS. (ANVISA, 2017a).

O diagnóstico de IPCS é dividido em IPCS com confirmação laboratorial e IPCS sem confirmação laboratorial (ANVISA, 2023a).

Em neonatologia, ou seja, para paciente com idade menor ou igual a 28 dias, considera-se infecção associada ao cateter vascular central se o RN estava em uso de cateter central por um período maior que dois dias consecutivos (sendo o D1 o dia de instalação do dispositivo) e que na data da infecção o paciente estava em uso do dispositivo ou este foi removido no dia anterior (ANVISA, 2023a).

A IPCS com confirmação laboratorial pode ser baseada em critério 1, que é hemocultura positiva em pelo menos uma amostra com patógeno não contaminante de pele e que não haja infecção em outro sítio. E os sinais e sintomas e exames de identificação do micro-organismo ocorreram no período de janela de infecção (ANVISA, 2023a).

A IPCS com confirmação laboratorial pode ser baseada em critério 2, pelo menos dois dos seguintes: instabilidade térmica, apneia, bradicardia, intolerância alimentar, piora do desconforto respiratório, intolerância à glicose, instabilidade hemodinâmica, hipoatividade, e duas ou mais hemoculturas coletadas em momentos distintos no mesmo dia ou no máximo no dia seguinte, positivas para agentes contaminantes de pele (*Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Propionibacterium* spp., *Streptococcus* do grupo *viridans*, *Aerococcus* spp., e *Micrococcus* spp.). Ou pelo menos dois desses critérios clínicos acima e pelo menos uma hemocultura positiva, coletada por punção periférica, para *Staphylococcus* coagulase negativo, com positividade até 48h de incubação. E pelo menos um dos seguintes critérios laboratoriais, hemograma com ≥ 3 parâmetros alterados, proteína C reativa quantitativa alterada. E os sinais e sintomas e exames de identificação do micro-organismo ocorreram no período de janela de infecção (ANVISA, 2023a).

A IPCS sem confirmação laboratorial é baseada em pelo menos dois dos seguintes critérios clínicos: instabilidade térmica, apneia, bradicardia, intolerância alimentar, piora do desconforto respiratório, intolerância à glicose, instabilidade hemodinâmica, hipoatividade. E todos os seguintes critérios laboratoriais: hemograma com ≥ 3 parâmetros alterados e/ou proteína C reativa quantitativa alterada, hemocultura não realizada, negativa ou considerada contaminação, ausência de evidência de infecção em outro sítio e terapia antimicrobiana instituída e mantida pelo médico assistente. E os sinais e sintomas e os resultados laboratoriais ocorreram no período de janela de infecção (ANVISA, 2023a).

O diagnóstico de pneumonia baseia-se nos sinais de aumento da necessidade de oxigênio ou da necessidade de ventilação mecânica mais três dos seguintes

critérios clínicos: instabilidade térmica, hemograma com ≥ 3 parâmetros alterados, mudança do aspecto da secreção traqueal, aumento da secreção respiratória ou surgimento de secreção purulenta, sibilância, roncos, bradicardia ou taquicardia, apneia, taquipneia, gemência e batimentos de asa de nariz com retração torácica e tosse.

Os critérios diagnósticos de PAV em neonatologias são: critério 1 paciente ≤ 28 dias em uso de ventilador mecânico (VM) por um período maior que dois dias consecutivos (ou seja, considerar a partir do D3, sendo que o D1 é o dia da instalação do VM) e que na data da infecção o paciente estava em uso de VM ou ele havia sido removido no dia anterior. E sem doença cardíaca ou pulmonar de base com um ou mais exames de imagem seriados com um dos seguintes achados, sendo eles, novo ou persistente ou progressivo: infiltrado, opacificação/consolidação, cavitação, pneumatocele. E piora da troca gasosa, dessaturação, aumento da demanda de oxigênio ou aumento dos parâmetros ventilatórios, por pelo menos dois dias. E pelo menos três dos seguintes sinais e sintomas: instabilidade térmica (temperatura axilar $>$ de $37,5^{\circ}\text{C}$ ou $<$ que 36°C) sem outra causa conhecida, hemograma com ≥ 3 parâmetros alterados, surgimento de secreção purulenta ou mudança das características da secreção, ou aumento da secreção ou aumento da necessidade de aspiração, ausculta com sibilos, roncos ou estertores (episódio novo ou com agravamento), bradicardia (<100 batimentos/min) ou taquicardia (>160 batimentos/min), apneia, taquipneia, gemência e batimento de asa de nariz com retração torácica (episódio novo ou com agravamento), tosse (episódio novo ou com agravamento). E os sinais/sintomas e os exames de imagens e laboratoriais ocorreram no período de janela de Infecção (ANVISA, 2023a).

Se o paciente possuir idade > 28 dias, mas está internado na UTI neonatal, aplica-se o critério para recém-nascido. Adotar esse critério até a alta da unidade neonatal, mesmo que a UTI seja mista: neonatal e pediátrica (ANVISA, 2023a).

O diagnóstico de enterocolite necrosante é baseado em dois dos seguintes critérios: vômitos, distensão abdominal, resíduos alimentares ou sangue nas fezes (micro ou macroscópicos) e uma das seguintes alterações no RX: pneumoperitônio, pneumatose intestinal e alças paréticas do intestino delgado (ANVISA, 2017a).

O diagnóstico de meningite necessita da apresentação de um dos seguintes: patógeno isolado no líquido, em caso de micro-organismos de pele, valorizar a evolução clínica, febre ou hipotermia, apneia, bradicardia, abaulamento de fontanelas,

sinais de envolvimento de pares cranianos, irritabilidade e instituição de terapia específica. E uma das seguintes alterações do líquido: pleocitose, proteinorraquia aumentada ou glicorraquia diminuída ou bacterioscopia positiva no líquido (ANVISA, 2017a).

Já o diagnóstico de onfalite necessita da presença de eritema e/ou drenagem serosa do umbigo e um dos seguintes: cultura positiva do material drenado ou colhido por aspiração ou hemocultura positiva. Ou eritema e drenagem purulenta do coto umbilical (ANVISA, 2017a).

O diagnóstico de Infecção de trato urinário no neonato baseia-se na presença de um dos seguintes sinais e sintomas sem causa reconhecida: instabilidade térmica, apneia, bradicardia, baixo ganho ponderal, letargia, vômitos e urocultura positiva (maior ou igual a 10^5 colônias por ml) com não mais que duas espécies de microorganismos. Em caso, de urina coletada por punção supra púbica considerar qualquer contagem de crescimento de não mais de duas espécies (ANVISA, 2017a).

A urocultura positiva, se colhida por saco coletor, deve ser confirmada através da obtenção asséptica por cateterismo vesical ou punção supra púbica e se positiva neste momento, deverá ser notificada. Considerar ITU associada a um cateter vesical quando o RN está em uso de cateter por um período maior que dois dias de calendário (sendo o D1 o dia da instalação) e que na data da infecção o RN estava em uso do dispositivo ou este foi removido no dia anterior (ANVISA, 2017a).

O diagnóstico de infecção relacionada a acesso vascular em um dos critérios abaixo (ANVISA, 2017a):

- 1) Drenagem purulenta do local do acesso e hemocultura não realizada ou negativa.
- 2) Dois dos seguintes: febre ou hipotermia, apneia, bradicardia, letargia ou sinais flogísticos no local do acesso (dor, eritema, calor) e dois dos seguintes: mais de 15 UFC da ponta do cateter e hemocultura não realizada ou negativa.

O diagnóstico de endocardite se baseia em um dos critérios (ANVISA, 2017a):

- 1) Patógeno isolado em cultura de válvula ou presença de vegetação.
- 2) E um dos seguintes: febre hipotermia, apneia, bradicardia e um dos seguintes, mudança ou aparecimento de sopro, fenômenos embólicos ou manifestações cutâneas (petéquias, nódulos), insuficiência cardíaca, presença ou uso prévio de cateter central e um dos seguintes: duas ou mais hemoculturas positivas,

bacterioscopia positiva em material de válvula, visualização de vegetação em cirurgia ou nova vegetação em ecocardiograma seriado.

2.2. INFECÇÃO RELACIONADA À SAÚDE EM RECÉM-NASCIDOS

A infecção relacionada a saúde em recém-nascidos nas unidades de terapia intensivas é uma realidade que necessita ser conhecida por parte dos profissionais que lá atuam, a fim de que medidas de controle e prevenção sejam realizadas. Caso contrário, desfechos clínicos desfavoráveis, como surto de micro-organismos multidroga-resistentes (MDR) e aumento do número de óbitos poderão ocorrer no serviço. (ANVISA, 2023b).

A prevenção da infecção nas UTINs exige espaço físico adequado e pessoal suficiente. É prioritário que nestas unidades os pacientes estejam dispostos em incubadoras em um espaço de 11,2 m² por neonato e aproximadamente 2,4m de distância entre as incubadoras ou berços. Também deve haver uma proporção enfermeiro: paciente de 1:1 a 1:2 (CALIL et al., 2017).

Embora a infecção seja a mais frequente complicação de hospitalização em neonatos de países de baixa e média renda, a medida de intervenção mais efetiva para prevenção de infecção ainda permanece incerta (FITZGERLD et al., 2022).

Os patógenos mais comuns causadores de infecções em UTIN são *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativo* (ESHETU et al., 2019).

A grande ameaça dessas infecções diz respeito a possibilidade de MDR com capacidade de transmissão desta resistência entre os micro-organismos e consequentemente de paciente para paciente (ESHETU et al., 2019).

2.3 COLONIZAÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS

A colonização de recém-nascidos por BGN é uma situação esperada devido ao longo tempo de permanência nas unidades neonatais bem como a prematuridade e o baixo peso (AGOSTA et al., 2022).

A disseminação clonal de MDR entres os diferentes pacientes ocorre muito facilmente. Os portadores retais assintomáticos são considerados os principais focos de disseminação de MDR, ou seja, cepas resistentes a pelo menos um agente de três ou mais categorias de antibióticos testados (AGOSTA et al., 2022).

Um estudo, que investigou o impacto da exposição precoce a antibioticoterapia no risco de colonização de RN com idade gestacional menor que 32 semanas em três unidades neonatais de um hospital na Alemanha, evidenciou que o início do tratamento com antibióticos na primeira semana pós-natal não aumentou o risco de colonização por MDR. O único fator de risco independente para a colonização com patógeno resistente foi a duração da internação (BUBSER et al., 2022).

Contrariamente às expectativas destes autores, a exposição a antibióticos na primeira semana pós-natal não foi associada à colonização com patógenos até 35º dia pós-natal. A antibioticoterapia empírica para sepse precoce consistiu em ampicilina e tobramicina na unidade 1, piperacilina e gentamicina na unidade 2 e ampicilina – sulbactam e tobramicina na unidade 3. Uma limitação deste estudo foi não ter sido considerado também a administração dos antibióticos após a primeira semana de vida, isso provavelmente influenciou a composição do microbioma dos pacientes (BUBSER et al., 2022).

Em contrapartida, um outro estudo que também realizou a análise de colonizações de recém-nascidos de duas unidades neonatais, sendo que a unidade A utilizou penicilina G e tobramicina para terapia empírica de sepse precoce e a unidade B utilizou ampicilina e cefotaxima. Concluíram que um regime composto por ampicilina e cefotaxima promoveu a colonização dos RN por microrganismos resistentes aos antibióticos quando comparado ao regime de penicilina G e tobramicina. As aminopenicilinas tiveram um efeito seletivo contra bacilos gram-negativos. Porém, a cefotaxima pode favorecer um crescimento excessivo de bactérias gram-negativas resistentes como *Enterobacter* spp e *Serratia* spp (DE MAN et al., 2000). Neste mesmo estudo, três neonatos tratados com regime de penicilina e tobramicina tornaram-se colonizados por bacilos resistentes à terapia empírica utilizada versus 41 neonatos no regime de ampicilina-cefotaxima ($p < 0,001$). O risco relativo de colonização com cepas resistentes à terapia empírica por 1000 pacientes-dia foi de 18 vezes maior para o regime ampicilina – cefotaxima em comparação ao regime penicilina e tobramicina [intervalo de confiança (IC) de 95% = 5,6 - 58,0]. *Enterobacter cloacae* foi o bacilo predominante em neonatos no esquema amoxicilina-

cefotaxima enquanto *Escherichia coli* predominou em neonatos no esquema penicilina e tobramicina (DE MAN et al., 2000).

Também um outro estudo observou que o tempo de permanência em UTIN por cerca de duas a três semanas é fortemente associado com elevação na taxa de colonização por bacilos gram-negativos produtores de ESBL. O tratamento com ampicilina e gentamicina, que é o esquema principal de escolha para infecção neonatal precoce, foi significativamente associada à colonização por BGN ESBL (ZAKIR et al., 2021).

Após o nascimento, o processo de colonização fisiológica dos recém-nascidos depende do tipo de parto, do meio ambiente e do contato com a colonização materna (LANGE et al., 2021).

Os bebês nascidos de parto cesárea, prematuros, com função respiratória alterada, que apresentam necessidade de ventilação mecânica, uso de cateteres venosos e nutrição parenteral estão sujeitos a maiores riscos de colonização por bactérias produtoras de ESBL (LI et al., 2017).

As Enterobactérias são prevalentes em amostras de *swabs* dos neonatos hospitalizados em UTIN. Um estudo prospectivo realizado em um centro de cuidados terciários na Sérvia, no período de dezembro de 2017 a abril de 2018 rastreou 103 recém-nascidos quanto a colonização retal na admissão e no 7º dia de vida. Dos 61 (59,2%) recém-nascidos colonizados, 12 (11,6%) estavam colonizados na admissão enquanto 49 (47,6%) foram colonizados durante a internação. Entre um total de 72 isolados MDR, as enterobactérias produtoras de ESBL prevaleceram (56/72) o que correspondeu a 77%, seguido da ocorrência da presença de *Acinetobacter* spp. (14/72) o que correspondeu a 19% dos isolados (MILIC et al., 2021).

A maioria das cepas produtoras de ESBL transportava múltiplos genes de resistência (*bla*-TEM / *bla*-CTX ou *bla*-TEM/ *bla*-SHV). Nesse estudo, a hospitalização prolongada, parto cesárea e uso de ventilação mecânica foram associados a colonização por MDR. E as infecções por MDR foram mais frequentes em recém-nascidos colonizados do que naqueles não colonizados (MILIC et al., 2021).

O reconhecimento precoce da colonização por enterobactérias resistentes à carbapenens (CRE) é essencial para a implementação de medidas de controle de transmissão de patógenos de paciente a paciente, além da diminuição de surtos e por conseguinte, redução da morbimortalidade (MZIMELA et al., 2021).

A colonização assintomática geralmente precede o quadro clínico de infecção. Logo, os pacientes colonizados atuam como um reservatório para a disseminação de micro-organismos resistentes no meio nosocomial (ROBERTS et al., 2019).

2.4 BACILOS GRAM-NEGATIVOS

Os Bacilos Gram-Negativas (BGN) são as bactérias que não retém o corante de cristal violeta no protocolo de coloração de Gram. No teste de coloração de Gram é adicionado um corante de contraste (safranina ou fucsina) após o cristal violeta, corando todas as bactérias Gram-negativas com uma cor vermelha ou rosa. Já as bactérias Gram-positivas, retém o corante de cristal violeta quando descoradas com álcool-acetona. O teste é útil porque reflete dois tipos de bactérias com base nas diferenças estruturais de suas paredes celulares: as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (KAYSER et al., 2005).

Os BGN são responsáveis pela maioria das infecções que ocorrem após 48 horas de vida e geralmente estão relacionadas ao contato do recém-nascido com o ambiente (LANGE et al., 2021).

A parede das bactérias Gram-negativas é composta por mureína, o mesmo que peptidoglicano das Gram-positivas, que tem apenas cerca de 2 nm de espessura e contribui por até 10% da massa seca da parede celular. A membrana externa é o elemento estrutural saliente e contém numerosas proteínas (50% em massa), bem como os lipopolissacarídeos (LPS) (Figura 4) (KAYSER et al., 2005).

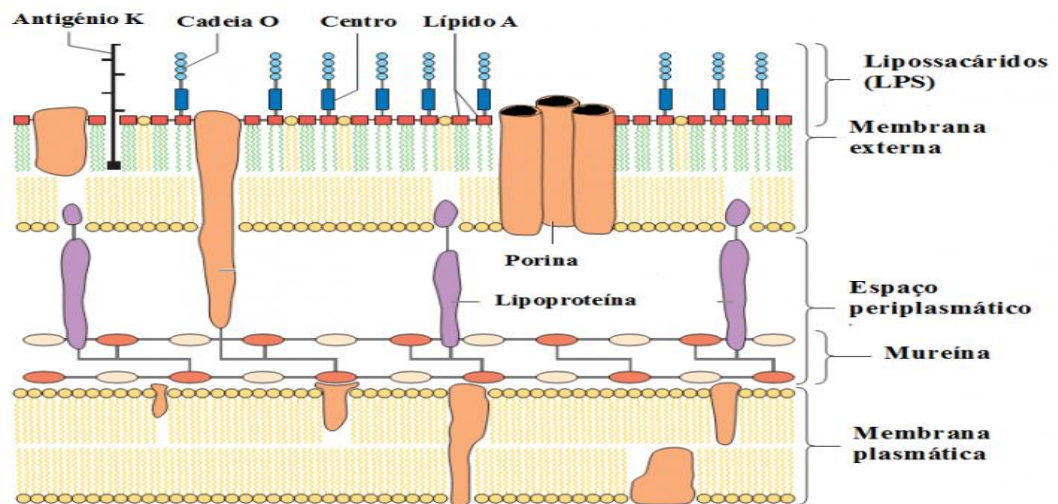
O LPS é um complexo molecular, também conhecido como endotoxina e compreende o lipídio A, o polissacarídeo central e a cadeia de polissacarídeo O-específico. A membrana externa inclui porinas que são proteínas que formam poros na membrana e permitem a passagem de substâncias hidrofílicas de baixo peso molecular para o espaço periplasmático (KAYSER et al., 2005).

O espaço periplasmático é o espaço entre a membrana citoplasmática interna e a membrana externa, constitui até 40% do volume celular total. O espaço contém uma rede solta de cadeias de peptidoglicanos, bem como um gel contendo enzimas hidrolíticas e degradativas. Em algumas espécies, o gel contém betalactamases, fato de grande relevância quando se considera a resistência aos antibióticos (KAYSER et al., 2005).

A capacidade patogênica destas bactérias está habitualmente associada com certos componentes das paredes de células Gram-negativas, em particular a camada de LPS, conhecidos também como endotoxinas. No homem, o LPS desencadeia uma resposta imune inata caracterizada pela produção de citocinas que lesam as células do hospedeiro (KAYSER et al., 2005).

A membrana externa de bactérias Gram-negativas é a principal razão para a resistência antimicrobiana. A maioria dos antibióticos deve passar a membrana externa para acessar seus alvos (Figura 4) (ZAKIR et al., 2021).

Figura 4 - Parede celular das bactérias Gram-Negativas



Fonte: adaptado KAYSER et al (2005).

2.4.1 Resistência Antimicrobiana

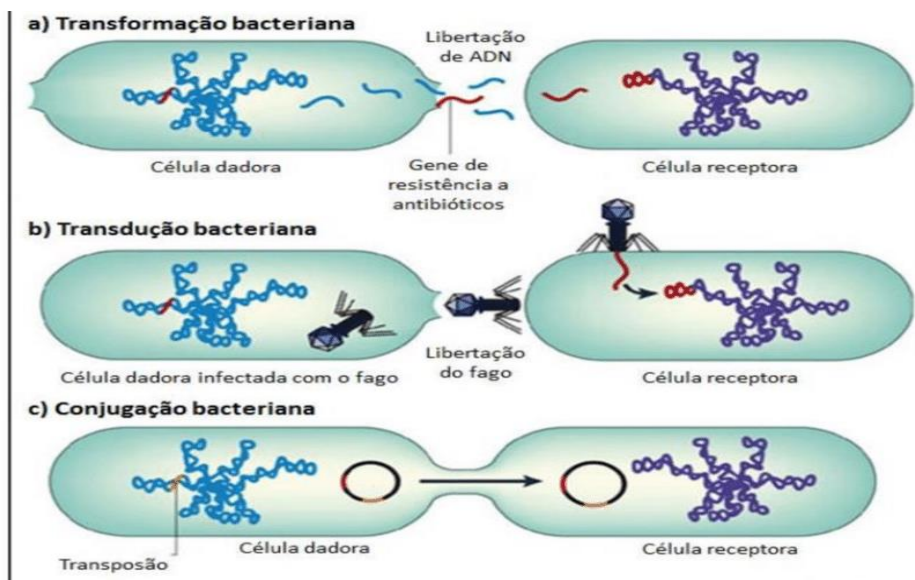
A resistência antimicrobiana é a capacidade de um micro-organismo resistir à ação de um agente antimicrobiano. É uma adaptação ao meio ambiente e resulta em uma redução ou eliminação do agente antimicrobiano utilizado para tratar as infecções. As bactérias podem ser naturalmente resistentes a certos antibióticos (resistência intrínseca). Todavia, a preocupação se torna maior quando algumas bactérias que são naturalmente suscetíveis a antibióticos se tornam resistentes como resultado de adaptação por meio de transformações genéticas (resistência adquirida) (ANVISA, 2017b).

As infecções por BGN são causas importantes de sepse neonatal e estão associadas a taxas significativas de resistência aos medicamentos de primeira e segunda escolha recomendados pela OMS. (YIN et al., 2018).

À medida que novos genes de resistência são transferidos de BGN por elementos genéticos móveis, estas bactérias tornam-se alvos mais difíceis de serem liquidados pelos antibióticos (Figura 5) (SOLOMON et al., 2021).

Um exemplo de transferência de genes de resistência por plasmídeos é o transporte de genes de resistência de ESBL que foi observado entre *E. coli*, *K. pneumoniae* e outros bacilos da família das *Enterobacteriaceae* (SOLOMON et al., 2021).

Figura 5 - Mecanismos de transferência horizontal de genes de resistência.



Fonte: Adaptado de Furuya e Lowy (2006)

A evolução da resistência aos antibióticos ocorreu à medida que as bactérias adquiriram vários mecanismos de resistências, entre estes estão a capacidade de neutralizar os antibióticos, bombeá-los para fora da célula ou modificar a estrutura bacteriana externa (BREIJYEH et al., 2020).

Os mecanismos de resistência aos antibióticos são categorizados em grupos (BREIJYEH et al., 2020):

- 1) Resistência intrínseca- bactérias modificam seus componentes ou estruturas.

- 2) Resistência adquirida- bactérias podem adquirir novos genes de resistência e DNA de outras bactérias.
- 3) Alterações genéticas no DNA- alteração da produção de proteína resultando em diferentes componentes e receptores que não podem ser reconhecidos pelos antibióticos.

Um estudo realizado em oito unidades neonatais, no Peru, descreveu as características fenotípicas e moleculares de *K. pneumoniae* produtoras de betalactamases. Um total de 359 genes codificados de betalactamases foram detectados entre 129 isolados. Destes, 109 (84,5%) transportavam dois ou mais genes de resistência. Entre 37 isolados produtores de ESBL, os *bla*-CTX-M 15 e *bla*-CTX-M 2 foram os mais comuns (GHADDAR et al., 2020).

Neste estudo, a eletroforese em gel de campo pulsado revelou que vários clones de *K. pneumoniae* circulavam entre as oito unidades neonatais incluídas no estudo (GHADDAR et al., 2020).

Uma espécie bacteriana apresenta um conjunto de genes que é conservado em todos os membros. Este conjunto de genes é considerado o genoma. No grupo de *K. pneumoniae*, o genoma central que é definido como presente em mais de 95% dos isolados, é composto por 2.000 genes. Entretanto, há ainda os genes que variam entre os isolados e são definidos como genoma acessório. Este inclui os genes codificados cromossomicamente e os genes presentes em plasmídeos (MARTIN et al., 2018).

Os plasmídeos são moléculas extracromossômicas circulares de DNA bacteriano. Essas moléculas se destacam por sua capacidade de duplicação independente, ou seja, são capazes de se replicar independentemente do DNA cromossomal (MARTIN et al., 2018).

O genoma das espécies de *Klebsiella pneumoniae* apresenta de 5.000 a 6.000 genes, isso significa que a maior parte do genoma é composto por genes acessórios. Esses genes acessórios podem codificar fatores de virulência específicos, que também carregam genes que codificam várias enzimas e mecanismos de resistência antibióticos (MARTIN et al., 2018).

Os genes acessórios podem ser adquiridos por transferência horizontal de genes entre as espécies diferentes, como evidenciado por ilhas genômicas e elementos genéticos móveis (MARTIN et al., 2018).

As ESBLs são enzimas bacterianas que podem clivar o anel beta lactâmico de antibióticos e conferem aumento de resistência a antibióticos beta lactâmicos comumente utilizados como cefalosporinas de 3ª geração e 4ª geração e monobactâmicos (ZAKIR et al., 2021).

Os genes de resistência mais comuns são os genes que codificam as ESBL dos tipos *bla*-CTX-M, *bla*-TEM, *bla*-SHV e *bla*-OXA. Além de outros genes que codificam carbapenemases do tipo *bla*-KPC, *bla*-NDM, *bla*-IMP. (LUO et al., 2021).

As enzimas ESBL do tipo *bla*-CTX-M são cada vez mais relatadas em BGN e representam a maioria das ESBL encontradas em enterobactérias (NAAS et al., 2016).

As ESBL do tipo *bla*-CTX-M formam uma família em rápido crescimento, que compreende 154 variantes divididas em cinco grupos de acordo com a identidade de sequência de aminoácidos (grupos *bla*-CTX-M1, M2, M8, M9, M15), sendo que *bla*-CTX-M15 lidera a prevalência na maioria dos países (NAAS et al., 2016).

No início, as carbapenemases eram mediadas cromossomicamente em algumas espécies, porém, atualmente podem ser mediadas por plasmídeos ou por um cromossomo e um plasmídeo. Isso resulta em uma disseminação mais violenta de resistência, devido a transferência horizontal entre espécies diferentes (HAJI et al., 2021).

Os micro-organismos resistentes aos carbapenêmicos, não produtores de carbapenemases, produzem outros mecanismos de resistência, que podem estar relacionados com mutação de porinas na membrana externa ou a presença de bombas de efluxo ou ambos (HAJI et al., 2021).

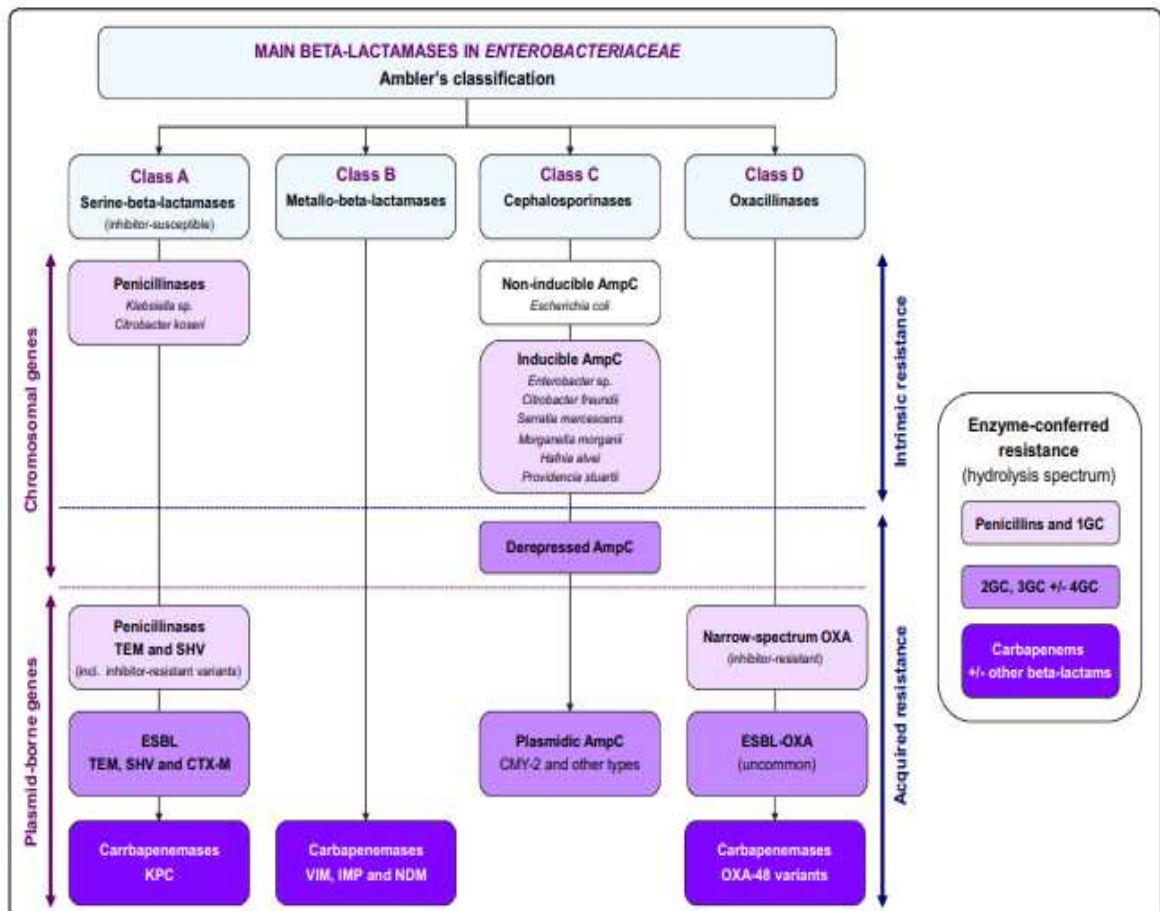
Desde 1993, foram reconhecidos diferentes tipos de carbapenemases pertencentes a três classes moleculares, as betalactamases das classes A, B, C e D de Ambler. As carbapenemases da classe A, são enzimas *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC); as metalobetalactamases classe B (MBLs), como as betalactamases de Nova Delhi (NDM), codificados por Integron de Verona são enzimas do tipo metalobetalactamases (VIM) e imipenemase (IMP); da classe C incluem as cefalosporinases que apresentam resistência ao ácido clavulânico e podem conferir resistência aos carbapenêmicos; e a classe D inclui as oxacilinasases (OXA), tal como enzima OXA-48 (Figura 6) (HAJI et al., 2021).

As betalactamases classe A têm a capacidade de degradar penicilinas e carbapenêmicos. As carbapenemases são enzimas capazes de hidrolisar quase todos os antibióticos betalactâmicos, inclusive carbapenens. Metalobetalactamases

de classe B exibem diferentes atividades de hidrólise contra todos os antibióticos beta lactâmicos, exceto monobactâmicos (aztreonam) (HAJI et al., 2021).

Os recém-nascidos internados em UTIN são vulneráveis à colonização e infecção por micro-organismos BGN produtores de betalactamases de espectro estendido (ESBL- BGN). Essa situação ocorre devido ao sistema imunológico imaturo, uso de antibióticos de largo espectro, contato com profissionais da saúde e exposição a procedimentos invasivos (ZAKIR et al., 2021).

Figura 6 - Betalactamases intrínsecas e adquiridas em Enterobactérias.



Fonte: Ruppé et al. (2015).

2.4.2 Diagnóstico da Resistência Antimicrobiana

As técnicas moleculares são ainda padrão-ouro para identificar e caracterizar as carbapenemases, a mais comum é a reação em cadeia de polimerase (PCR). A PCR é um instrumento de diagnóstico específico e altamente confiável que simplifica a detecção de micro-organismos, genes de virulência, bem como os genes de resistência aos antibióticos (HAJI et al., 2021). O conhecimento fenotípico e molecular, a vigilância da epidemiologia local e o conhecimento da suscetibilidade antimicrobiana são essenciais para garantir a adequação empírica direcionada laboratorialmente e o sucesso terapêutico.

2.5 CONTROLE DE CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS- LOT e DOT

A garantia de um serviço bem estruturado e comprometido com a eficácia do tratamento das infecções depende também do gerenciamento e controle do uso de antibióticos nos diversos setores do hospital (ANVISA, 2017b).

A resistência antimicrobiana é um problema de saúde pública que deve ser amplamente combatido. Sabe-se que antibióticos muito usados estão se tornando ineficazes resultando em prolongamento de internações e aumento de mortalidade (ANVISA, 2017b).

Diante desta problemática, várias medidas podem ser utilizadas para mensurar e avaliar o consumo e o uso de antibióticos em hospitais. A medida de consumo mais amplamente utilizada é a Dose Diária Definida (DDD) preconizada pela OMS (ANVISA, 2017b).

No entanto, novas medidas estão sendo adotadas para aprimoramento das análises como Dias de Terapia (*Days of therapy*- DOT) e Duração de Terapia (*Length of therapy* -LOT). Essas podem ser ferramentas úteis para o monitoramento e a análise do uso de antibióticos (ANVISA, 2017b).

Dias de Terapia (*Days of Therapy*- DOT)

O número de dias em que um paciente recebe um antimicrobiano (independentemente da dose) equivale ao DOT.

Fórmula do DOT:
$$\frac{\text{Número total de dias de uso de cada antibiótico} \times 1000}{\text{Total de pacientes-dia}}$$

Duração da Terapia (*Length of Therapy* -LOT)

O número de dias em que o paciente recebe agentes antibióticos sistêmicos, independentemente do número de fármacos, corresponde à LOT.

Fórmula da LOT:
$$\frac{\text{número total de dias de uso de todos os antibióticos} \times 1000}{\text{Total de pacientes-dia}}$$

Atualmente, utiliza-se mais LOT e DOT que DDD, pois ainda não há uma padronização da dose diária definida (DDD) em pediatria e neonatologia, uma vez que as doses variam conforme o peso da criança (OLIVEIRA, 2021).

Atualmente, o indicador de consumo mais recomendado é dias de tratamento (DOT). Esses indicadores devem ser calculados pelo hospital como um todo e detalhado por unidade e com periodicidade de acordo com os recursos disponíveis (anual, a cada três meses ou mensal) (GOYCOCHEA et al., 2022).

Os cálculos de LOT e DOT necessitam da disponibilidade de prescrição eletrônica e registro da administração dos antibióticos. Uma limitação desses cálculos é que não consideram as doses utilizadas, mas os dias de uso. Portanto, os resultados calculados para neonatos podem apresentar valores diferentes de outros grupos etários, devido aos intervalos das doses consideradas para recém-nascido a cada 18 até 48 horas (GOYCOCHEA et al., 2022).

Um estudo realizado por Newland et al. em 2012 demonstrou a importância das auditorias dos antibióticos. Nesse estudo cujos objetivos eram descrever uma metodologia prospectiva de auditoria com *feedback* em um hospital infantil e avaliar o impacto desse programa no atendimento ao paciente, demonstrou que após implementação das auditorias com a frequência de três vezes por semana houve reduções na utilização dos antibióticos (OLIVEIRA, 2021).

Como resultados, o estudo demonstrou que todo o uso de antibióticos diminuiu de 883 DOT por 1.000 pacientes-dia antes da implementação da auditoria para 787 DOT por 1.000 pacientes-dia ($p < 0,001$). Como conclusão, o estudo mencionou que a implementação das auditorias é viável, pois, permitiu a identificação de áreas para melhoria de qualidade direcionada, além de demonstrar redução no uso dos antibióticos sem afetar negativamente os pacientes (OLIVEIRA, 2021).

3. JUSTIFICATIVA

Acredita-se que a análise dos indicadores de infecção e/ou colonização por enterobactérias, bem como dos dados de consumo de antibióticos e álcool a 70%, podem colaborar com estratégias de prevenção e controle de infecções em neonatos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Analisar a frequência e perfil de resistência das principais enterobactérias isoladas dos swabs de colonização dos recém-nascidos, e o padrão de consumo de antimicrobianos e de álcool a 70% em uma unidade de terapia intensiva neonatal.

4.2 Objetivos Específicos

- Adquirir informações sobre a importância das amostras de colonização para a prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS).
- Descrever a ocorrência dos principais tipos de infecções neonatais.
- Avaliar as taxas de IRAS e de colonização por enterobactérias.
- Avaliar a relação da letalidade com colonização por enterobactérias e com IRAS.
- Realizar análise fenotípica e genotípica de enterobactérias isoladas de culturas de vigilância.
- Avaliar o consumo de antimicrobianos na unidade.
- Relatar o consumo de álcool a 70% na unidade.

5. MÉTODOS

5.1 Delineamento

Estudo de casos retrospectivo e observacional realizado em uma unidade neonatal.

5.2 Local do Estudo

O estudo foi realizado no Hospital Associação Beneficente de Saúde do Noroeste do Paraná, no período outubro de 2020 a maio de 2021.

Essa instituição de saúde é uma entidade sem fins lucrativos, possui uma maternidade regional que é referência nas áreas materno-infantil, atende consultas ambulatoriais de pré-natal, risco intermediário e risco habitual pelo convênio do Sistema Único de Saúde (SUS). É referência no atendimento de gestação de alto risco e no atendimento de todos os municípios de abrangência da 12^o regional de saúde.

A estrutura conta com 123 leitos, sendo 10 leitos de unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN), cinco leitos de unidade de cuidados intermediários neonatal (UCI) e dois leitos de unidade canguru, todos credenciados pelo SUS. Também há dois leitos de unidade de terapia intensiva pediátrica (UTIP) também credenciados pelo SUS. A maternidade tem uma média de 250 partos mensais, sendo 190 internamentos pelo SUS.

A unidade neonatal é dividida em dois ambientes sendo o primeiro com seis leitos destinados a recém-nascidos da instituição, caracterizado como “área limpa”. E um segundo ambiente, com 4 leitos destinados a pacientes colonizados e/ou infectados por MDR, caracterizada como “área contaminada”.

De acordo com resultados das culturas, adota-se isolamento por coorte de pacientes e de funcionários com uso de precaução de contato. Um quarto privativo é destinado para paciente com infecção relacionada ou colonização por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (CRE) ou *Enterococcus* ssp. resistente à vancomicina (VRE).

As análises fenotípicas e genotípicas das amostras de colonização foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Clínica da Universidade Estadual de Londrina.

5.3 População e Amostra do Estudo

Os pacientes considerados neste trabalho foram todos os recém-nascidos internados, nascidos ou transferidos para o serviço, incluindo prematuros com peso de nascimento menor 1500g. Foram excluídos os natimortos e recém-nascidos que evoluíram a óbito com menos de 24 horas de vida.

5.4 Coleta de Amostras

As amostras utilizadas neste estudo advêm das coletas de rotina, realizadas em recém-nascidos internados na UTIN e UCI. As culturas de vigilância dos pacientes são realizadas por meio de *swabs* de dois sítios, nasal e retal, e as coletas são realizadas com intervalo de 7 dias, conforme rotinas da CCIH.

Com relação aos pacientes provenientes de outros serviços, são colhidos *swabs* nasal e retal à admissão, e se negativo, semanalmente após 15 dias da internação.

Foram incluídas as amostras de *swabs* de vigilância de recém-nascidos com positividade para BGN. O número estimado por conveniência utilizado neste estudo foi de 100 amostras, considerando uma prevalência de colonização estimada de 30% (SAPORITO, et al 2021; SAKAI, et al 2020a) e uma média de 17 admissões/mês na UTIN no período considerado, de outubro de 2020 a abril de 2022.

5.5 Processamento de Amostras

As amostras foram coletadas em meios estéreis e em meio Stuart e transportadas em maletas térmicas, com temperaturas de 11 a 25°C, para realização de culturas no laboratório de apoio da instituição.

Como rotina laboratorial, as placas de culturas microbiológicas são guardadas por 48 horas, até a liberação do resultado final. Porém, as placas com amostras positivas para MDR são armazenadas por volta de 5 a 7 dias e são enviadas para confirmação no laboratório Lacen, conforme a nota técnica da Secretaria Estadual de Saúde do Paraná número 823/2021 (SESA, 2021).

No laboratório do hospital Norospar foi realizada a identificação dos micro-organismos pelo método de sistema automatizado (MicroScan- auto SCAN4) e confirmação dos produtores de carbapenemases com o teste de Hodge.

No laboratório de apoio as amostras para culturas foram processadas de acordo com suas características. Primeiramente, semeadas em placas contendo Ágar Sangue e incubadas em estufa de 37°C por 24 a 48 horas, dependendo de seu crescimento. Conforme crescimento, foram analisadas as características das colônias e repicadas em meios seletivos: manitol para cocos Gram-Positivos e Mac Conkey para BGN.

Após serem repicadas nos determinados meios, as colônias foram recolocadas em estufa a 37°C por 18 a 24 horas para crescimento. E então, as amostras foram repicadas para tubos de vidro estéreis contendo 200 microlitros de caldo de enriquecimento TSB e incubadas por 24 horas na estufa a 37°C a fim de manter as propriedades das colônias. Após todos esses processos as placas foram armazenadas em geladeira, entre 2 e 5°C. As amostras positivas MDR foram armazenadas e após 5 a 7 dias foram enviadas para posterior análise no laboratório Lacen, conforme nota técnica SESA 823/2021.

As amostras de *swabs* de vigilância com isolamento de BGN, foram transportadas até o laboratório de microbiologia do Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina, em caixas térmicas de isopores, a temperaturas entre 11 e 25°C, para análise microbiológica e molecular.

5.5.1 Análise Fenotípica e Perfil de Sensibilidade

A identificação dos microrganismos foi realizada fenotipicamente por metodologia manual, utilizando-se testes bioquímicos tais como: fermentação de carboidratos, produção de urease, produção de H₂S, desaminação de triptofano, descarboxilação de lisina, arginina e ornitina, produção de indol, utilização de citrato de acordo com metodologia padronizada por Jorgensen e colaboradores (2015).

A sensibilidade a antibióticos foi realizada para determinação dos mecanismos de resistência pelo método de disco difusão, de acordo com o BrCAST (2022). A produção de ESBL foi avaliada pelo método de aproximação utilizando-se discos com os seguintes antibióticos: amoxicilina-ácido clavulânico, cefotaxima, ceftriaxona,

ceftazidima, cefepima. A avaliação da resistência a carbapenems foi feita com discos de ertapenem, meropenem e imipenem.

Os BGN-MDR são enterobactérias produtoras de betalactamases de espectro estendido (ESBL) e resistentes a carbapenems (CRE) e os BGN não fermentadores como *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenems (CR). (MAGIORAKOS, 2012)

5.5.2 Extração do DNA e Análise Genotípica

O DNA foi extraído para PCR simples e multiplex utilizando o método de fervura, de três a 5 colônias foram suspensas em 0,3 ml de água ultrapura e fervido durante 10 minutos, seguido de choque térmico por 5 min. A suspensão foi centrifugada a 10.000 rpm durante 10min e o sobrenadante foi utilizado para as reações de PCR para pesquisa de ESBL e carbapenemases.

As amostras que apresentaram testes fenotípicos positivos para ESBL foram caracterizadas genotipicamente por PCR, utilizando primers específicos para os grupos: *bla*CTX-M-1, *bla*CTX-M-2, *bla*CTX-M-8, *bla*CTX-M-9 e *bla*CTX-M-15, conforme descrito por Woodfort et al., 2005, sendo realizada a técnica de PCR multiplex, com as seguintes condições de amplificação: desnaturação inicial de 5min a 94°C; 30 ciclos de 25 segundos (s) a 94°C de desnaturação, 40s a 52°C para hibridização e 50s a 72°C de extensão e alongamento final de 6min a 72°C. As amostras que apresentaram os testes fenotípicos positivos para carbapenemases foram submetidas a reação de PCR, para os seguintes genes, *bla*KPC e *bla*NDM, de acordo com Bradford et al., (2004) e Doyle et al., (2012), respectivamente. As reações foram submetidas à 94 °C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos a 94 °C por 1 minuto, 58 °C por 1 minuto. Os produtos da reação foram analisados em gel de agarose a 1,0% em solução de Tris/Borato/EDTA (TBE) 1x. Na aplicação no gel de agarose foram adicionados 4 µL de tampão de amostra. A eletroforese foi realizada a 100 volts, por 40 minutos. O marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen®) foi aplicado no gel para determinar o tamanho dos fragmentos obtidos. Após a corrida o gel foi adicionado à solução de brometo de etídio (0,08 µL/100 mL) por 15min e visualizado em luz ultravioleta.

5.6 Análise do Consumo de Antimicrobianos

A análise do consumo de antimicrobianos foi realizada através do controle mensal dos antibióticos utilizados na unidade neonatal discriminados pelo controle de estoque do sistema de gestão hospitalar. Foi descrito neste trabalho análises de Dias de Terapia (*Days of Therapy- DOT*) e Duração de Terapia (*Lenght of Therapy-LOT*). (ANVISA, 2027b)

Foi analisado o consumo de antibióticos através das medidas de LOT e DOT nos períodos de outubro de 2020 a abril de 2022. Uma médica pediatra infectologista passa visita semanalmente com o médico plantonista para discussões de casos e consultoria de antibióticos desde outubro de 2020.

Os dados de consumo de antibióticos para os cálculos das medidas de “LOT” e “DOT foram fornecidos através dos registros eletrônicos da farmácia.

5.7 Análise do Consumo de Álcool a 70%

O consumo de álcool para higiene das mãos foi uma das ferramentas para mensurar a adesão às medidas de prevenção de IRAS. A equipe de saúde foi motivada com educação continuada quanto a lavagem de mãos além do uso de álcool antes e após procedimentos. Foi padronizado um *checklist* de procedimentos assépticos antes da passagem de cateter venoso central, da passagem de sonda vesical de demora, e de intubação traqueal. A chefia de enfermagem em conjunto com a CCIH lançou um programa de vigilância da saúde dos funcionários observando lesões de pele e unhas e busca de inconformidades. As medidas acima citadas foram realizadas no mês de outubro de 2020. Os dados de consumo de álcool foram fornecidos pelos controles mensais da farmácia hospitalar. Foi analisado o consumo de álcool 70% nos períodos de fevereiro de 2020 a outubro de 2020, novembro de 2020 a abril de 2022.

Foi realizado o cálculo de consumo mensal de álcool por paciente-dia, baseada na fórmula: Quantidade de álcool recomendada = 20ml x número de paciente-dia/ 1000. (Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA, 2017a)

5.8 Coleta de Dados

Foram coletados os dados de prontuários de todos os RN internados na UTIN no período de outubro de 2020 a maio de 2021.

A coleta destes dados de cada paciente foi realizada mediante um questionário (Apêndice A).

Com relação ao diagnóstico de IRAS foram utilizados os critérios da ANVISA (2017; 2023), que incluem critérios clínicos e laboratoriais.

5.9 Análise Estatística

Foram tabuladas no programa Excell as variáveis idade gestacional, peso de nascimento, presença de IRAS, dias de vida de infecção, topografia da infecção, patógeno da infecção, tipo de amostra em que a infecção foi identificada, antibióticos utilizados, dias de vida de início de uso de cada antibiótico, tempo de uso de cada antibiótico, dias de vida do início da colonização, patógeno de cada colonização, tempo de internação e desfecho clínico do paciente (alta ou óbito). O cálculo dos indicadores foi de acordo com as orientações da Anvisa (2017a):

Densidade de incidência de IRAS mensal= número de IRAS: número de paciente-dia x1000

Densidade de incidência de enterocolite= número de enterocolite: número de paciente-dia x1000

Taxa de letalidade = número de óbitos por IRAS: total de IRAS x100

Taxa de colonização= número de colonizações: número de saídas x100

Os dados foram analisados através dos programas estatísticos GraphPad Prism 9.5.1 e Jamovi 2.0.0. Para o cálculo de associação com óbito foi utilizado o teste de correlação de Pearson e considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$.

5.10 Aspectos Éticos

O trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEL e do Hospital Associação Beneficente de Saúde do Noroeste do Paraná (Norospar) CAAE: 58344722.4.3001.0109, com parecer de aprovação número 5.673.991, em 30 de setembro de 2022 (Anexo A).

6. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em dois trabalhos:

Artigo/Estudo 1

“Análise dos desfechos clínicos em recém-nascidos com cultura de vigilância positiva para Bacilos Gram-Negativos”.

Artigo/Estudo 2

“Controle do consumo de antimicrobianos e de álcool a 70% em uma unidade neonatal durante um surto por *Klebsiella pneumoniae*”

ARTIGO 1

ANÁLISE DOS DESFECHOS CLÍNICOS EM RECÉM-NASCIDOS COM CULTURAS DE VIGILÂNCIA POSITIVAS PARA BACILOS GRAM-NEGATIVOS.

TÍTULO RESUMIDO:

CULTURAS DE VIGILÂNCIA EM UTI NEONATAL.

RESUMO

Introdução: a colonização por Bacilos Gram-Negativos (BGN), em especial BGN multirresistentes, tornou-se uma preocupação na área da neonatologia. Objetivos: avaliar o perfil de colonização por BGN e sua associação com infecção. Metodologia: neste estudo retrospectivo observacional foram analisadas 100 amostras de swabs nasal e retal em que foram detectadas a presença de enterobactérias, coletadas de 43 recém-nascidos de uma unidade de terapia intensiva neonatal, localizada no noroeste do Paraná, no período de outubro de 2020 a maio de 2021. As amostras foram submetidas a análise microbiológica e a sensibilidade definida de acordo com o BrCAST 2022, além de análise genotípica por meio Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Resultados: 32,5% dos pacientes da amostra nasceram com idade gestacional entre 28 e 32 semanas e com peso menor que 2.500g. A colonização por BGN ocorreu entre 7 e 95 dias de vida, mediana de 19 dias. 69,7% dos casos apresentaram infecções e colonizações mutuamente. As primeiras coletas de swabs de vigilância apresentaram grande positividade, *Klebsiella pneumoniae* foi o micro-organismo mais prevalente, presente em 50% destas, 36,4% dos micro-organismos isolados apresentou resistência a mais de duas classes de antibióticos. Observou-se ao longo do estudo a diminuição da positividade de *K. pneumoniae* nos swabs de vigilância, redução do perfil de resistência nas culturas de vigilância de 15,9% BGN resistentes aos carbapenêmicos para 2,3% e de 34,1% de BGN produtor de beta lactamase de espectro estendido para nenhum caso. Em relação aos resultados genotípicos, o gene *bla-CTXM1* foi o mais prevalente, presente em 29 amostras de colonização, seguido do gene *bla-KPC* presente em 16 amostras, o gene *bla-CTXM15* em 13 amostras, *bla-CTXM8* em 12 amostras e 2 amostras com o gene *bla-CTXM2*. Em relação à *K. pneumoniae* foram detectados os genes de resistência *bla-CTXM1*, *bla-CTXM15* e *bla-KPC* nas amostras de quatro pacientes, em dois pacientes foram detectados os genes de resistência *bla-CTXM1* e *bla-CTXM8* e em dois pacientes *bla-CTXM1* e *bla-KPC*. Observou-se diminuição da incidência de infecções relacionadas a assistência à saúde (IRAS) de 77,1/1.000 pacientes-dia para 10,8/1.000 paciente-dia e de enterocolite necrozante de 19,3/1.000 paciente-dia para zero casos. Conclusão: As informações adquiridas com as culturas de vigilância foram essenciais para avaliar o perfil de colonização por BGN multirresistente e sua associação com infecção.

Palavras-chave: *Enterobacteriaceae*, Bacilos Gram-Negativos, Infecção Hospitalar.

ABSTRACT

Introduction: colonization by Gram-Negative Bacilli (BGN), especially multidrug-resistant BGN, has become a concern in neonatology. Objectives: to evaluate the profile of BGN colonization and its association with death. Methodology: in this retrospective observational study, 100 samples of nasal and rectal swabs in which the presence of enterobacteria were detected, collected from 43 newborns of a neonatal intensive care unit, located in northwestern Paraná, from October 2020 to May 2021, were analyzed. The samples were submitted to microbiological analysis and sensitivity defined according to BrCAST 2,022, besides genotypic analysis by Polymerase Chain Reaction (PCR). Results: 32.5% of the patients in the sample were born between 28- and 32-weeks gestational age and weighed less than 2,500g. BGN colonization occurred between 7 and 95 days of life, median 19 days. 69.7% of cases presented infections and colonization mutually. The first collections of surveillance swabs showed high positivity, *Klebsiella pneumoniae* was the most prevalent microorganism, present in 50% of them, 36.4% of the isolated microorganisms showed resistance to more than two classes of antibiotics. A decrease in the positivity of *K. pneumoniae* in surveillance swabs was observed throughout the study, as well as a reduction in the resistance profile in surveillance cultures from 15.9% BGN resistant to carbapenems to 2.3% and from 34.1% of BGN producing extended spectrum beta lactamase to none. Regarding genotypic results, the *bla*-CTXM1 gene was the most prevalent, present in 29 colonization samples, followed by the KPC gene present in 16 samples, the CTXM15 gene in 13 samples, *bla*-CTXM8 in 12 samples and 2 samples with the *bla*-CTXM2 gene. Regarding *K. pneumoniae*, the resistance genes *bla*-CTXM1, *bla*-CTXM15 and *bla*-KPC were detected in the samples of four patients, in two patients the resistance genes *bla*-CTXM1 and *bla*-CTXM8 were detected and in two patients *bla*-CTXM1 and *bla*-KPC. The incidence of healthcare-associated infections (HAIs) decreased from 77.1/1,000 patient-days to 10.8/1,000 patient-days and of necrotizing enterocolitis from 19.3/1,000 patient-days to zero cases. Conclusion: The information acquired with surveillance cultures was essential to evaluate the profile of colonization by multidrug-resistant BGN and its association with infection.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, Gram-Negative Bacillus, Hospital Infection.

INTRODUÇÃO

As unidades de terapia intensiva neonatais (UTIN) recebem pacientes graves com necessidades de procedimentos invasivos, uso de cateteres venosos centrais, ventilação mecânica e uso de antimicrobianos de amplo espectro e por tempo prolongado (LOPES et al., 2008). Como consequência, da invasão sistêmica e da suscetibilidade imunológica desses pacientes, observa-se incremento nas taxas de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e de seleção de microorganismos multidroga-resistentes (MDR) (LOPES et al., 2008).

Esses recém-nascidos apresentam tendência a colonização por MDR em particular, os Bacilos Gram- Negativos (BGN). O longo tempo de permanência nas unidades neonatais bem como a prematuridade e o baixo peso favorecem a colonização por micro-organismos hospitalares (AGOSTA et al., 2022).

A disseminação clonal dos micro-organismos entre os diferentes pacientes ocorre muito facilmente. Os portadores retais assintomáticos são considerados os principais focos de disseminação de MDR, ou seja, cepas resistentes a pelo menos um agente de três ou mais categorias de antimicrobianos testados (AGOSTA et al., 2022).

O reconhecimento precoce da colonização por MDR é essencial para a implementação de medidas de controle de transmissão de paciente a paciente, além da diminuição de surtos e por conseguinte, redução da morbimortalidade (MZIMELA et al., 2021).

A colonização assintomática geralmente precede o quadro clínico de infecção. Logo, os pacientes colonizados atuam como um reservatório para a disseminação desses micro-organismos (ROBERTS et al., 2019).

Diante do exposto, o presente estudo se propôs avaliar o perfil de colonização por BGN e sua associação com infecção.

MÉTODOS

Estudo de casos, observacional retrospectivo realizado na UTI neonatal do Hospital Associação Beneficente de Saúde do Noroeste do Paraná, no período outubro de 2020 a maio de 2021. Foram adotados os critérios diagnósticos de IRAS do Ministério da Saúde do Brasil (ANVISA, 2017; ANVISA, 2023).

Os pacientes considerados neste trabalho foram todos os recém-nascidos (RN) internados. Excluídos os natimortos e recém-nascidos que evoluíram a óbito com menos de 24 horas de vida.

De acordo com a rotina da CCIH do hospital, as culturas de vigilância de todos os pacientes internados foram realizadas por meio de *swabs* de dois sítios, nasal e retal, e as coletas realizadas com intervalo de 7 dias. Com relação aos pacientes provenientes de outros serviços, foram colhidos *swabs* nasal e retal à admissão, e se negativo, semanalmente após 15 dias da internação.

Foram incluídas as amostras de *swabs* de vigilância de recém-nascidos com positividade para bactérias Gram-Negativas. O número estimado por conveniência utilizado neste estudo foi de 100 amostras, considerando uma prevalência estimada de 30% de colonização (SAPORITO et al, 2021; SAKAI et al, 2020a; SAKAI et al, 2020b) e uma média de 17 admissões/mês na UTIN no período; de outubro de 2020 a abril de 2022.

As amostras foram coletadas em meios estéreis e em meio Stuart e transportadas em maletas térmicas com temperaturas de 11 a 25°C para realização de culturas no laboratório particular de apoio da instituição.

Como rotina laboratorial, as placas de culturas microbiológicas são guardadas por 48 horas, até a liberação do resultado. Porém, as placas com amostras positivas para MDR armazenadas até 7 dias e são enviadas para confirmação no laboratório Lacen, conforme a nova nota técnica da Secretaria Estadual de Saúde do Paraná nº 823/2021. (SESA, 2021)

No laboratório do hospital do estudo foi realizada a identificação dos micro-organismos pelo método de sistema automatizado (MicroScan- auto SCAN4) e confirmação dos produtores de carbapenemases através do teste de Hodge.

No laboratório externo de apoio as amostras para culturas foram processadas de acordo com suas características. Primeiramente, semeadas em placas contendo Ágar Sangue e incubadas em estufa de 37°C por 24 a 48 horas, dependendo de seu crescimento. Conforme crescimento, foram analisadas as características das colônias e repicadas em meios seletivos: manitol para cocos Gram-positivos e Mac Conkey para BGN.

Após serem repicadas nos determinados meios, as colônias foram recolocadas em estufa a 37°C por 18 a 24 horas para crescimento. E então, as amostras foram repicadas para tubos de vidro estéreis contendo 200 microlitros de caldo de enriquecimento TSB e incubadas por 24 horas na estufa a 37°C a fim de manter as propriedades das colônias. Após todos esses processos as placas foram armazenadas em geladeira, entre 2 e 5°C.

As amostras de *swabs* de vigilância, com isolamento de BGN, foram transportadas até o laboratório de microbiologia do Hospital Universitário (HU) da Universidade Estadual de Londrina, no Paraná, em caixas térmicas de isopores, a temperaturas entre 11 e 25°C para análise microbiológica e molecular durante o período deste estudo.

A identificação dos microrganismos foi realizada fenotipicamente por metodologia manual, utilizando-se testes bioquímicos tais como: fermentação de carboidratos, produção de urease, produção de H₂S, desaminação de triptofano, descarboxilação de lisina, arginina e ornitina, produção de indol, utilização de citrato de acordo com metodologia padronizada por Jorgensen e colaboradores (2015).

A sensibilidade a antibióticos foi realizada para determinação dos mecanismos de resistência pelo método de disco difusão, de acordo com o BrCAST (BRCAS^T, 2022). A produção de ESBL foi avaliada pelo método de aproximação utilizando-se discos com os seguintes antibióticos: amoxicilina-ácido clavulânico, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima. A avaliação da resistência a carbapenens foi feita com discos de ertapenem, meropenem e imipenem.

Os Bacilos Gram Negativos multidrogas resistentes (BGN-MDR) são as enterobactérias produtoras de betalactamases de espectro estendido (ESBL) e resistentes a carbapenens (CRE) e os BGN não fermentadores como *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos (CR). (MAGIORAKOS, 2012)

Foi realizada também a análise genotípica por meio do método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) simples e multiplex. O DNA foi extraído usando o método de fervura, de três a 5 colônias foram suspensas em 0,3 ml de água ultrapura e fervido durante 10 minutos, seguido de choque térmico por 5 min. A suspensão foi centrifugada a 10.000 rpm durante 10min e o sobrenadante foi utilizado para as reações de PCR para pesquisa de ESBL e carbapenemases. As amostras que apresentaram testes fenotípicos positivos para ESBL foram caracterizadas genotipicamente por PCR, utilizando primers específicos para os grupos: *bla*CTX-M-1, *bla*CTX-M-2, *bla*CTX-M-8, *bla*CTX-M-9 e *bla*CTX-M-15, conforme descrito por Woodfort et al. (2005), sendo realizada a técnica de PCR multiplex, com as seguintes condições de amplificação: desnaturação inicial de 5min a 94°C; 30 ciclos de 25 segundos (s) a 94°C de desnaturação, 40s a 52°C para hibridização e 50s a 72°C de extensão e alongamento final de 6min a 72°C. As amostras que apresentaram os testes fenotípicos positivos para carbapenemases foram submetidas a reação de PCR para os genes *bla*KPC e *bla*NDM, de acordo com Bradford et al., (2004) e Doyle et al., (2012), respectivamente. As reações foram submetidas à 94°C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos a 94°C por 1 minuto, 58°C por 1 minuto. Os produtos da reação foram analisados em gel de agarose a 1,0% em solução de Tris/Borato/EDTA (TBE) 1x. Na

aplicação no gel de agarose foram adicionados 4 µL de tampão de amostra. A eletroforese foi realizada a 100 volts, por 40 minutos. O marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen®) foi aplicado no gel para determinar o tamanho dos fragmentos obtidos. Após a corrida, o gel foi adicionado à solução de brometo de etídio (0,08 µL/100 mL) por 15min e visualizado em luz ultravioleta.

As variáveis idade gestacional, peso de nascimento, presença de IRAS, dias de vida de infecção, topografia da infecção, patógeno da infecção, tipo de amostra em que a infecção foi identificada, antibióticos utilizados, dias de vida de início de uso de cada antibiótico, tempo de uso de cada antibiótico, dias de vida do início da colonização, micro-organismo de cada colonização, tempo de internação e desfecho clínico do paciente (alta ou óbito) foram coletadas dos prontuários e tabuladas no programa Excell®. Foram calculados os indicadores de acordo com os critérios da ANVISA (ANVISA, 2017) A taxa de colonização mensal foi definida como o número de colonizações no mês /número de saídas no mês x 100.

Os dados foram analisados por meio dos programas estatísticos GraphPad Prism 9.5.1 e Jamovi 2.0.0. Para o cálculo de associação com óbito foi utilizado o teste de correlação de Pearson e considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$.

RESULTADOS

As amostras foram coletadas de 43 recém-nascidos internados no período do estudo. (Tabela 1). A mediana de idade gestacional foi igual a 31 semanas (IQ25= 28semanas e IQ75= 34semanas) e a mediana de tempo de internação foi de 36 dias (IQ25= 26dias e IQ75= 51dias). Do total de recém-nascidos, 8 (18,6%) eram prematuros extremos (< 28 semanas de IG), 14 (32,5%) muito prematuros (de 28 até 32 semanas), 12 (27,9%) prematuros tardios (de 32 até 37 semanas) e 9 (20,9%) a termo (de 37 a 42 semanas).

A mediana de peso ao nascer foi de 1.597g. Do total, 86% (n=37) apresentaram peso menor que 2.500g, dentre eles, 13,9% (n= 6) de extremo baixo peso (<1.000g), 44,1 % (n=19) de muito baixo peso (<1.500g), 23,2% (n=10) de baixo peso (<2.500g) e 18,6% (n= 8) apresentaram peso maior que 2.500g.

A mediana de idade da primeira infecção foi de 7 dias de vida (IQ25= 1 dia e IQ75=10 dias). O diagnóstico mais frequente foi de pneumonia, com total de 20 casos (40%), sendo 13 (26,5%) pneumonias precoces e 7 (14,2%) pneumonias associadas

à ventilação mecânica, seguido de 10 casos (20%) de enterocolites necrozantes, 7 casos (14%) de infecções de corrente sanguínea, 4 casos (8%) de infecções de trato urinário, 4 casos (8%) de meningite, 1 caso (2%) de onfalite e 1 caso (2%) de endocardite.

Do total de infecções, foram isolados 4 (30,7%) *Klebsiella pneumoniae*, 2 (15,3%) *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 (15,3%) *Candida albicans*, 1 (7,6%) *Escherichia coli*, 1 (7,6%) *Enterobacter cloacae*, 1 (7,6%) *Klebsiella ozonae*, 1 (7,6%) *Serratia marcescens* e 1 (7,6%) *Staphylococcus epidermidis*.

Em uma das amostras de hemocultura com *Stenotrophomonas maltophilia* foi detectado perfil de sensibilidade alta exposição (AE) para sulfametoxazol-trimetoprima (MIC \leq 20.0).

A mediana de dias de vida da primeira colonização foi de 19 dias. Dos 43 recém-nascidos, 69,7% apresentaram infecções e colonizações e 25,5% apenas colonizações.

Com relação aos desfechos clínicos, 33 pacientes (76,7%) obtiveram alta, 2 pacientes (4,6%) foram transferidos e 8 pacientes (18,6%) foram a óbito. (Tabela 1).

K. pneumoniae foi o principal agente isolado, responsável por infecção de trato urinário, infecção de corrente sanguínea e pneumonia. Os pacientes com infecção de trato urinário e enterocolite por *K. pneumoniae* CR receberam tratamento e tiveram alta hospitalar. No entanto, um paciente com diagnóstico de pneumonia associada a ventilação mecânica por *S. maltophilia* apresentou no decorrer da internação infecção de corrente sanguínea por *K. pneumoniae* CR, com evolução para óbito, apesar do tratamento. Em contrapartida, houve um recém-nascido com diagnóstico de enterocolite com isolado de *K. pneumoniae* sensível em hemocultura, que também evoluiu a óbito.

Tabela 1. Perfil clínico e microbiológico dos recém nascidos com infecções relacionadas à assistência à saúde, 2020-2021.

Paciente	PN(g)	Topografia da infecção	MO da infecção	Amostra da infecção	Perfil de resistência do MO da infecção	Desfecho clínico
1	870	PNM	não isolado	não isolado	não isolado	alta
2	1420	PNM+ECN	não isolado	não isolado	não isolado	alta
3	1100	ITU	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	urina	CR	alta
4	1075	ECN	não isolado	não isolado	não isolado	alta
5	1430	Onfalite+PAV+ICS	<i>S. maltophilia pav/K.pneu. ics</i>	sangue	CR	óbito
6	1325	ECN+PNM	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	sangue	CR	alta
7	850	PNM+PAV+ECN	não isolado	não isolado	não isolado	alta
8	2750	Meningite+ITU	não isolado	não isolado	não isolado	óbito
9	1850	PNM+Meningite	não isolado	não isolado	não isolado	alta
10	3120	Meningite+ICS	<i>Enterobacter cloacae</i>	sangue	MR	alta
11	3830	PAV+ITU	<i>Candida albicans</i>	sangue	MR	óbito
12	940	PNM+ECN	não isolado	não isolado	S	óbito
13	1715	PNM+ICS	não isolado	não isolado	MR	alta
14	1525	PNM+ECN	não isolado	não isolado	não isolado	alta
15	960g	PNM+ECN+Endo-cardite	<i>C. albicans/S.epidermidis</i>	sangue	S	alta
16	3135	PNM	não isolado	não isolado	não isolado	alta
17	2040	ECN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	sangue	S	óbito
18	1000	meningite+pnm	não isolado	não isolado	não isolado	alta
19	1750	ICS	<i>Candida albicans</i>	sangue	S	alta
20	2850	ITU	<i>Klebsiella ozonae</i>	urina	MR	alta
21	855	PNM+ECN	nao isolado	nao isolado	nao isolado	transferido
22	1245	PVA	nao isolado	nao isolado	nao isolado	alta
23	2290	ICS+PNM	<i>E.coli</i>	sangue	S	alta

Paciente	PN(g)	Topografia da infecção	MO da infecção	Amostra da infecção	Perfil de resistência do Mo da infecção	Desfecho clínico
24	1050	PNM	não isolado	não isolado	nao isolado	alta
25	1200	PAV+ICS+ECN	<i>S. malthophilia</i>	sangue	AE-SMZ-TMP	alta
26	1340	ECN	não isolado	não isolado	não isolado	transferido
27	3405	ICS	<i>Serratia marcencens</i>	sangue	MR	alta
28	3200	PNM	não isolado	não isolado	não isolado	alta
29	1650	PVA	não isolado	não isolado	não isolado	alta

LEGENDA: PAV-PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA/ ITU- INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO/ PNM-PNEUMONIA/ ECN-ENTEROCOLITE/ ICS – INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA/ MO-MICROORGANISMO/ CR-RESISTENTE A CARBAPENÊMICOS/ MR- MULTIRRESISTENTE/ S-SENSÍVEL

Os resultados das coletas dos swabs de vigilância foram divididos conforme a data da coleta e sítio de coleta, em micro-organismos de colonização (mo col) de 1 a 6 (Gráficos 1 a 6).

Dentre os 41 micro-organismos isolados nos swabs de vigilância na primeira coleta (mo col1), *K. pneumoniae* foi o mais prevalente, em 50% das amostras, seguido de *Escherichia coli* em 13,6% e amostras negativas 6,8%. Quanto ao perfil de resistência das culturas de vigilância mo col 1, houve 36,4% MR, 15,9 % CR e 34,1% destes eram produtores de betalactamases de espectro estendido (ESBL+). Dos 30 micro-organismos isolados na segunda coleta (mo col2), a maioria foi *K. pneumoniae* 37,2%, seguido de *E. coli* 11,6% e 30,6% de amostras sem crescimento. Quanto ao perfil de resistência, houve a presença de 20,9% de MR, 9,3% de CR e 18,6% eram ESBL+. Dos 19 micro-organismos isolados na terceira coleta (mo col 3), *K. pneumoniae* foi a maioria (14%), seguida de *E. coli* (9,3 %) e houve 55,8% de amostras sem crescimento. Quanto ao perfil de resistência das culturas de vigilância mo col 3, houve 18,6% de MR, 7% CR, e 14% eram produtores de ESBL+. Dos 9 micro-organismos isolados na quarta coleta (mo col 4), *E. coli* correspondeu a maioria 7%, seguida de *K. pneumoniae* 4,7%, grande parte das amostras não apresentaram crescimento 79,1%. Quanto ao perfil de resistência das culturas de vigilância mo col 4, houve 4,7% MR, 2,3% CR e 4,7% eram produtores de ESBL+. Dos 6 micro-organismos identificados na quinta coleta (mo col 5), houve crescimento de *K. pneumoniae* 11,6%, *Serratia marcescens* 2,3%, sendo que a maioria das amostras 86% foram negativas. Quanto ao perfil de resistência das culturas de vigilância mo col 5, houve 4,7% de MR, 4,7% de CR e 7% destes eram produtores de ESBL+. Dos 2 micro-organismos isolados na sexta coleta (mo col 6), 2,3% foi *E. coli* e 2,3% foi *Enterobacter cloacae* sendo que 95,3% das amostras obtidas não apresentaram crescimento de patógenos. Destes, 2,3% foram considerados CR, não houve crescimento de MR e não houve crescimento de patógenos ESBL+.

Gráfico 1- Frequência de micro-organismos isolados de recém-nascidos na primeira coleta de swab (mo col1).

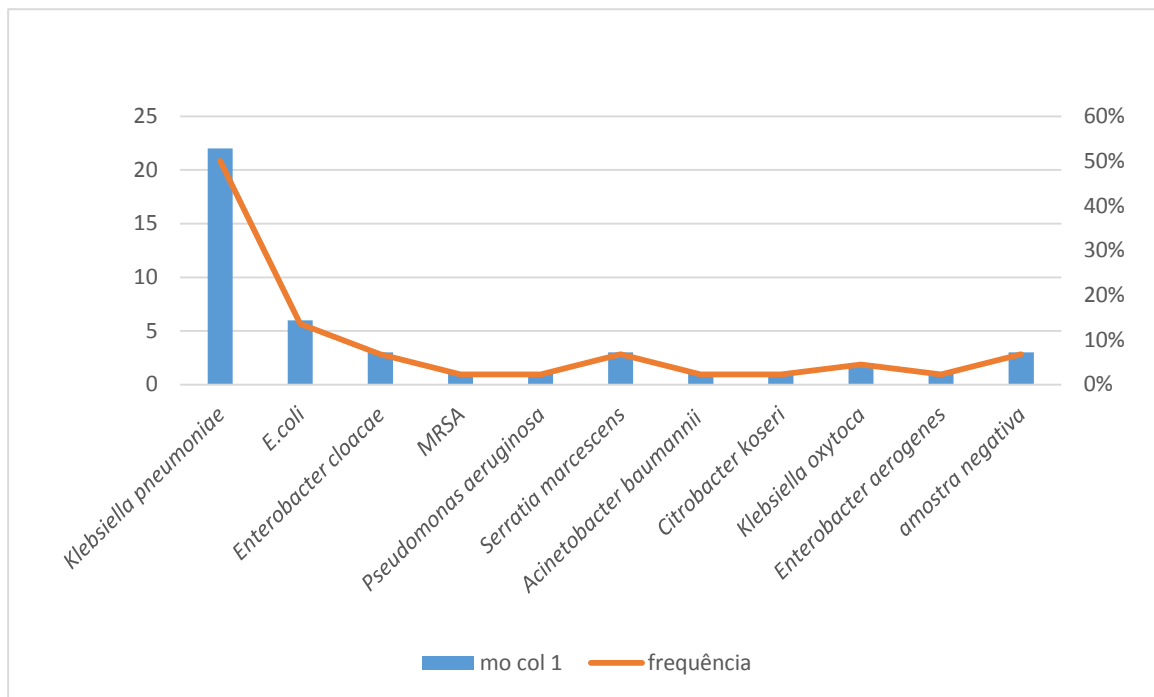


Gráfico 2. Frequência de micro-organismos isolados de recém-nascidos na segunda coleta de swab (mo col2)

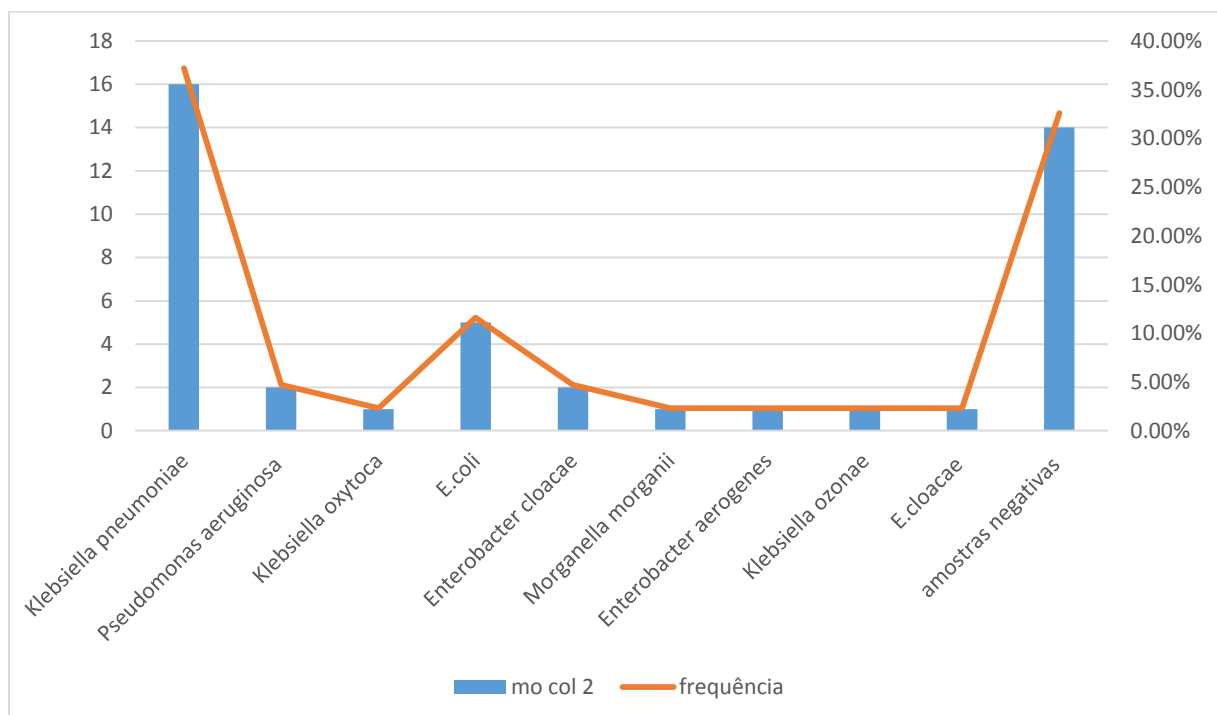


Gráfico 3. Frequência de micro-organismos isolados de recém-nascidos na terceira coleta de swab (mo col3).

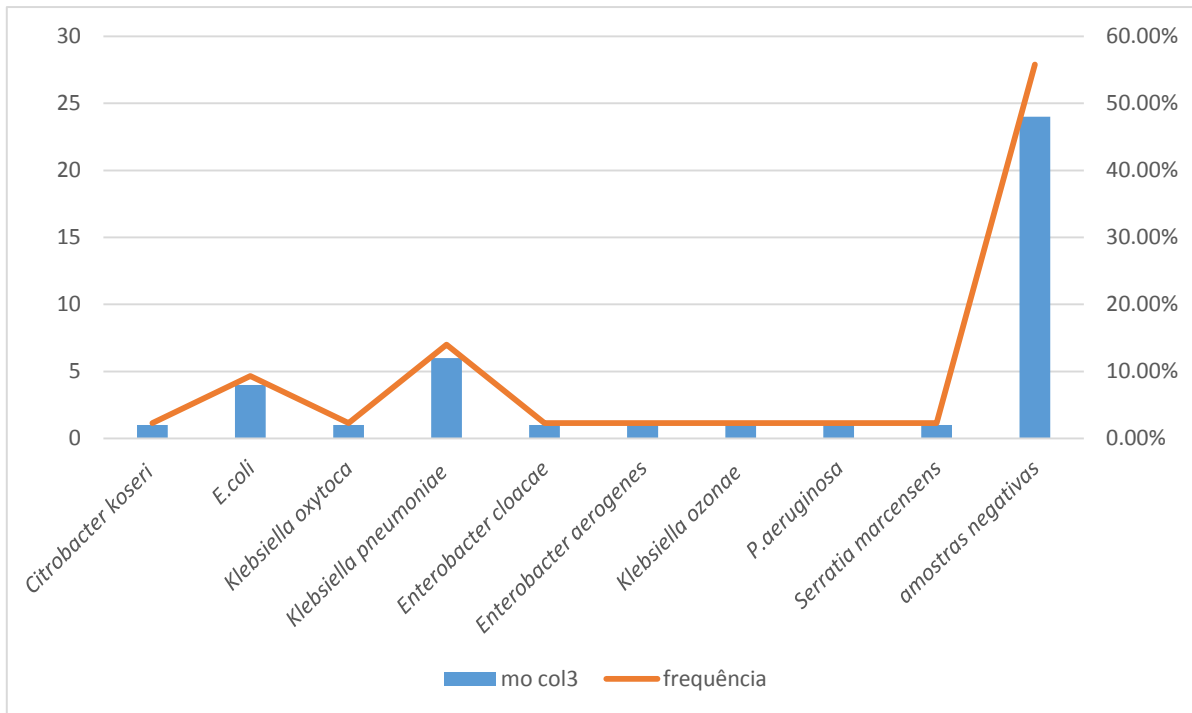


Gráfico 4. Frequência de micro-organismos isolados de recém-nascidos na quarta coleta de swab (mo col4)

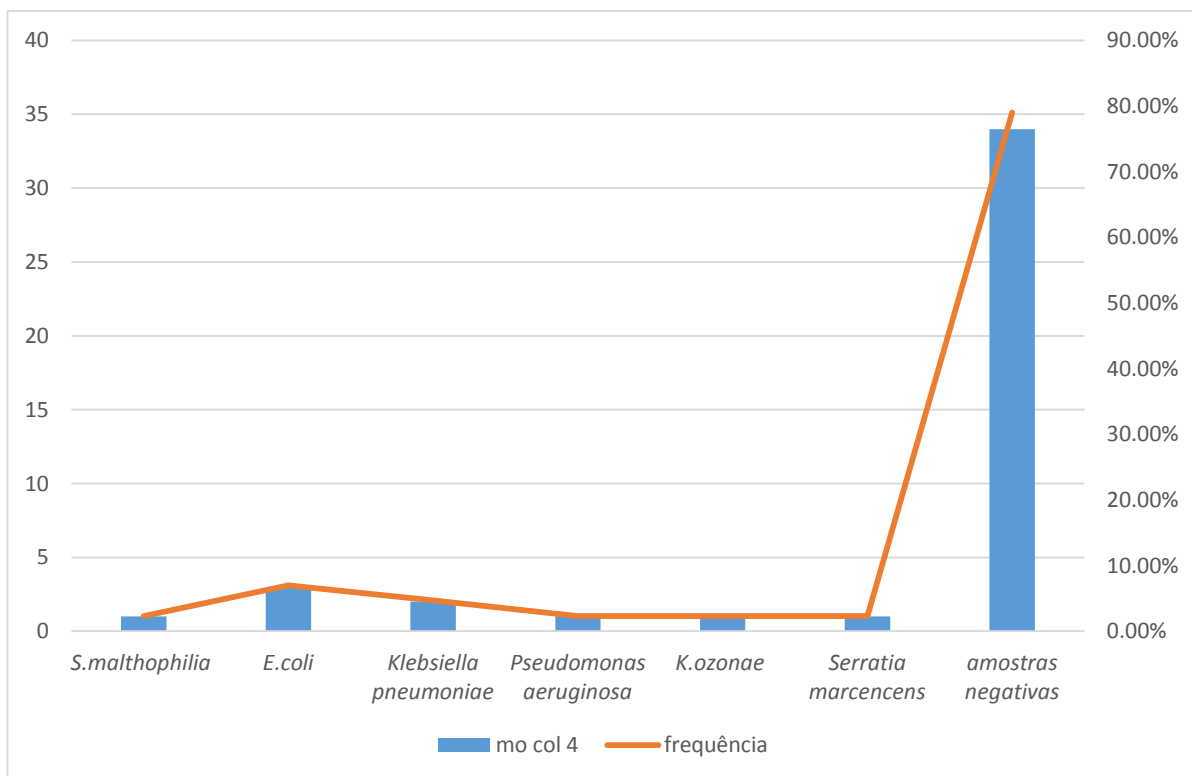


Gráfico 5. Frequência de micro-organismos isolados de recém-nascidos na quinta coleta de *swab* (mo col5).

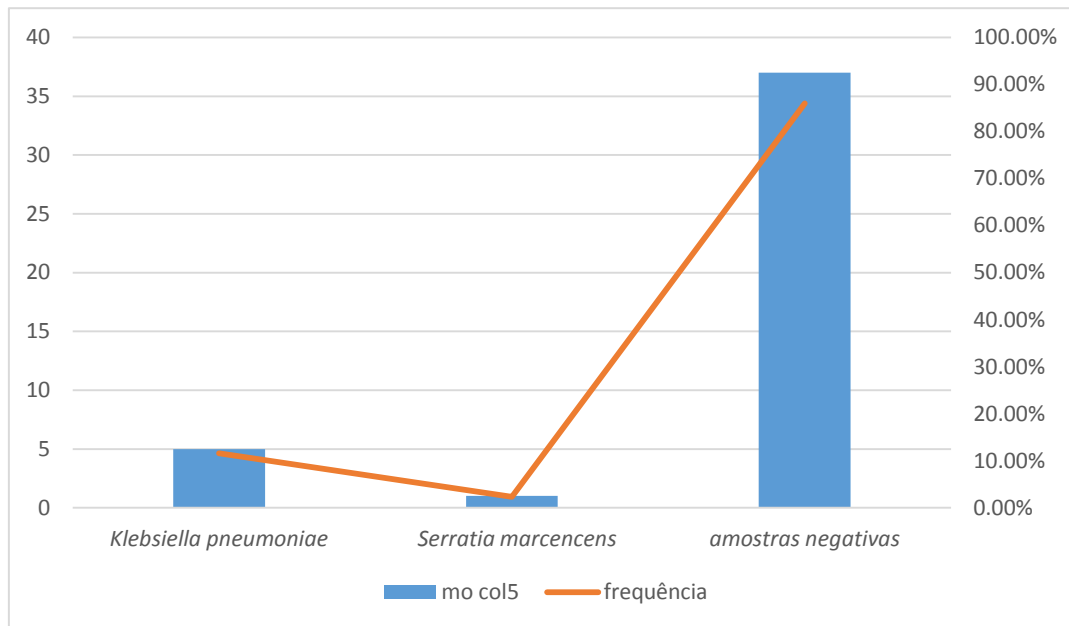


Gráfico 6. Frequência de micro-organismos isolados de recém-nascidos na sexta coleta de *swab* (mol col6).

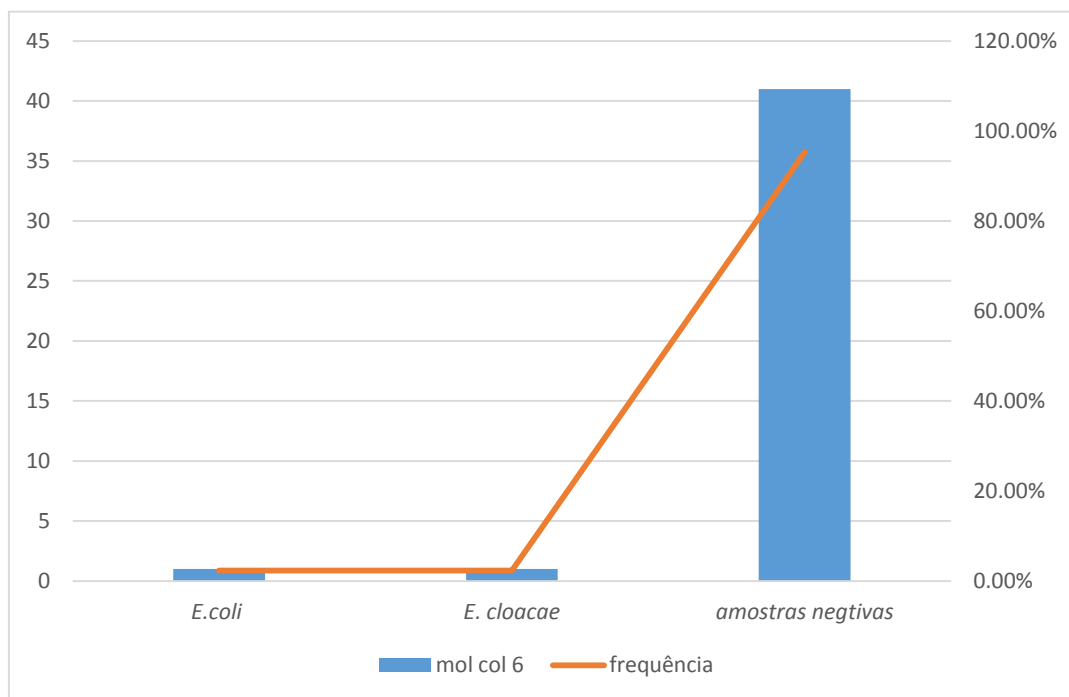
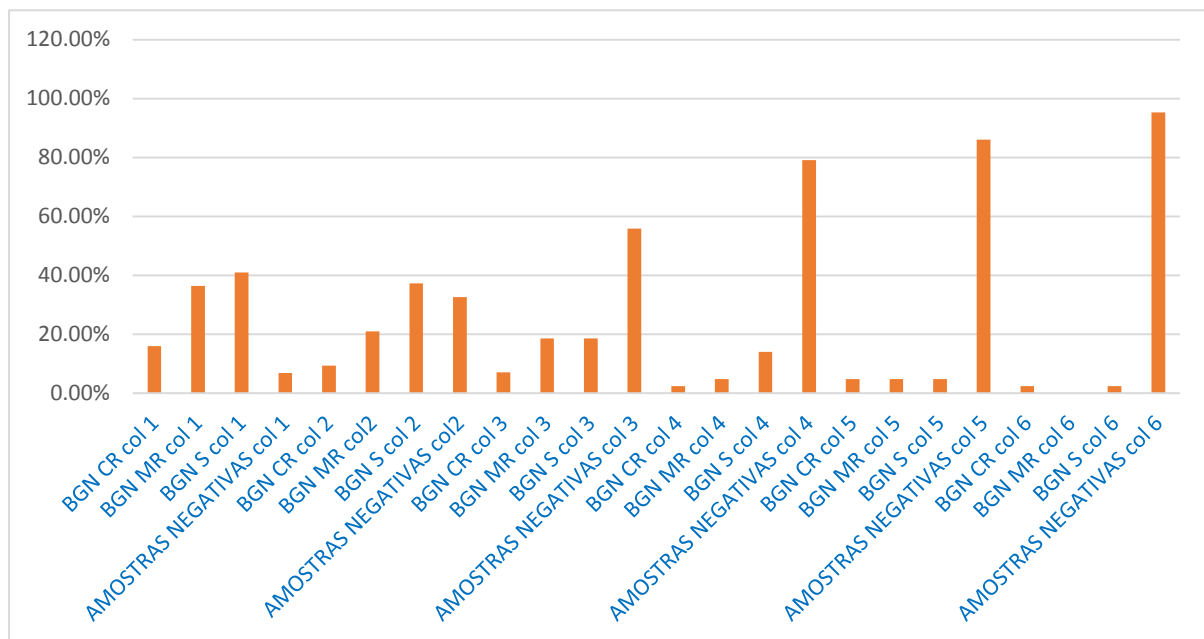


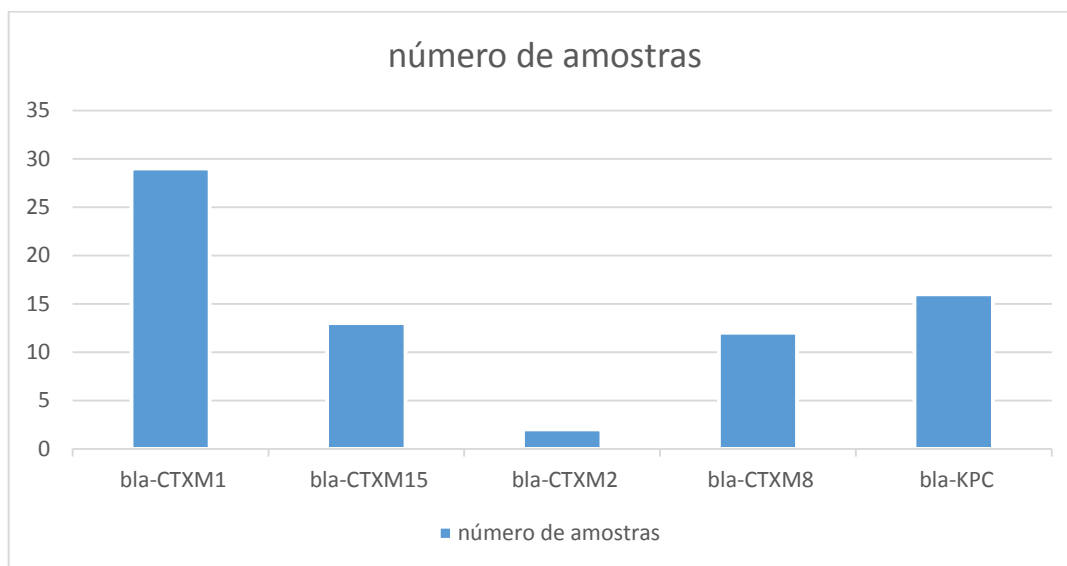
Gráfico 7. Resultado da classificação de sensibilidade aos betalactâmicos



LEGENDA: BGN CR COL- BACIOS GRAM-NEGATIVOS RESISTENTES A CARBAPENEMASES DAS COLETAS DE COLONIZAÇÕES 1,2,3,4,5,6/ BGN MR COL- BACIOS GRAM-NEGATIVOS MULTIRRESISTENTES DAS COLETAS DE COLONIZAÇÕES 1,2,3,4,5,6/ BGN S COL- BACIOS GRAM-NEGATIVOS SENSÍVEIS DAS COLETAS DE COLONIZAÇÕES 1,2,3,4,5,6/ AMOSTRAS NEGATIVAS COL- AMOSTRAS NEGATIVAS DAS COLETAS DE COLONIZAÇÕES 1,2,3,4,5,6

O gene *bla*-CTXM1 foi o mais prevalente, presente em 29 amostras (39%) de colonização, seguido do gene KPC presente em 16 amostras (21,6%), *bla*-CTXM15 em 13 amostras (17,5%), *bla*-CTXM8 em 12 amostras (16,2%) e 2 amostras (2,7%) com o gene *bla*-CTXM2 (gráfico 7). Foram encontrados quatro pacientes com a presença de *K. pneumoniae* CR com os genes de resistência *bla*-CTXM1, *bla*-CTXM15 e *bla*-KPC que receberam alta, em dois pacientes com os genes de resistência *bla*-CTXM1 e *bla*-CTXM8, sendo que um recebeu alta e o outro foi a óbito, e em dois pacientes com os genes de resistência *bla*-CTXM1 e *bla*-KPC, que também evoluíram para alta. Todos os pacientes receberam tratamento adequado, guiado por antibiograma.

Gráfico 8. Resultados genotípicos dos Bacilos Gram-Negativos de amostras de colonização.

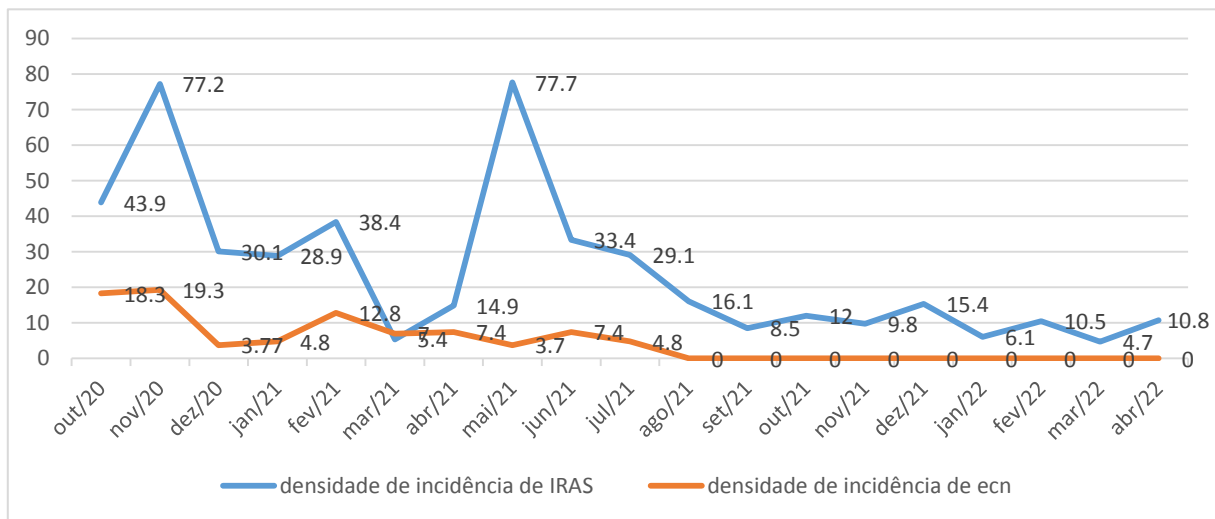


LEGENDA: *bla*-CTXM1- BETALACTAMASE ANTI-CEFOTAXIMASE 1/ *bla*-CTXM15- BETALACTAMASE ANTI-CEFOTAXIMASE 15/ *bla*-CTXM2- BETALACTAMASE ANTI-CEFOTAXIMASE 2/ *bla*-CTXM8- BETALACTAMASE ANTI-CEFOTAXIMASE 8 / *bla*-KPC-BETALACTAMASE ANTI-CARBAPENEMASE

No início do estudo ocorreu a maior taxa de IRAS, com DI de 77,2 por 1.000 paciente-dia, em novembro de 2020. No mês de maio de 2021, também se obteve densidade alta de IRAS 77,7 por 1000 paciente-dia e nos meses subsequentes houve tendência a diminuição de casos novos de IRAS.

No mês de agosto de 2021 ocorreu diminuição expressiva dos casos de enterocolite, concomitantemente com o decréscimo da densidade de incidência de IRAS. (Gráfico 9)

Gráfico 9. Comparação densidade de incidências de IRAS e enterocolite

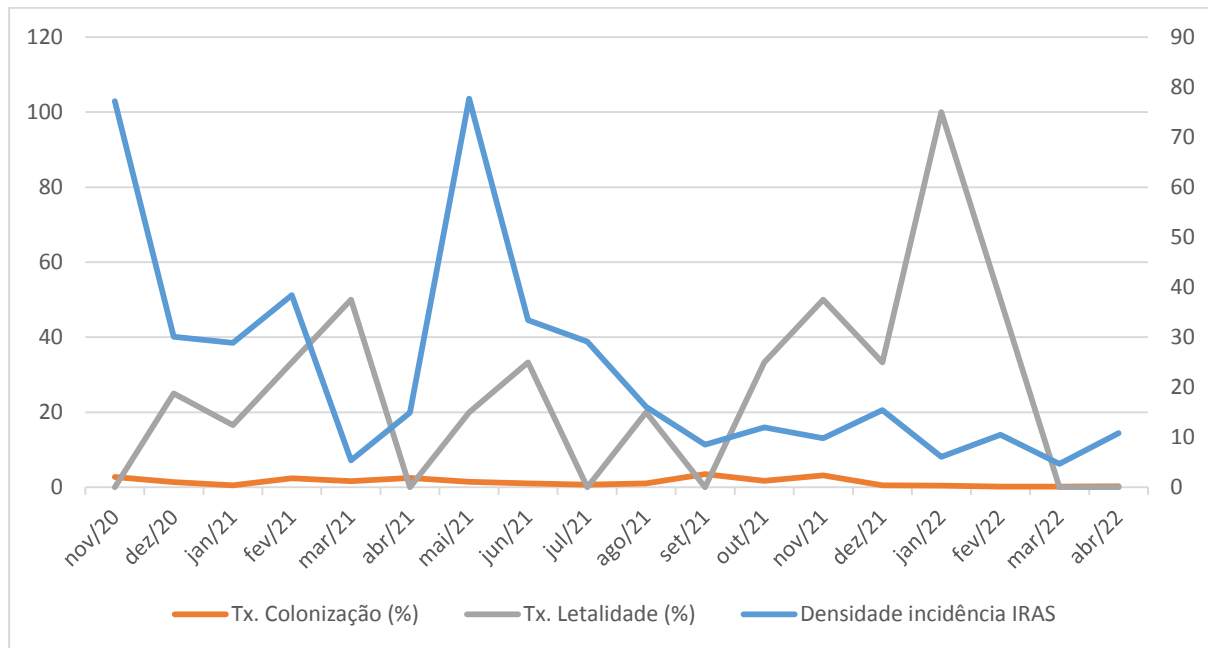


LEGENDA:IRAS-INFECÇÃO RELACIONADA A ASSISTÊNCIA A SAÚDE/ECN-ENTEROCOLITE

Observou-se diminuição do crescimento de patógenos nas coletas de swabs de vigilância ao longo do estudo. Porém, o mês de setembro de 2021 foi o mês com maior taxa de colonização 3,5% embora a taxa de letalidade foi nula. Já no mês de novembro de 2021, a taxa de colonização foi de 3,2%, associada a uma taxa alta de letalidade de 50%. (Gráfico 9).

Não houve correlação entre colonização e óbito [$r = -0,1794$ (IC95% - 0,5963 a 0,3138), $p = 0,4764$], mas houve correlação entre infecção e óbito [$r = 0,6775$ (IC95% 0,3080 a 0,8694), $p = 0,002$].

Gráfico 10. Relação entre densidade de incidência de IRAS, taxa de letalidade e taxa de colonização



DISCUSSÃO

O perfil das culturas de vigilância apresentou mudanças importantes no decorrer do período do estudo, houve diminuição significativa de *K. pneumoniae* CR e diminuição gradativa de crescimento de micro-organismos nas amostras de vigilância analisadas. Este trabalho revelou o impacto da auditoria de antibióticos sobre a positividade de BGN nas culturas de vigilância de uma UTI neonatal. A maioria dos pacientes do presente estudo foram pacientes considerados muito prematuros, características que os tornam mais predispostos a longo período de internação, colonização por MDR e IRAS.

Esse trabalho revelou a importância de um serviço de microbiologia engajado para identificação adequada dos micro-organismos envolvidos nas infecções e colonizações. A diversidade de agentes etiológicos e o alto risco de resistência antimicrobiana sugerem que melhorias nos serviços de saúde dependem do acesso a serviços microbiológicos confiáveis, devido a possibilidade de falhas terapêuticas com alternativas terapêuticas empíricas (LABI, et al 2021).

A interpretação isolada dos resultados microbiológicos para detectar eventos de transmissão é muitas vezes desafiadora, porém a identificação bacteriana é de

extrema importância para implementação de medidas de controle de infecção e de prevenção de surtos (WENDEL, et al 2022).

Os resultados das análises moleculares revelaram a transmissão de bactérias com genes de resistência para os pacientes, fortalecendo a importância do estudo das colonizações para a melhoria nos serviços de neonatologia. À semelhança da literatura, encontramos elevada frequência de BGN portadores de genes *bla*-CTXM 1, *bla*-CTX-M2 e *bla*-CTX-M 15, porém, também um elevado número de *K. pneumoniae* com gene *bla*-KPC, o que tem sido um grave problema para o tratamento de infecções por esses micro-organismos em recém-nascidos (GHADDAR et al., 2020; LUO et al., 2021).

Neste estudo, a ocorrência da primeira infecção apresentou tendência de manifestação após 7 dias de internação. As pneumonias precoces, nas primeiras 48 horas de vida, lideraram os casos, embora a enterocolite tenha sido uma causa importante de infecção, principalmente no início do estudo.

O mês de novembro de 2020 apresentou destaque a elevada prevalência de *K. pneumoniae* CR nas culturas de vigilância, associada com a maior densidade de incidência de enterocolite. A grande incidência de enterocolite na unidade motivou a realização de mudanças no lactário. A rotina de aquecimento de dieta em banho-maria que era realizada dentro da unidade neonatal foi transferida para o lactário. Todas as dietas, tanto fórmulas lácteas quanto leite materno, que a princípio eram preparadas dentro da unidade, passaram a ser elaboradas no lactário com todas as medidas de precauções e normas técnicas do rBLH - Rede Global de Bancos de Leite Humano (FIOCRUZ, 2021; GUIMARÃES et al, 2011; BRASIL, 2006).

Os recém-nascidos prematuros em terapia intensiva neonatal mostram uma colonização bacteriana intestinal com prevalência de BGN em comparação aos recém-nascidos a termo amamentados com leite materno, que abrigam principalmente bifidobactérias, que são benéficas para a colonização. Portanto, os prematuros podem ter uma duração prolongada de colonização por *K. pneumoniae* ESBL e *E. coli* ESBL, que são fontes de transmissão de MDR na unidade e são frequentemente associados a surtos (NORDBERG, et al 2018; FEBRIANI, et al 2020; SILAGO, et al 2020; MEREDITH, et al. 2021).

Os surtos de MDR são um grave problema de saúde pública, surtos causados por *K. pneumoniae* foram relatados em todo mundo, *K. pneumoniae* CR e produtora de ESBL têm sido o patógeno mais frequentes implicado em ocorrências neonatais,

com taxas de mortalidade de até 31% entre as crianças infectadas (WANG, et al 2020; LONA-REYES, et al. 2019; MZIMELA, et al. 2021; BERGLUND, et al. 2021).

Um estudo em uma unidade neonatal na China evidenciou também a grande prevalência de BGN colonizantes e a sua relação com infecções em recém-nascidos, pois, em um total de 88 recém-nascidos colonizados por *K. pneumoniae*, 44,3% (39/88) apresentaram infecção, em 71,8% (28/39) foram a causa da infecção nosocomial. Dessas, pneumonia e infecção de trato urinário corresponderam a 50% (14/28) e 42,9% (12/28), respectivamente (YIN et al., 2018).

A colonização por BGN no atual estudo ocorreu por volta do 19º dia de vida. A maioria dos casos apresentaram infecções e colonizações simultaneamente e já nas primeiras coletas de swabs de vigilância, prevaleceu *K. pneumoniae* resistente a mais de duas classes de antibióticos (MR). As Enterobactérias são prevalentes em amostras de swabs dos neonatos hospitalizados em UTIN, pois o neonato de alto risco passa a ter contato com diversos profissionais de saúde, recebe nutrição artificial e antibioticoterapia, sendo colonizado pela microbiota hospitalar em substituição à microbiota materna. (DA SILVA, et al 2022; OLIVA, et al 2021). Isso também foi demonstrado em um estudo prospectivo realizado em um centro de cuidados terciários na Sérvia, no período de dezembro de 2017 a abril de 2018, rastreou 103 recém-nascidos quanto a colonização retal na admissão e no 7º dia de vida. Dos 61 (59,2%) recém-nascidos colonizados, 12 (11,6%) estavam colonizados na admissão enquanto 49 (47,6%) foram colonizados durante a internação. Entre um total de 72 isolados MDR, as enterobactérias produtoras de ESBL prevaleceram (56/72) o que correspondeu a 77%, seguido da ocorrência da presença de *Acinetobacter* spp. (14/72) o que correspondeu a 19% dos isolados (MILIC, et al, 2021).

Em uma coorte prospectiva realizada no período de 2014 a 2018, no estado do Paraná, no Brasil, foi detectada a presença de colonização por MDR em 28% dos recém-nascidos, destes 28,9% dos recém-nascidos eram colonizados por *Klebsiella* spp; os mesmos autores encontraram também 35,9% do recém-nascidos colonizados por *Klebsiella* spp ESBL (SAKAI, et al. 2020a; SAKAI, et al. 2020b).

Outro estudo realizado em uma UTI neonatal no Rio de Janeiro no período de junho de 2016 a junho de 2017, observou que foram internados 342 neonatos na UTIN, desses 14 foram colonizados por bactérias MDR, 42,8% eram prematuros extremos, os diagnósticos mais prevalentes foram prematuridade e má formação congênita. A maioria evoluiu com bom prognóstico, 57% dos RNs foram colonizados

com MDR antes de completar 15 dias de vida, com média de colonização de 12 dias. Nas culturas de swabs nasal e retal, foram isolados BGN ESBL em 92,8% dos casos, retratando também a importância e elevada prevalência de patógenos MDR nas diversas unidades de terapia neonatal (DA SILVA, et al 2022).

Com o decorrer do atual estudo, observou-se diminuição da positividade de *K. pneumoniae* nos swabs de vigilância e aparecimento de amostras negativas já a partir das segundas coletas. Houve decréscimo ao longo do tempo de patógenos CR e ESBL, nesse período ocorreu o início de auditoria médica na unidade, mudanças de rotina de lactário, implantação de isolamento de coorte e reforço do uso de precauções de contato. Há relatos que medidas como precaução de contato, isolamento por coorte, comunicação imediata de casos com resistência à unidade, *screening* de contatos, melhoria de limpeza de ambiente e banhos com antissépticos são muito efetivas para controle de IRAS e da disseminação de micro-organismos resistentes (MAGIORAKOS, et al. 2019; BUGES, et al 2021; DRAMOWSKI et al, 2021).

Aproximadamente 80% dos resultados da quarta coleta de amostras foram negativas e nas últimas coletas, quase a totalidade das amostras foram negativas, além da redução significativa de CR e não ter a presença de patógenos MR e ESBL. Comparativamente, um programa de vigilância ativa com coleta de swabs de recém-nascidos em cinco UTI neonatais em Palermo, na Itália, evidenciou redução de colonizações por BGN após a instalação de algumas intervenções. Foi intensificada a vigilância microbiológica, sendo possível a detecção de MDR-BGN e *K. pneumoniae* ESBL (ESBL-KP) em 34,8% e 23,2% dos swabs retais, e em 24,6% e 14,5% dos swabs nasais, respectivamente. A prevalência de MDR-BGN e ESBL-KP em várias amostras (swabs, leite e chupetas) diminuiu significativamente no ano seguinte à criação de uma estratégia de intervenção em relação ao ano anterior (20,6% vs 62,2%; $p < 0,001$ e 11,1% vs 57,8%; $p < 0,001$) (SAPORITO, et al 2021).

Nos primeiros meses do atual estudo observou-se maiores taxas de densidade de incidência de enterocolite, porém a partir de agosto de 2021 não se observaram mais casos novos de enterocolite. A densidade de incidência de enterocolite revelou diminuição progressiva desde outubro de 2020, quando ocorreram as mudanças de rotinas de lactário. Concomitantemente, a densidade de incidência de IRAS apresentou um pico logo no início do estudo, em novembro de 2020, período em que houve grande positividade de BGN nas amostras de swabs de vigilância. E também um aumento entre os meses de maio 2021 e junho de 2021, período em que os casos

novos de enterocolite declinaram, porém houve aumento da incidência de outras causas de IRAS. A partir de agosto de 2021, as densidades de incidência de enterocolite se mantiveram nulas e as densidades de incidência de IRAS se mantiveram sempre abaixo da média quando comparadas às densidades de incidência de IRAS do início do estudo.

Esses dados refletiram o impacto da influência positiva da ação do controle de prescrição de antimicrobianos, com auditoria presencial, bem como mudanças de rotina, maior vigilância da adesão às precauções de contato, isolamento de coorte e lavagem de mãos.

No mês de janeiro de 2022 teve apenas um caso de IRAS, que teve desfecho clínico de óbito, logo a densidade de incidência de IRAS foi baixa, porém, a taxa de letalidade resultou alta. As taxas de colonização e letalidade se mantiveram estáveis ao longo do tempo quando comparadas às oscilações das densidades de incidência de IRAS. Atualmente, ainda há controvérsia sobre a potencial correlação entre colonização com MDR e consequente infecção pelas mesmas bactérias, o que resultaria também em aumento de taxas de letalidade (BÄR et al., 2023; AKTURK, et al. 2016; SEIDEL, et al, 2018).

Por outro lado, sabe-se que cultura de vigilância ativa contribui para a detecção precoce de MDR, permite a instituição de medidas de prevenção precoce, favorece a redução de disseminação cruzada e controle de surtos (BÄR, et al, 2023; FOLGORI, et al, 2018).

Os surtos em UTINs podem ter sérias implicações, desta forma, deve-se manter alto nível de suspeita para identificação imediata e seu controle. Levantar a hipótese de surto quando houver pelo menos dois recém-nascidos colonizados com a mesma espécie não encontrada anteriormente na unidade, ou a presença de um único caso com BGN raro, pode reduzir o número de casos e prevenir óbitos (ALMEIDA, et al 2021).

Embora não haja acordo sobre a melhor relação estratégica custo-benefício das culturas de vigilância em UTIN, uma abordagem uma vez por semana, como realizamos no presente estudo, pode garantir a observação de mudanças epidemiológicas na unidade, detectar oportunamente a importação de novas bactérias MDR e instituir medidas de precauções precocemente (GIUFFRÈ, et al 2016).

CONCLUSÃO

As informações adquiridas com as culturas de vigilância foram essenciais para avaliar o perfil de colonização existente, sendo *K.pneumoniae* o principal micro-organismo colonizante e posteriormente associar com infecção.

Diante dos desfechos clínicos deste trabalho, concluiu-se que mesmo com a presença de MDR em culturas de vigilância e em amostras de sangue e urina, a grande maioria dos pacientes foi adequadamente tratada e evoluiu para cura. Foi de extrema relevância uma análise aprimorada dos resultados de culturas de vigilância, pois a análise fenotípica e genotípica dos BGN confirmou a presença de colonização e infecção por BGN MR nos pacientes e esse conhecimento permitiu sensibilizar a equipe, que mudou o comportamento, com impacto positivo na unidade.

AGRADECIMENTOS

À equipe do laboratório de microbiologia do HU de Londrina, que processou as amostras.

REFERÊNCIAS

AGOSTA, Marilena et al. Prevalence and Molecular Typing of Carbapenemase-Producing Enterobacteriales among Newborn Patients in Italy. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, p. 431, 2022.

AKTURK, Hacer 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, p.134-140, 2016.

ANVISA. **Critérios Diagnósticos de Infecção Associada à Assistência à Saúde Neonatologia**. Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde, v. 1, 2017.

ANVISA, **Critérios Diagnósticos das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) de notificação obrigatória** para o ano de 2023.

ALMEIDA, Teresa L. et al. Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (CPE) Newborn Colonization in a Portuguese Neonatal Intensive Care Unit (NICU): Epidemiology and Infection Prevention and Control Measures. **Infectious Disease Reports**, v. 13, n. 2, p. 411-417, 2021.

BÄR, Alisa et al. Evaluating the Use of Neonatal Colonization Screening for Empiric Antibiotic Therapy of Sepsis and Pneumonia. **Antibiotics**, v.12, n. 2, p. 189, 2023.

BERGLUND, Björn et al. Clonal spread of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae among patients at admission and discharge at a Vietnamese neonatal

intensive care unit. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2021.

BRADFORD P. A. et al. Emergence of Carbapenem-Resistant Klebsiella Species Possessing the Class A Carbapenem-Hydrolyzing KPC-2 and Inhibitor-Resistant TEM-3-Lactamases in New York City. *Clinical Infectious Diseases*, v.39, n. 1, p.55-60, 1 jul.2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Segurança do Paciente em Serviços de Saúde: Higienização das Mãos**. Brasília: Anvisa, 2009. 105p.

BRASIL. RESOLUÇÃO-RDC Nº 171, de 4 de setembro de 2006. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano**. 11 p. 2006.

BRCAS. **Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**. 2022. disponível em <https://brcast.org.br/>

BUGES, Buges Mota et al. Prevention and control of infections related with health care in neonatal units/Prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde em unidades neonatais. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, v. 13, p. 403-409, 2021.

DA SILVA, Sirlene. Tempo de ocorrência da colonização de recém-nascidos por microorganismo de importância epidemiológica em unidade de terapia intensiva. *Brazilian Journal of Health Review*, v.5, n. 3, p. 10826-10840, 2022.

DOYLE, D. et al. Laboratory Detection of Enterobacteriaceae That Produce Carbapenemases. *Journal of Clinical Microbiology*, v,50, n.12, p.3877-3880, dez.2012

DRAMOWSKI, Angela et al. NeoCLEAN: a multimodal strategy to enhance environmental cleaning in a resource-limited neonatal unit. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2021.

FEBRIANI, Andi Dwi Bahagia et al. Nasopharyngeal colonization at birth and the development of early-onset neonatal sepsis. **Paediatrica Indonesiana**, v. 60, n. 6, p. 287-92, 2020.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. **rBLH - Rede Global de Bancos de Leite Humano. Normas Técnicas e Manuais**. 2021. Disponível em: <https://rbhl.fiocruz.br/normas-tecnicas-e-manuais>. Acesso em: 10 de abril de 2023.

FOLGORI, Laura 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.

GHADDAR, Nahed 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, 2020.

GIUFFRÈ, Mario 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**, v. 95, n. 10, 2016.

GUIMARÃES, Vander; ALMEIDA, João Aprígio Guerra de; NOVAK, Franz Reis. Transporte: transporte do leite humano ordenhado. In: **Normas Técnicas para o Banco de Leite Humano**. 2011.

JORGENSEN, James H.; TURNIDGE, J.D. Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. In: Jorgensen, J.H., Carroll, K.C., Funke, G., Pfaller, M.A., Landry, M.L., Richter, S.S., Warnock, D.W., Richter, S.S. and Patel, J.B., Eds., **Manual of Clinical Microbiology**, 11th Edition, American Society of Microbiology, 1253-1273. 2015. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch71>.

LABI, Appiah-Korang et al. Bloodstream Infections at Two Neonatal Intensive Care Units in Ghana: Multidrug Resistant Enterobacteriales Undermine the Usefulness of Standard Antibiotic Regimes. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 40, n. 12, p. 1115-1121, 2021.

LOPES, Gilselena Kerbauy et al. Estudo epidemiológico das infecções neonatais no Hospital Universitário de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 30, n. 1, p. 55-63, 2008.

LONA-REYES, Juan Carlos et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in enterobacteria of neonatal sepsis and associated factors. **Revista Chilena de Infectología: Organo Oficial de la Sociedad Chilena de Infectología**, v. 36, n. 4, p. 433-441, 2019.

LUO, Keren et al. Nosocomial infection by *Klebsiella pneumoniae* among neonates: a molecular epidemiological study. **Journal of Hospital Infection**, v. 108, p. 174-180, 2021.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Bactérias multirresistentes, extensivamente resistentes a medicamentos e pandroga-resistentes: uma proposta de especialistas internacionais para definições de padrões provisórios para resistência adquirida. **Microbiologia clínica e infecção**, v. 18, n. 3, pág. 268-281, 2012

MAGIORAKOS, A. P. et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 1-17, 2017.

MEREDITH, Hannah R. et al. Colonization with multidrug-resistant Enterobacteriaceae among infants: an observational study in southern Sri Lanka. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2021.

MILIC, Marija et al. Colonization with Multidrug-Resistant Bacteria in the First Week of Life among Hospitalized Preterm Neonates in Serbia: Risk Factors and Outcomes. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2613, 2021.

MZIMELA, Bongani W.; NKWANYANA, Ntombifikile M.; SINGH, Radhika. Clinical outcome of neonates with Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections at the King Edward VIII Hospital's neonatal unit, Durban, South Africa. **Southern African Journal of Infectious Diseases**, v. 36, n. 1, p. 223, 2021.

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.

OLIVA, Arlenis et al. Characterization of Neonatal Infections by Gram-Negative Bacilli and Associated Risk Factors, Havana, Cuba. **Infectious Disease Reports**, v. 13, n. 1, p. 219-229, 2021

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, 2019.

SAKAI, A. M. et al. Colonization by multidrug-resistant microorganisms of hospitalized newborns and their mothers in the neonatal unit context. **Journal of infection in developing countries**, v. 14, n. 7, p. 765–771, 2020a.

SAKAI, Andressa Midori et al. Colonization profile and duration by multi-resistant organisms in a prospective cohort of newborns after hospital discharge. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, 2020b.

SAPORITO, Laura et al. Efficacy of a coordinated strategy for containment of multidrug-resistant Gram-negative bacteria carriage in a Neonatal Intensive Care Unit in the context of an active surveillance program. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2021.

SEIDEL, J. et al. Routine screening for colonization by Gram-negative bacteria in neonates at intensive care units for the prediction of sepsis: systematic review and meta-analysis. **Journal of Hospital Infection**, v. 99, n. 4, p. 367-380, 2018.

SESA. Secretaria de Saúde do Estado do Paraná. Resolução SESA nº 823/2021. Estabelece os Microrganismos Multirresistentes de Notificação e Investigação Obrigatórias pelos Estabelecimentos de Assistência a Saúde no Estado do Paraná e os Critérios para Confirmação Diagnóstica junto ao Laboratório Central do Estado (LACEN). 4 p. 2021.

SILAGO, Vitus et al. Bacteremia in critical care units at Bugando Medical Centre, Mwanza, Tanzania: the role of colonization and contaminated cots and mothers' hands in cross-transmission of multidrug resistant Gram-negative bacteria. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2020.

WANG, Yuan et al. Genomic epidemiology of an outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST471 producing extended-spectrum β -Lactamases in a neonatal intensive care unit. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 1081, 2020.

WENDEL, Andreas F. et al. Surveillance of Enterobacter cloacae complex colonization and comparative analysis of different typing methods on a neonatal intensive care unit in Germany. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2022.

WOODFORD, Neil; FAGAN, Elizabeth J.; ELLINGTON, Matthew J. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum B-lactamases, **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 154-155, 2006.

YIN, D. et al. Clinical and molecular epidemiologic characteristics of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection/colonization among neonates in China. **Journal of Hospital Infection**, v. 100, n. 1, p. 21-28, 2018.

ARTIGO 2

Controle do Consumo de Antimicrobianos e de Álcool a 70% em uma Unidade Neonatal durante um surto por *Klebsiella pneumoniae*.

TÍTULO RESUMIDO:

Consumo de Antimicrobianos e de Álcool a 70%

RESUMO

Introdução: a utilização de antibióticos de amplo espectro e em larga escala é uma prática comum em unidades de terapia intensivas, situação que também ocorre na neonatologia. Porém, a garantia de um serviço bem estruturado e comprometido com a eficácia do tratamento das infecções depende do gerenciamento e controle do uso de antimicrobianos. **Objetivos:** analisar o consumo de antimicrobianos e de álcool a 70% em uma unidade de terapia intensiva neonatal do Paraná, e correlacionar os resultados com a presença de auditoria médica presencial no setor. **Metodologia:** Foi analisado o consumo de antimicrobianos por meio dos cálculos de DOT (*Days of therapy* - Dias de Terapia) e LOT (*Length of Therapy* - Duração de Terapia) nos períodos de outubro de 2020 a abril de 2022. Os dados de consumo de álcool de maio de 2020 a abril 2022 foram fornecidos pela farmácia hospitalar por meio de controles mensais. Foi realizado o cálculo de consumo mensal de álcool a 70% por paciente-dia, de acordo com a ANVISA. **Resultados:** observou-se que a presença do profissional auditor acarretou mudança na prescrição de antimicrobianos, com redução de prescrição de antibióticos de amplo espectro, demonstrado pela redução do DOT de meropenem de 40,9% até 100% na evolução, apesar de não ter ocorrido mudanças no LOT. A unidade apresentou consumo de álcool adequado nos meses analisados, com consumo sempre acima da quantidade média recomendada. Os períodos com menores índices de paciente-dia corresponderam a menor consumo de álcool. **Conclusão:** foi possível observar que a presença do profissional na unidade promoveu mudanças de rotinas de controle de infecção e auditoria de antimicrobianos, isso resultou em melhoria nas prescrições, demonstrado com o cálculo de DOT. Logo após o início da auditoria houve aumento do consumo de álcool e este consumo se correlacionou proporcional ao número de paciente-dia na unidade.

Palavras-chaves: Gerenciamento Clínico, Gestão de Informação, Programas de Monitoramento de Prescrição de Medicamentos, Higiene das Mãos.

ABSTRACT

Introduction: the use of broad-spectrum, large-scale antibiotics is a common practice in intensive care units, a situation that also occurs in neonatology. However, to ensure a well-structured service committed to effective treatment of infections depends on management and control of the use of antimicrobials. **Objectives:** To analyze the consumption of antimicrobials and 70% alcohol in a neonatal intensive care unit in Paraná, Brazil, and correlate the results with the presence of on-site medical audit in the sector. **Methodology:** Antimicrobial consumption was analyzed by DOT (*Days of therapy*) and LOT (*Length of Therapy*) calculations from October 2020 to April 2022. Alcohol consumption data from May 2020 to April 2022 was provided by the hospital pharmacy through monthly controls. The calculation of monthly consumption of 70% alcohol per patient-day was performed according to ANVISA. **Results:** it was observed that the presence of the professional auditor brought about a change in the prescription of antimicrobials, with a reduction in the prescription of broad-spectrum antibiotics, demonstrated by the reduction in the DOT of meropenem from 40.9% to 100% in evolution, although no changes in the LOT occurred. The unit showed adequate alcohol consumption in the months analyzed, with consumption always above the recommended average amount. The periods with lower patient-day rates corresponded to lower alcohol consumption. **Conclusion:** it was possible to observe that the presence of the professional in the unit promoted changes in infection control routines and antimicrobials audit, which resulted in improved prescriptions, demonstrated with the DOT calculation. Soon after the beginning of the audit there was an increase in alcohol consumption and this consumption correlated proportionally to the number of patient-days in the unit.

Keywords: Clinical Management, Information Management, Prescription Drug Monitoring Programs, Hand Hygiene.

INTRODUÇÃO

O uso inapropriado de antimicrobianos tem sido a principal causa de resistência em bactérias e fungos, pois acarreta a eliminação dos microorganismos sensíveis e seleção daqueles resistentes e de tratamento cada vez mais difícil (CDC, 2019). Portanto, a resistência antimicrobiana tornou-se um problema de saúde pública que deve ser amplamente controlada (PAHO e FIU, 2018). Sabe-se que antimicrobianos usados frequentemente estão se tornando ineficazes, resultando em prolongamento de internações e aumento de mortalidade (ANVISA, 2017a).

Diante desta problemática, várias medidas podem ser utilizadas para mensurar e avaliar o consumo e o uso de antibióticos em hospitais. A medida de consumo mais amplamente utilizada é a Dose Diária Definida (DDD) preconizada pela OMS (ANVISA, 2017a).

No entanto, novas medidas estão sendo adotadas para aprimoramento das análises como Dias de Terapia (*Days of Therapy* - DOT) e Duração de Terapia (*Length of Therapy* - LOT). Essas podem ser ferramentas úteis para o monitoramento e avaliação do uso de antimicrobianos em unidades de saúde (ANVISA, 2017a). Atualmente, utiliza-se mais DOT e LOT que DDD em unidades pediátricas, as doses variam conforme o peso da criança (OLIVEIRA, 2021).

Esses indicadores podem ser calculados por setor do hospital conforme a necessidade: mensalmente, trimestralmente ou até anualmente (GOYCOCHEA-VALDIVIA et al., 2022).

Para os cálculos de LOT e DOT há necessidade de prescrição eletrônica com registro da administração dos antimicrobianos. Em neonatologia, as doses variam conforme o peso e idade gestacional, com intervalos que podem variar em até alguns dias. Portanto, os resultados calculados para neonatos são diferentes dos encontrados em outras faixas etárias (GOYCOCHEA-VALDIVIA et al., 2022).

Além do controle do consumo de antimicrobianos, ressaltamos a importância da aplicação da estratégia multimodal de higiene das mãos, com enfoque nos cinco momentos de higiene das mãos e monitorização das práticas de higiene das mãos (WHO, 2009). É fundamental o conhecimento de medidas de controle de lavagem de mãos e controle de consumo de álcool nas unidades de internação, pois a melhoria das medidas de higiene de mãos reduz significativamente as taxas de IRAS e a transmissão de micro-organismos multirresistentes (MAGIORAKOS et al., 2017; BRASIL, 2009; DRAMOWISKI, et al, 2021; WHO, 2009).

Portanto, justifica-se a necessidade de obter informações sobre o consumo de álcool e de antimicrobianos, e o impacto da auditoria médica nesse consumo, a fim de implementar essa prática na rotina das atividades da comissão de controle de infecção hospitalar.

METODO

Estudo retrospectivo observacional realizado no Hospital Associação Beneficente de Saúde do Noroeste do Paraná, no período outubro de 2020 a maio de 2021.

Essa instituição de saúde é uma entidade sem fins lucrativos, possui uma maternidade regional que é referência nas áreas materno-infantil, atende consultas ambulatoriais de pré-natal, risco intermediário e risco habitual pelo convênio do

Sistema Único de Saúde (SUS). É referência no atendimento de gestação de alto risco e no atendimento de todos os municípios de abrangência da 12ª regional de saúde.

A estrutura conta com 123 leitos, sendo 10 leitos de unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN), cinco leitos de unidade de cuidados intermediários neonatal (UCI) e dois leitos de unidade canguru, todos credenciados pelo SUS. Também há dois leitos de unidade de terapia intensiva pediátrica (UTIP) também credenciados pelo SUS. A maternidade tem uma média de 250 partos mensais, sendo 190 internamentos pelo SUS.

Foi realizada a análise do consumo de antimicrobianos por meio do controle mensal dos antimicrobianos utilizados nesta unidade neonatal de um hospital do sul do Brasil.

Foi analisado o consumo de antimicrobianos com as medidas Dias de Terapia (*Days of Therapy* - DOT) e Duração de Terapia (*Length of Therapy* - LOT), no período de outubro de 2020 a abril de 2022, a fim de correlacionar os resultados de consumo de antimicrobianos a partir da admissão de médico no serviço de CCIH, em outubro de 2020, quando começou a ser realizada a auditoria de antimicrobianos no serviço.

A partir de outubro de 2020, uma pediatra infectologista realizou auditoria por meio de visitas na UTIN, semanalmente, com discussão dos casos clínicos dos pacientes internados com o médico plantonista e consultoria para orientação dos antimicrobianos a serem prescritos.

As IRAS foram definidas de acordo com os critérios do Ministério da Saúde do Brasil. (ANVISA, 2017b; ANVISA, 2023a)

Os registros eletrônicos do consumo mensal de antibióticos foram fornecidos pela farmácia hospitalar, para os cálculos das medidas de DOT e LOT.

Os cálculos foram realizados baseados nas fórmulas abaixo. (ANVISA, 2017a; ANVISA, 2023b)

Dias de Terapia (*Days of Therapy* - DOT)

O número de dias em que um paciente recebe um antimicrobiano (independentemente da dose) equivale ao DOT.

Fórmula do DOT: Número total de dias de uso de cada antibiótico x 1000

Total de pacientes-dia

Duração da Terapia (*Length of Therapy* - LOT)

O número de dias em que o paciente recebe agentes antibióticos sistêmicos, independentemente do número de fármacos, corresponde à LOT.

Fórmula da LOT:
$$\frac{\text{número total de dias de uso de todos os antibióticos} \times 1000}{\text{Total de pacientes-dia}}$$

O consumo de álcool foi uma das ferramentas utilizadas para mensurar a adesão às medidas de higiene das mãos e, portanto, de prevenção de IRAS. O início da auditoria também coincidiu com a implantação de culturas de vigilância com a coleta de swabs nasal e retal à admissão e depois semanalmente de todos os pacientes internados.

Os dados de consumo de álcool, de maio de 2020 a abril de 2022, foram fornecidos pelos controles mensais da farmácia hospitalar. Foi realizado o cálculo de consumo mensal de álcool por paciente-dia, baseado na fórmula (ANVISA, 2017b): Quantidade de álcool recomendada = 20 ml x número de paciente-dia/1000.

A equipe de saúde foi motivada com educação continuada quanto a higiene das mãos com lavagem ou uso de álcool a 70%, em especial antes e após procedimentos. Foi padronizado um *checklist* de rotina asséptica de passagem de cateter venoso, passagem de cateter vesical de demora e de intubação traqueal. A chefia de enfermagem, em conjunto com a comissão de controle de infecção hospitalar, lançou um programa de vigilância da saúde dos funcionários observando lesões de pele e unhas, em busca de inconformidades. As medidas acima citadas foram realizadas no mês de outubro de 2020.

RESULTADOS

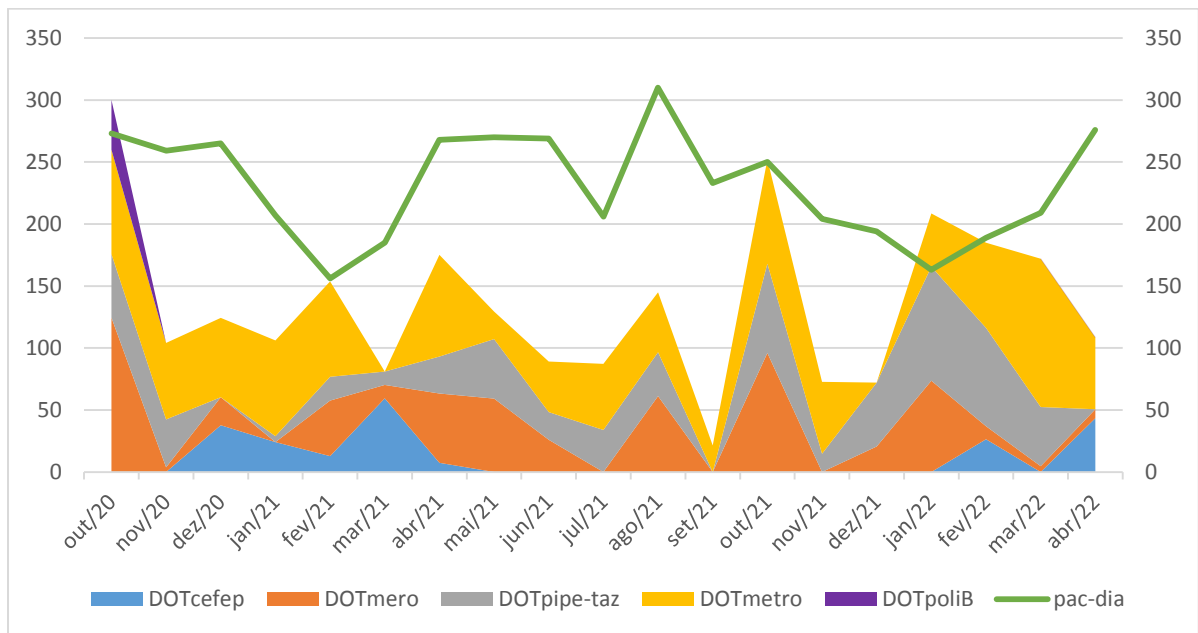
A mediana de paciente-dia no período, de outubro 2020 a abril de 2022, foi de 230 (IQ25=199 e IQ75=268).

A partir de outubro de 2020, ocorreu mudança do consumo de antibióticos, observado por meio dos resultados dos cálculos de DOT, com redução do consumo de polimixina B e de meropenem, aumento do consumo de piperacilina-tazobactam e

amicacina. (Figuras 17 e 18).

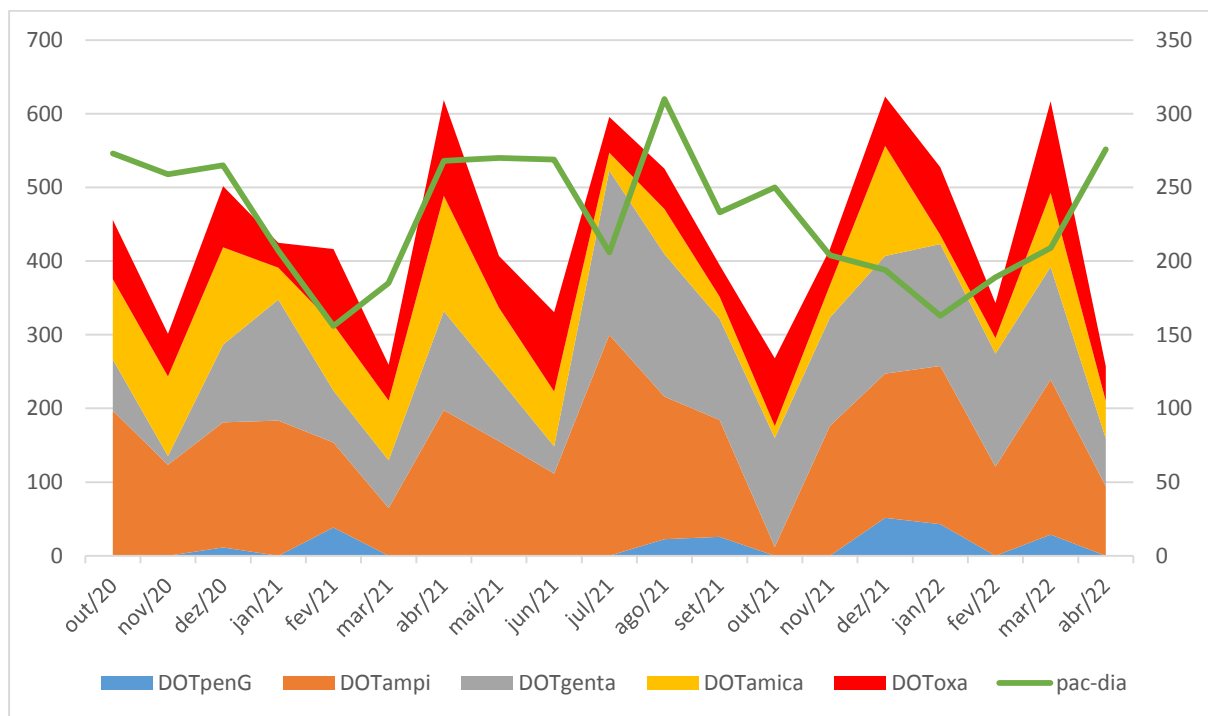
As cefalosporinas tiveram uma baixa expressão de dias de terapia (DOT) após o início da auditoria, assim como aztreonam e ceftazidima-tazobactam.

Gráfico 11 - Dias de Terapia (*Days of Therapy- DOT*) de antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções por bacilos Gram-negativos.



LEGENDA: DOT= DAYS OF THERAPY/CEFEP=CEFEPIME/MERO-MERONEM/PIPE-TAZ=PIPERCILINA-TAZOBACTAM/POLIB==POLIMIXINA B/PAC-DIA=PACIENTE-DIA

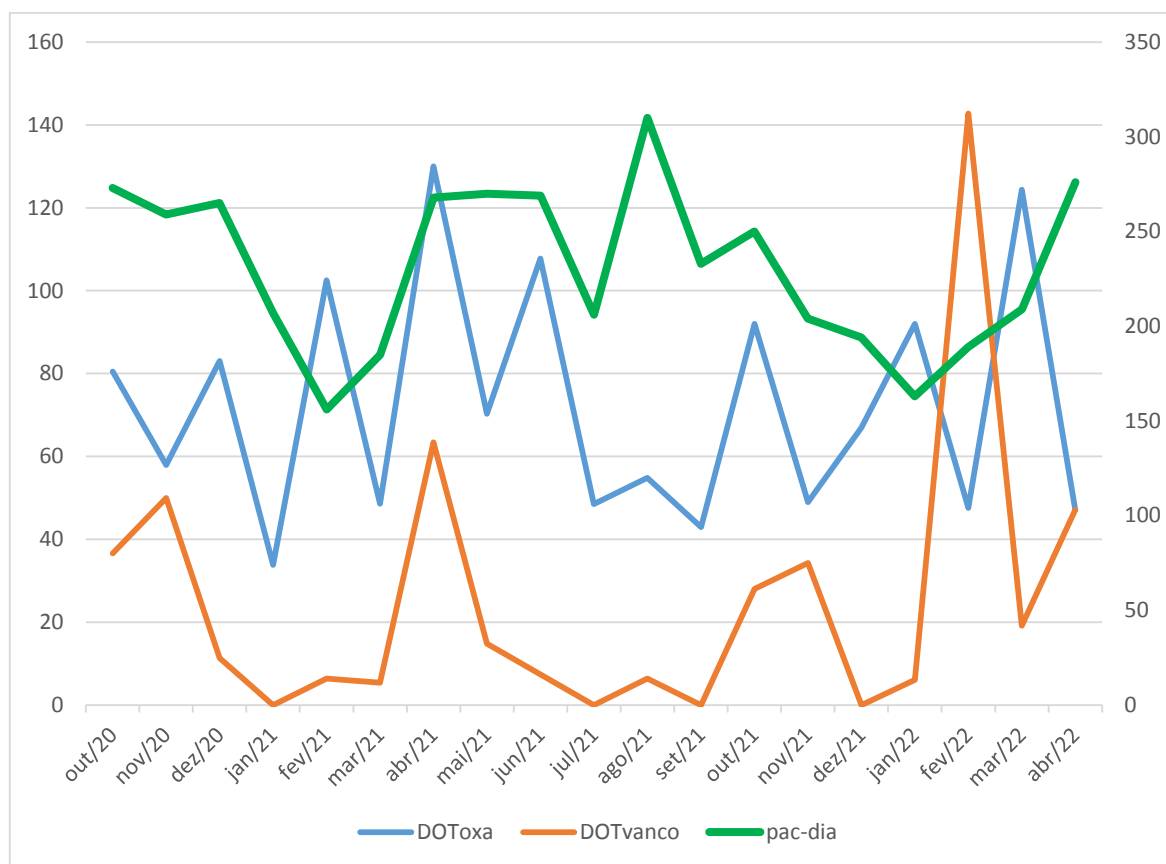
Gráfico 12. Dias de Terapia (*Days of therapy - DOT*) de antibióticos utilizados no tratamento empírico de infecções em recém-nascidos.



LEGENDA: PENG=PENICILINAGCRISTALINA/AMPI=AMPICILINA/GENTA=GENTAMICINA/OXA=OXACILINA/PAC-DIA= PACIENTE -DIA

Em março de 2021 e fevereiro de 2022 ocorreu aumento do DOT de vancomicina, enquanto o DOT de oxacilina se manteve constante. (Gráfico 13)

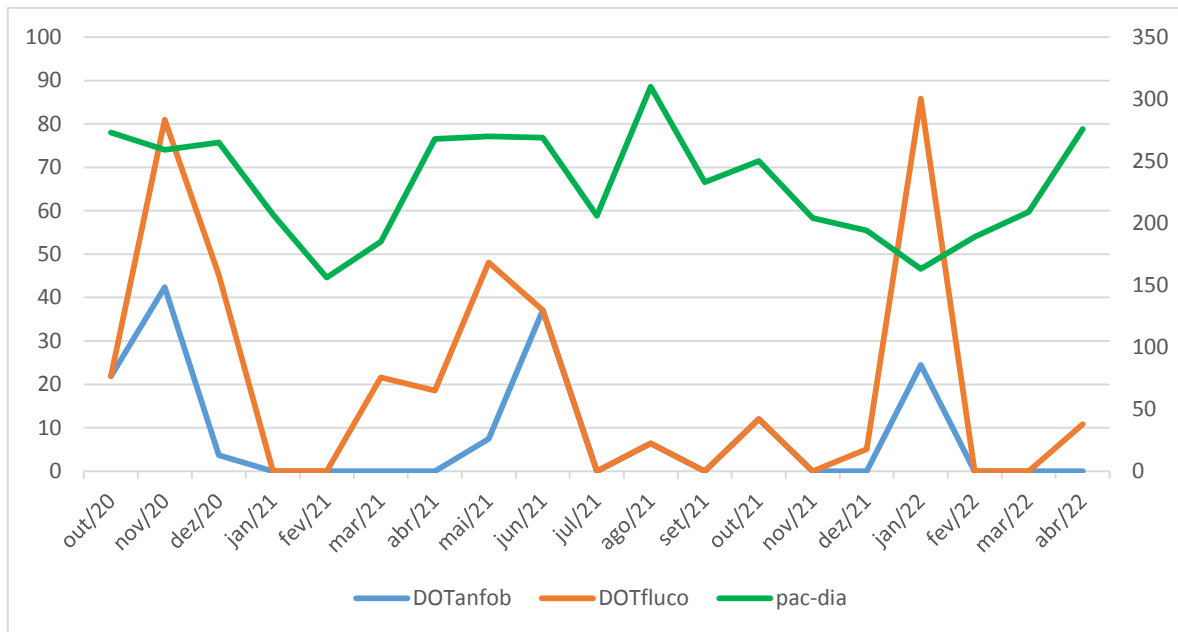
Gráfico 13. Dias de Terapia (*Days of Therapy - DOT*) de antibióticos utilizados no tratamento de infecções por bactérias gram-positivas.



LEGENDA: OXA=OXACILINA/VANCO=VANCOMICINA/PAC-DIA=PACIENTE-DIA

Em relação aos antifúngicos, aumentou o DOT de fluconazol em concomitância com o aumento de Anfotericina B. (Gráfico 14)

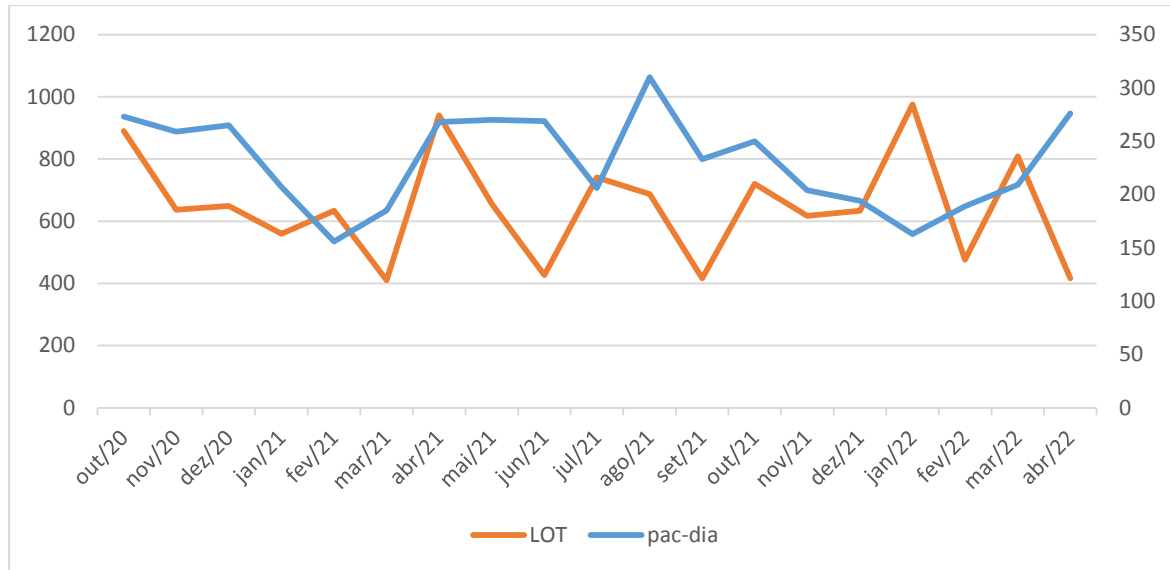
Gráfico 14. Dias de Terapia (*Days of Therapy- DOT*) de antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções fúngicas.



LEGENDA: ANFOB= ANFOTERICINAB/FLUCO-FLUCONAZOL/PAC-DIA=PACIENTE-DIA

A duração da terapia com antibióticos apresentou um pico no início do estudo, em outubro de 2020, depois houve um declínio na duração da terapia antimicrobiana até fevereiro de 2021, embora neste mês também foi verificada diminuição no número de paciente-dia. De abril de 2021 a abril de 2022 a duração da terapia apresentou mediana de LOT igual a 637. (Gráfico 15).

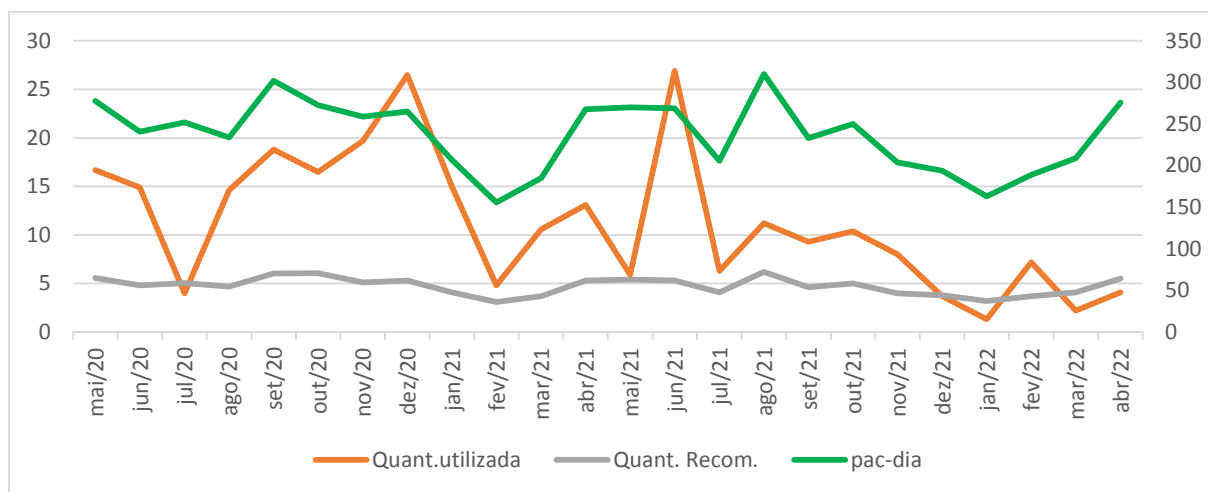
Gráfico 15. Duração da terapia com a utilização do LOT (*Length of Therapy*) para o tratamento de infecções neonatais.



LEGENDA: PAC-DIA=PACIENTE-DIA/LOT= *Length of Therapy*

O consumo de álcool apresentou oscilações durante o estudo, com um aumento significativo entre novembro e dezembro de 2020, que foram os meses iniciais da auditoria de antibióticos na unidade. Observou-se que nos meses anteriores à aplicação da auditoria, em maio, junho e julho de 2020, o consumo era mais baixo chegando quase abaixo da quantidade média recomendada. Porém, houve uma diminuição significativa no consumo de álcool nos últimos meses de 2022. (Gráfico 16).

Gráfico 16. Consumo de álcool na unidade neonatal.



LEGENDA: QUANT.UTILIZADA= QUANTIDADE UTILIZADA/QUANT.RECOM.=QUANTIDADE RECOMENDADA

DISCUSSÃO

A análise evidenciou que na UTI neonatal do presente estudo, os pacientes se mantiveram expostos a antimicrobianos com grande frequência, em especial antibióticos de amplo espectro no início do estudo, durante um surto de enterocolite que a unidade estava vivenciando.

As elevadas incidências de sepse tardia e enterocolite necrotizante, que resultam em altas taxas de mortalidade, têm sido associadas à exposição prévia prolongada a antimicrobianos (RUSSEL, et al, 2021; MOROWITIZ,et al, 2022).

Observou-se aumento nos dias de exposição aos antibióticos (DOT) a partir de outubro de 2020, momento em que se iniciou a auditoria. Nos meses de novembro de 2020 e dezembro de 2020, houve intenso uso do aminoglicosídeo amicacina. O DOT mais elevado de amicacina pode ser justificado pelo surto de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos, que estava ocorrendo na unidade neonatal. Com a auditoria, ocorreu mudança de prescrição na unidade, com de-escalamento de polimixina B e meropenem para amicacina. No decorrer do período, além do aumento do uso de amicacina, ocorreu também aumento de consumo de piperacilina-tazobactam, relacionado à diminuição do uso de carbapenêmicos. (Gráficos 11 e 12)

A estratégia de tratamento empírico de emergência com antibióticos de largo espectro não exclui a necessidade de confirmação diagnóstica, uma vez que esse

procedimento é um determinante para implementação da terapia adequada posterior. Desta maneira, a terapia empírica deve ser utilizada em média por um período de 72 horas, que é o tempo necessário para conclusão das análises microbiológicas e liberação do perfil de sensibilidade dos micro-organismos isolados. Esta medida contribui posteriormente para o de-escalamento e diminuição do uso abusivo e desnecessário de esquemas antibióticos de largo espectro (LIMA, et al 2020; SALSABILA, et al, 2022).

Os antibióticos mais utilizados foram ampicilina e gentamicina, pois são utilizados rotineiramente como terapia empírica para sepse precoce. Essa associação apresenta boa cobertura para a micro-organismos colonizam o canal de parto, baixa toxicidade e baixa indução de resistência. A organização mundial da saúde (OMS) recomenda o uso de gentamicina com ampicilina ou benzilpenicilina como tratamento de primeira escolha para sepse neonatal precoce, terapia destinada a cobertura de patógenos de microbiota materna e altamente efetiva (WEN, et al, 2021).

Houve aumento também do uso dos antifúngicos fluconazol e anfotericina B após o início da auditoria, provavelmente relacionado ao aumento de antibióticos de amplo espectro durante o surto de KPC. Em um recente estudo multicêntrico, as drogas antifúngicas foram prescritas em 35% das sepSES tardias. A antibioticoterapia prolongada e exposição a antibióticos de amplo espectro está relacionada à alta prevalência de infecções fúngicas nosocomiais. Isto destaca a necessidade de desenvolver abordagens ainda mais eficazes de prevenção de sepse fúngica tardia (LIU, et al 2021).

Um estudo realizado por Newland e colaboradores demonstrou a importância da auditoria dos antibióticos. Esse estudo, cujos objetivos foram descrever uma metodologia prospectiva de auditoria com “*feedback*” para a equipe de um hospital infantil e avaliar o impacto desse programa no atendimento ao paciente, demonstrou que, após implementação da auditoria, com a frequência de três vezes por semana, houve redução na utilização dos antibióticos (OLIVEIRA, 2021).

Como resultados, esses autores demonstraram que o uso total de antibióticos diminuiu de 883 DOT por 1.000 pacientes-dia antes da implementação da auditoria para 787 DOT por 1.000 pacientes-dia ($p < 0,001$). Como conclusão, o estudo mencionou que a implementação da auditoria é viável, pois, permitiu a identificação de áreas para melhoria de qualidade de forma direcionada, além de demonstrar

redução no uso dos antibióticos, sem afetar negativamente os pacientes (OLIVEIRA, 2021).

Em um estudo de coorte transversal, com 870 recém-nascidos admitidos em uma UTI neonatal, foram observados 45 pacientes com infecções de corrente sanguínea por patógenos MDR. A resistência encontrada para as enterobactérias foi de 100% para cefepima e ceftazidima; com relação aos BGN não fermentadores, 100% das amostras com *Pseudomonas* spp. foram resistentes a Aztreonam e 100% das amostras com *Stenotrophomonas maltophilia* foram resistentes a ceftazidima e gentamicina. Esses resultados são preocupantes e expressam a importância de uma correta monitoria antimicrobiana, além da necessidade de implementação de protocolos propedêuticos em consenso entre a equipe multiprofissional e o comitê de infecção hospitalar dos serviços (LIMA, et al 2020).

A presença de BGN-MDR é um desafio crescente nas UTINs devido às restrições de opções de tratamento disponíveis. Portanto, a tendência epidemiológica ascendente desses micro-organismos é uma ameaça significativa para os pacientes, em especial para os recém-nascidos de alto risco (GIUFFRÉ, et al, 2016; LABI, et al, 2021).

Apesar de mudanças de classes de antimicrobianos prescritos, observou-se neste estudo que, mesmo com a presença do profissional auditor, não houve mudança da duração de terapia antimicrobiana. Um estudo realizado em uma unidade de terapia intensiva neonatal na Alemanha, analisou dados microbiológicos de neonatos à admissão na unidade e depois semanalmente, com a coleta de swabs de vigilância de dois sítios. A colonização com bactérias Gram-negativas multidrogas resistentes e *Serratia marcescens* foi comparada com os achados microbiológicos de pacientes com sepse e pneumonia. Foram incluídos 52 casos de sepse e 55 casos de pneumonia. Desses, 19,2% dos pacientes com sepse e 34,5% dos pacientes com pneumonia apresentaram colonização com bactérias Gram-negativas multidrogas resistentes ou *Serratia marcescens*. Nestes pacientes, a sepse não foi atribuída a bactérias gram-negativas multidrogas resistentes e *Serratia marcescens*, enquanto em dez pacientes com pneumonia foram identificadas bactérias gram-negativas multidrogas resistentes e em um paciente foi identificada *Serratia marcescens*. Este estudo concluiu que realizar *screening* de colonização foi útil como ferramenta para implementar as medidas de precaução e isolamento, com separação do recém-nascidos em distintas áreas físicas, de acordo com o micro-organismo isolado. Porém,

esses autores concluíram que o *screening* resultou em maior promoção de uso de terapia antimicrobiana (LOT), com risco de elevar a prescrição de antibióticos de última linha (BÄR et al., 2023).

A maioria dos pacientes de UTIN requer vários esquemas antibióticos terapêuticos durante a sua longa permanência, e o efeito cumulativo da exposição a esses tratamentos interfere no estabelecimento de uma microbiota intestinal normal (LI, et al 2017). Por outro lado, o tratamento antimicrobiano prolongado com agentes de amplo espectro e não direcionado por resultado de culturas, são fatores de risco para o aumento de infecções por patógenos MDR. Portanto, esforços que limitem a prescrição de agentes de amplo espectro, promovendo tratar o patógeno e não a colonização, têm efeito benéfico na prevenção do surgimento de bactérias MDR (CLOCK,et al 2017).

O fortalecimento de protocolos terapêuticos bem definidos para o uso de antibióticos de largo espectro, como a associação de vancomicina e meropenem, devem ser reservados para situações de sepse tardia com alterações laboratoriais bem estabelecidas como leucopenia ou leucocitose, proteína C reativa alta e, também, para recém-nascidos que foram transferidos de outro hospital (YUSSEF et al, 2017).

Quanto ao consumo de álcool, com a presença do médico auditor ocorreu maior vigilância e mudanças de rotina na unidade e observou-se aumento do consumo de álcool no início do estudo. Em apenas dois períodos, julho de 2020 e de janeiro a março de 2022, a quantidade de álcool utilizada ficou abaixo da média recomendada. Cabe ressaltar que, nos períodos com menos paciente-dia corresponderam ao menor consumo de álcool. Outros estudos observacionais em UTI neonatal relataram o impacto da higiene das mãos com álcool a 70% na redução das taxas de infecção em até 50% e de transmissão de micro-organismos MR entre os pacientes (LAM; LEE; LAU, 2004; WON et al. 2004). Porém, a redução das taxas encontradas no presente estudo foi maior e com maior diminuição de detecção de MR nos recém-nascidos no decorrer do tempo.

Como limitações do presente estudo, não foi possível comparar os dados de DOT e LOT prévios ao início da auditoria, pois, devido a falha técnica no software de armazenamento de dados da farmácia, os dados do consumo de antibióticos do período de julho de 2020 a setembro de 2020 não estavam disponíveis.

Porém, o estudo retratou o saldo positivo da auditoria de antimicrobianos em uma unidade neonatal, diante de um cenário mundial em que o uso abusivo de

antibióticos é muito frequente. A presença do médico auditor evidenciou uma mudança do consumo de algumas classes de antibióticos, com maior prescrição das primeiras escolhas de tratamento.

O enfoque do consumo de antibióticos provou conseguir retratar o cenário da unidade estudada e incentivou a equipe a buscar melhorias na diminuição do consumo de antibióticos, a fim de minimizar os riscos de resistência antimicrobiana bem como seus efeitos adversos ao paciente hospitalizado.

CONCLUSÃO

Em conclusão, a auditoria de antimicrobianos, o conhecimento do consumo de álcool e mudanças de rotina podem interferir nos resultados de DOT e LOT.

Foi possível observar que a presença do profissional auditor na unidade promoveu mudanças de rotinas de controle de infecção e de prescrição de antibióticos, isso resultou em melhoria nas prescrições, demonstrado com o cálculo de DOT. Logo após o início da auditoria houve aumento do consumo de álcool e este consumo se correlacionou proporcional ao número de paciente-dia na unidade.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Diretriz Nacional para Elaboração de Programa de Gerenciamento do Uso de Antimicrobiano em Serviço de Saúde, 2017a.

ANVISA. Critérios Diagnósticos de Infecção Associada à Assistência à Saúde Neonatologia. Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde, v. 1, 2017b.

ANVISA, Critérios Diagnósticos das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) de notificação obrigatória para o ano de 2023, 2023a.

ANVISA, Orientações para Vigilância das Infecções Relacionadas à assistência à Saúde (IRAS) e resistência microbiana em serviços de saúde, 2023b.

BÄR, Alisa et al. Evaluating the Use of Neonatal Colonization Screening for Empiric Antibiotic Therapy of Sepsis and Pneumonia. **Antibiotics**, v.12, n. 2, p. 189, 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Segurança do Paciente em Serviços de Saúde: Higienização das Mãos. Brasília: Anvisa, 2009. 105p.

CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019.

CLOCK, Sarah 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.

DRAMOWSKI, Angela et al. NeoCLEAN: a multimodal strategy to enhance environmental cleaning in a resource-limited neonatal unit. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2021.

FOLGORI, Laura 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.

GIUFFRÈ, Mario 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**, v. 95, n. 10, 2016.

GOYCOCHEA-VALDIVIA, Walter Alfredo et al. Posicionamiento de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica sobre la implementación, ejecución y monitorización de los programas de optimización de uso de antibióticos en pediatría hospitalaria. **Anales de Pediatría**. Elsevier Doyma, p.351. e 1-351. e 12, 2022.

LABI, Appiah-Korang et al. Bloodstream Infections at Two Neonatal Intensive Care Units in Ghana: Multidrug Resistant Enterobacteriales Undermine the Usefulness of Standard Antibiotic Regimes. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 40, n. 12, p. 1115-1121, 2021.

LAM, Barbara C.; LEE, Josephine; LAU, Y. L. Hand hygiene practices in a neonatal intensive care unit: a multimodal intervention and impact on nosocomial infection. **Pediatrics**, v. 114, n. 5, p. 565-571. 2004.

LI, Xuan et al. Risk factors for infection and/or colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the neonatal intensive care unit: a meta-analysis. **International journal of antimicrobial agents**, v. 50, n. 5, p. 622-628, 2017.

LIMA, Flávio Henrique Alves de et al. Multiresistant microorganism infection in newborns at an intermediate neonatal care unit and intensive care unit of reference: cross-sectional study. **Bioscience Journal. (Online)**, p. 2307-2314, 2020.

LIU, Jing et al. Pathogens distribution and antimicrobial resistance in bloodstream infections in twenty-five neonatal intensive care units in China, 2017–2019. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2021.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 1-17, 2017.

MOROWITZ, Michael J. et al. The NICU Antibiotics and Outcomes (NANO) trial: a randomized multicenter clinical trial assessing empiric antibiotics and clinical outcomes in newborn preterm infants. **Trials**, v. 23, n. 1, p. 1-16, 2022.

OLIVEIRA, Cinara Rejane. Consumo de Antibióticos em Unidades de Terapia Intensiva Neonatais: Resistência bacteriana x Ações de Racionalização. *Revista Saúde.com*, v.17, n, 3, 2021

RUSSELL, Jordan T. et al. Antibiotics and the developing intestinal microbiome, metabolome and inflammatory environment in randomized trial of preterm infants. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p.1-16, 2021.

SALSABILA, Khansa et al. Early-onset neonatal sepsis and antibiotic use in Indonesia: a descriptive, cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 22, n. 1, p. 1-12, 2022.

SAFETY,WHO Patirnt et al. Guia de Aplicación de la Estrategia Multimodal de la OMS Para la Mejora de la Higiene de las Manos. Ministerio de sanidad, Política Social e igualdad, 2010.

YUSSEF, Dawood et al. Clinical characteristics and epidemiology of sepsis in the neonatal intensive care unit in the era of multi-drug resistant organisms: a retrospective review. **Pediatrics & Neonatology**, v. 59, n. 1, p. 35-41, 2018.

WEN, Sophie CH et al. Gram-negative neonatal sepsis in low-and lower-middle-income countries and WHO empirical antibiotic recommendations: A systematic review and meta-analysis. **PLoS medicine**, v. 18, n. 9, p. e1003787, 2021.

WHO. **WHO Multimodal Hand Hygiene Improvement Strategy**. Genebra: Suíça. 48 p. 2009.

WOODFORD, Neil; FAGAN, Elizabeth J.; ELLINGTON, Matthew J. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum B-lactamases, **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 154-155, 2006.

WON, Sau-Pin et al. Handwashing program for the prevention of nosocomial infections in a neonatal intensive care unit. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 25, n. 9, p. 742-746. 2004.

9. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que *K. pneumoniae* foi o micro-organismo mais prevalente entre as amostras de *swabs* de vigilância coletadas dos recém-nascidos.

O gene CTXM1 foi o mais prevalente, seguido dos genes *bla*-KPC, *bla*-CTXM15 e *bla*-CTXM8.

Enterocolite necrosante foi a infecção mais frequente no início do estudo, porém depois prevaleceu as pneumonias.

Com o conhecimento dos micro-organismos colonizantes, foi possível sensibilizar a equipe de saúde e realizar auditoria prospectiva de antibióticos, além da implantação de várias medidas de prevenção de IRAS. Com essas medidas ocorreu redução das taxas de colonização e de IRAS.

Houve correlação entre infecção e letalidade, portanto, as medidas de prevenção de IRAS foram importantes para o impacto positivo nos pacientes.

Com a auditoria, ocorreu mudança das prescrições, com menor consumo de antibióticos de amplo espectro, como meropenem e polimixina B. Além de priorizar a utilização de ampicilina com gentamicina e de amicacina, antibióticos que são menos indutores de resistência para os bacilos Gram-negativos.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho realizou a análise fenotípica e genotípica das enterobactérias isoladas de culturas de vigilância dos pacientes internados em uma unidade neonatal, isso permitiu a análise da ocorrência dos principais tipos de infecção, além de permitir o conhecimento da colonização bacteriana presente nos recém-nascidos. Avaliou que a letalidade está relacionada às IRAS e por meio do conhecimento dos resultados das culturas de vigilância de rotina foi possível criar mecanismos de prevenção das IRAS. Portanto, a coleta de *swabs* de vigilância foi importante para promover a mudança de comportamento na unidade neonatal, com impacto positivo na redução das taxas de infecção e de colonização.

Este trabalho possibilitou avaliar o consumo de antimicrobianos, com mudança do padrão de prescrições, e demonstrou um adequado consumo de álcool, que reflete a adesão à higienização das mãos, a partir do início da auditoria médica.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Critérios Diagnósticos de Infecção Associada à Assistência à Saúde Neonatologia. **Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde**, v. 1, 2017a.

ANVISA, **Critérios Diagnósticos das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) de notificação obrigatória para o ano de 2023**, 2023a.

ANVISA. **Diretriz Nacional para Elaboração de Programa de Gerenciamento do Uso de Antimicrobiano em Serviço de Saúde**, 2017 b.

ANVISA, **Orientações para Vigilância das Infecções Relacionadas à assistência à Saúde (IRAS) e resistência microbiana em serviços de saúde**, 2023b.

AGOSTA, Marilena et al. Prevalence and Molecular Typing of Carbapenemase-Producing Enterobacteriales among Newborn Patients in Italy. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, p. 431, 2022.

AKTURK, Hacer 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, p.134-140, 2016.

BRADFORD P. A. et al. Emergence of Carbapenem-Resistant *Klebsiella* Species Possessing the Class A Carbapenem-Hydrolyzing KPC-2 and InhibitorResistant TEM-3-Lactamases in New York City. **Clinical Infectious Diseases**, v.39, n. 1,p.55-60, 1 jul.2004.

BRASIL. **DATASUS**. 2021. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br>. Acesso em: 07 abr. 2023.

BRASIL. **Critérios diagnósticos de infecção associada à assistência à saúde: neonatologia**, 2017.

BRCASST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2022. disponível em <https://brcast.org.br/>

BREIJYEH, Zeinab; JUBEH, Buthaina; KARAMAN, Rafik. Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. **Molecules**, v. 25, n. 6, p. 1340, 2020.

BUBSER, Caren et al. Impact of early antibiotic exposure on the risk of colonization with potential pathogens in very preterm infants: a retrospective cohort analysis. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2022.

BUGES, Buges Mota et al. Prevention and control of infections related with health care in neonatal units/Prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde em unidades neonatais. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, v. 13, p. 403-409, 2021.

CALIL, Roseli et al. Prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde em neonatologia. **CLAP/SMR. Publicação Científica**; 1613-03, 2017.

CLOCK, Sarah 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.

DE MAN, P. et al. Na antibiotic Policy to Prevent Emergence of Resistant Bacilli. **The Lancet**, v. 355, n.9208, p.973-978, 2000.

DOYLE, D. et al. Laboratory Detection of Enterobacteriaceae That Produce Carbapenemases. **Journal of Clinical Microbiology**, v,50, n.12, p.3877-3880, dez.2012

ESHETU, Beza et al. Intravenous fluid contaminated with *Klebsiella oxytoca* as a source of sepsis in a preterm newborn: Case report. **American journal of infection control**, v. 47, n. 7, p. 840-842, 2019.

FEBRIANI, Andi Dwi Bahagia et al. Nasopharyngeal colonization at birth and the development of early-onset neonatal sepsis. **Paediatrica Indonesiana**, v. 60, n. 6, p. 287-92, 2020.

FITZGERALD, Felicity C. et al. The Impact of Interventions to Prevent Neonatal Healthcare-associated Infections in Low-and Middle-income Countries: A Systematic Review. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 41, n. 3, p. S26, 2022.

GHADDAR, Nahed 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, 2020.

GIUFFRÈ, Mario 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**, v. 95, n. 10, 2016.

GOYCOCHEA-VALDIVIA, Walter Alfredo et al. Posicionamiento de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica sobre la implementación, ejecución y monitorización de los programas de optimización de uso de antibióticos en pediatría hospitalaria. In: **Anales de Pediatría**. Elsevier Doyma, p.351. e1-351. e 12. 2022.

HAJI, Sayran Hamad; AKA, Safaa Toma Hanna; ALI, Fattma A. Prevalence and characterisation of carbapenemase encoding genes in multidrug-resistant Gram-negative bacilli. **PloS one**, v. 16, n. 11, p. e0259005, 2021.

JORGENSEN, James H.; TURNIDGE, J.D. Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. In: Jorgensen, J.H., Carroll, K.C., Funke, G., Pfaller, M.A., Landry, M.L., Richter, S.S., Warnock, D.W., Richter, S.S. and Patel, J.B., Eds., **Manual of Clinical Microbiology**, 11th Edition, American Society of Microbiology, 1253-1273. 2015. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch71>.

KAYSER, Fritz H.; BIENZ K.A.; ECKERT, Johannes. In: Kaizer, F.H. **Medical Microbiology**. Chapter II. Bacteriology. 2005.

LABI, Appiah-Korang et al. Bloodstream Infections at Two Neonatal Intensive Care Units in Ghana: Multidrug Resistant Enterobacterales Undermine the Usefulness of Standard Antibiotic Regimes. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 40, n. 12, p. 1115-1121, 2021.

LANGE, Isabel et al. Influence of the Incubator as Direct Patient Environment on Bacterial Colonization of Neonates. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2533, 2021.

LIMA, Flávio Henrique Alves de et al. Multiresistant microorganism infection in newborns at an intermediate neonatal care unit and intensive care unit of reference: cross-sectional study. **Bioscience Journal. (Online)**, p. 2307-2314, 2020.

LI, Xuan et al. Risk factors for infection and/or colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the neonatal intensive care unit: a meta-analysis. **International journal of antimicrobial agents**, v. 50, n. 5, p. 622-628, 2017.

LOPES, Gilselena Kerbauy et al. Estudo epidemiológico das infecções neonatais no Hospital Universitário de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 30, n. 1, p. 55-63, 2008.

LUO, Keren et al. Nosocomial infection by *Klebsiella pneumoniae* among neonates: a molecular epidemiological study. **Journal of Hospital Infection**, v. 108, p. 174-180, 2021.

LONA-REYES, Juan Carlos et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in enterobacteria of neonatal sepsis and associated factors. **Revista Chilena de Infectología: Organo Oficial de la Sociedad Chilena de Infectología**, v. 36, n. 4, p. 433-441, 2019.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Bactérias multirresistentes, extensivamente resistentes a medicamentos e pandroga-resistentes: uma proposta de especialistas internacionais para definições de padrões provisórios para resistência adquirida. **Microbiologia clínica e infecção**, v. 18, n. 3, pág. 268-281, 2012.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 1-17, 2017.

MARTIN, R. M.; BACHMAN, M. A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, n. JAN, p. 1–15, 2018.

MEREDITH, Hannah R. et al. Colonization with multidrug-resistant Enterobacteriaceae among infants: an observational study in southern Sri Lanka. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2021.

MILIC, Marija et al. Colonization with Multidrug-Resistant Bacteria in the First Week of Life among Hospitalized Preterm Neonates in Serbia: Risk Factors and Outcomes. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2613, 2021.

MOROWITZ, Michael J. et al. The NICU Antibiotics and Outcomes (NANO) trial: a randomized multicenter clinical trial assessing empiric antibiotics and clinical outcomes in newborn preterm infants. **Trials**, v. 23, n. 1, p. 1-16, 2022.

MZIMELA, Bongani W.; NKWANYANA, Ntombifikile M.; SINGH, Radhika. Clinical outcome of neonates with Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections at the King Edward VIII Hospital's neonatal unit, Durban, South Africa. **Southern African Journal of Infectious Diseases**, v. 36, n. 1, p. 223, 2021.

NAAS, T. et al. Neonatal infections with multidrug-resistant ESBL-producing *E. cloacae* and *K. pneumoniae* in Neonatal Units of two different Hospitals in Antananarivo, Madagascar. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2016.

NAGATA, Edison; BRITO, Ângela S.J., MATSUO, Tiemi. Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit: incidence and risk factors. **American Journal of Infection Control**, v. 30, n. 1, p. 26-31. 2002

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, 2018a.

OLIVA, Arlenis et al. Characterization of Neonatal Infections by Gram-Negative Bacilli and Associated Risk Factors, Havana, Cuba. **Infectious Disease Reports**, v. 13, n. 1, p. 219-229, 2021

OLIVEIRA, Cinara Rejane. Consumo de Antimicrobianos em Unidades de Terapia Intensiva Neonatais: Resistência bacteriana x Ações de Racionalização. *Revista Saúde.com*, v.17, n, 3, 2021

PAHO, Pan American Health Organization and Florida International University-Recommendations for Implementing Antimicrobial Stewardship Programs in Latin America and Caribbean: Manual for Public Health Decision Markers, Chicago,2018.

PEREIRA, Edwin C. et al. A cluster of carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* complex ST171 at a tertiary care center demonstrating an ongoing regional threat. **American journal of infection control**, v. 47, n. 7, p. 767-772, 2019.

RUPPÉ, Étienne, WOERTHER, Paul-Louis, BRBIER, François. Mechanisms of microbiome resistance in Gram-negative bacilli. **Annals of Intensive Care**, v.5, n.1, p1-15, 2015

RUSSELL, Jordan T. et al. Antibiotics and the developing intestinal microbiome, metabolome and inflammatory environment in randomized trial of preterm infants. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p.1-16, 2021.

SALSABILA, Khansa et al. Early-onset neonatal sepsis and antibiotic use in Indonesia: a descriptive, cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 22, n. 1, p. 1-12, 2022.

SAFETY,WHO Patirnt et al. Guia de Aplicación de la Estrategia Multimodal de la OMS Para la Mejora de la Higiene de las Manos. Ministerio de sanidad, Política Social e igualdad, 2010.

SAKAI, Andressa Midori et al. Colonization profile and duration by multi-resistant organisms in a prospective cohort of newborns after hospital discharge. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, 2020a.

SAKAI, A. M. et al. Colonization by multidrug-resistant microorganisms of hospitalized newborns and their mothers in the neonatal unit context. **Journal of infection in developing countries**, v. 14, n. 7, p. 765–771, 2020b.

SAPORITO, Laura et al. Efficacy of a coordinated strategy for containment of multidrug-resistant Gram-negative bacteria carriage in a Neonatal Intensive Care Unit in the context of an active surveillance program. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2021.

SESA. Secretaria de Saúde do Estado do Paraná. Resolução SESA nº 823/2021. Estabelece os Microrganismos Multirresistentes de Notificação e Investigação Obrigatórias pelos Estabelecimentos de Assistência a Saúde no Estado do Paraná e os Critérios para Confirmação Diagnóstica junto ao Laboratório Central do Estado (LACEN). 4 p. 2021.

SEIDEL, J. et al. Routine screening for colonization by Gram-negative bacteria in neonates at intensive care units for the prediction of sepsis: systematic review and meta-analysis. **Journal of Hospital Infection**, v. 99, n. 4, p. 367-380, 2018.

SILAGO, Vitus et al. Bacteremia in critical care units at Bugando Medical Centre, Mwanza, Tanzania: the role of colonization and contaminated cots and mothers' hands in cross-transmission of multidrug resistant Gram-negative bacteria. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2020.

SOLOMON, Semaria et al. Prevalence and risk factors for antimicrobial resistance among newborns with gram-negative sepsis. **Plos One**, v. 16, n. 8, p. e0255410, 2021.

TOMCZYK, Sara et al. Control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, Acinetobacter baumannii, and Pseudomonas aeruginosa in healthcare facilities: a systematic review and reanalysis of quasi-experimental studies. **Clinical Infectious Diseases**, v. 68, n. 5, p. 873-884, 2019.

WANG, Yuan et al. Genomic epidemiology of an outbreak of Klebsiella pneumoniae ST471 producing extended-spectrum β -Lactamases in a neonatal intensive care unit. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 1081, 2020.

WENDEL, Andreas F. et al. Surveillance of Enterobacter cloacae complex colonization and comparative analysis of different typing methods on a neonatal intensive care unit in Germany. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2022
WOODFORD, Neil; FAGAN, Elizabeth J.; ELLINGTON, Matthew J. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum B-lactamases, **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 154-155, 2006.

YIN, D. et al. Clinical and molecular epidemiologic characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization among neonates in China. **Journal of Hospital Infection**, v. 100, n. 1, p. 21-28, 2018.

YUSSEF, Dawood et al. Clinical characteristics and epidemiology of sepsis in the neonatal intensive care unit in the era of multi-drug resistant organisms: a retrospective review. **Pediatrics & Neonatology**, v. 59, n. 1, p. 35-41, 2018.

ZAKIR, Abdurezak et al. Investigation of Extended-Spectrum β -Lactamase and Carbapenemase Producing Gram-Negative Bacilli in Rectal Swabs Collected from Neonates and Their Associated Factors in Neonatal Intensive Care Units of Southern Ethiopia. **Infection and Drug Resistance**, v. 14, p. 3907, 2021.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Questionário de coleta de dados

Questionário para coleta de dados de prontuários dos pacientes envolvidos no projeto de mestrado “Análise das Colonizações por Bacilos Gram Negativos em Recém-nascidos na Unidade Neonatal de um Hospital do Paraná, Brasil”:

- 1) Nome:
- 2) Idade gestacional (semanas):
- 3) Peso de nascimento (g):
- 4) Dias de vida da primeira colonização:
- 5) Infecção (sim ou não):
- 6) Quantos dias de vida estava na primeira infecção:
- 7) Topografias da infecção:
- 8) Critérios de infecções (clínico/laboratorial):
- 9) Qual o patógeno da infecção:
- 10) Qual amostra biológica que comprovou a infecção:
- 11) Qual resultado da análise molecular:
- 12) Qual primeiro esquema antimicrobiano utilizado:
- 13) Quantos dias de vida estava quando iniciou primeiro esquema antimicrobiano:
- 14) Tempo de uso do primeiro esquema antimicrobiano:
- 15) Qual segundo esquema antimicrobiano utilizado:
- 16) Quantos dias de vida estava quando iniciou o segundo esquema antimicrobiano:
- 17) Tempo de uso do segundo esquema antimicrobiano:
- 18) Qual terceiro esquema antimicrobiano utilizado:
- 19) Quantos dias de vida estava quando iniciou o terceiro esquema antimicrobiano:
- 20) Tempo de uso do terceiro esquema antimicrobiano:
- 21) Qual quarto esquema antimicrobiano utilizado:
- 22) Quantos dias de vida estava quando iniciou o quarto esquema antimicrobiano:

- 23) Tempo de uso do quarto esquema antimicrobiano:
- 24) Qual quinto esquema antimicrobiano utilizado:
- 25) Quantos dias de vida estava quando iniciou quinto esquema antimicrobiano:
- 26) Tempo de uso do quinto esquema antimicrobiano:
- 27) Qual sexto esquema antimicrobiano utilizado:
- 28) Quantos dias de vida estava quando iniciou sexto esquema antimicrobiano:
- 29) Tempo de uso do sexto esquema antimicrobiano:
- 30) Qual a data e sítio da primeira coleta de swab de vigilância:
- 31) Qual patógeno foi isolado na primeira coleta de swab:
- 32) Qual perfil do primeiro patógeno isolado no swab de vigilância (S-sensível/ MR-multiresistente/CR- resistente a carbapenêmicos):
- 33) Qual perfil do primeiro patógeno isolado no swab de vigilância, ESBL (produtor de betalactamase de espectro estendido) positivo ou negativo:
- 34) Qual a data e sítio da segunda coleta de swab de vigilância:
- 35) Qual patógeno foi isolado na segunda coleta de swab:
- 36) Qual perfil do segundo patógeno isolado no swab de vigilância (S-sensível/ MR-multiresistente/CR- resistente a carbapenens):
- 37) Qual perfil do segundo patógeno isolado no swab de vigilância, ESBL (produtor de betalactamase de espectro estendido) positivo ou negativo:
- 38) Qual a data e sítio da terceira coleta de swab de vigilância:
- 39) Qual patógeno foi isolado da terceira coleta de swab:
- 40) Qual perfil do terceiro patógeno isolado no swab de vigilância (S-sensível/ MR-multiresistente/CR- resistente a carbapenens):
- 41) Qual perfil do terceiro patógeno isolado no swab de vigilância, ESBL (produtor de betalactamase de espectro estendido) positivo ou negativo:
- 42) Qual a data e sítio da quarta coleta de swab de vigilância:
- 43) Qual patógeno foi isolado da quarta coleta de swab:
- 44) Qual perfil do quarto patógeno isolado no swab de vigilância (S-sensível/ MR-multiresistente/CR- resistente a carbapenêmicos):

- 45) Qual perfil do quarto patógeno isolado no swab de vigilância, ESBL (produtor de betalactamase de espectro estendido) positivo ou negativo:
- 46) Qual a data e sítio da quinta coleta de swab de vigilância:
- 47) Qual patógeno foi isolado da quinta coleta de swab:
- 48) Qual perfil do quinto patógeno isolado no swab de vigilância (S-sensível/ MR-multiresistente/CR- resistente a carbapenems):
- 49) Qual perfil do quinto patógeno isolado no swab de vigilância, ESBL (produtor de betalactamase de espectro estendido) positivo ou negativo:
- 50) Qual a data e sítio da sexta coleta de swab de vigilância:
- 51) Qual patógeno foi isolado da sexta coleta de swab:
- 52) Qual perfil do sexto patógeno isolado no swab de vigilância (S-sensível/ MR-multiresistente/CR- resistente a carbapenems):
- 53) Qual perfil do sexto patógeno isolado no swab de vigilância, ESBL (produtor de betalactamase de espectro estendido) positivo ou negativo:
- 54) Se houver, qual patógeno identificado na primeira infecção:
- 55) Com quantos dias de vida ocorreu a primeira infecção:
- 56) Qual perfil do patógeno isolado na infecção (S-sensível/ MR- multirresistente/CR-resistente a carbapenems):
- 57) Qual perfil do patógeno isolado na infecção, ESBL (produtor de betalactamase de espectro estendido) positivo ou negativo:
- 58) Qual evolução deste paciente (alta/transferência/óbito):
- 59) Qual a data da alta, transferência ou óbito deste paciente:
- 60) Quantos dias de internação deste paciente:

APÊNDICE B
Resultados de coleta de swabs de vigilância

Sítio de Coleta1	Data 1 Col	mo col1
retal	19/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	19/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	19/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	19/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	19/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	08/10/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	22/12/2020	<i>E.coli</i>
retal	27/12/2020	<i>E.coli</i>
nasal	13/01/2021	<i>Enterobacter cloacae</i>
nasal	13/01/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	14/01/2021	<i>Enterobacter cloacae</i>
retal	13/01/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	30/12/2020	<i>Enterobacter cloacae</i>
retal	30/12/2020	MRSA
retal	04/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	25/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	25/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	25/02/2021	<i>E.coli</i>
retal	28/01/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	11/03 e 18/03	<i>K. pneumoniae/E.aerogenes</i>
retal	04/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	08/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	13/05/2021	<i>E.coli</i>
retal	08/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	06/05/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	06/05/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	22/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	22/04/2021	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
retal	15/04/2021	<i>Serratia marcescens</i>
retal	04/03/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	11/03/2021	<i>E.coli</i>
retal	10/06/2021	<i>Acinetobacter baumannii</i>
retal	24/06/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	10/06/2021	<i>Citrobacter koseri</i>
retal	25/05/2021	<i>Klebsiella oxytoca</i>
retal	27/05/2021	<i>Serratia marcescens</i>
retal	24/06/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	08/07/2021	<i>Serratia marcescens</i>
retal	08/07/2021	<i>E.coli</i>
retal	08/07/2021	<i>Klebsiella oxytoca</i>

Sítio de Coleta2	Data 2 Col	mo col 2
retal	04/12/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	19/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	19/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	19/11/2020	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
retal	08/10/2020	<i>Klebsiella oxytoca</i>
retal	30/12/2020	<i>E.coli</i>
nasal	27/12/2020	<i>E.coli</i>
retal	13/01/2021	<i>Enterobacter cloacae</i>
retal	13/01/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	14/01/2021	<i>E.coli</i>
retal	28/01/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	27/12/2020	<i>Enterobacter cloacae</i>
nasal	11/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	18/02/2021	<i>Morganella morganii</i>
retal	25/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	08/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	04/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	08/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	06/05/2021	<i>Enterobacter aerogenes</i>
nasal	01/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	29/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	22/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	29/04/2021	<i>Klebsiella ozonae</i>
nasal	25/03/2021	<i>E.coli</i>
nasal	17/06/2021	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
retal	01/07/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	03/06/2021	<i>E.cloacae</i>
retal	01/07/2021	<i>K.pneumoniae</i>
retal	15/07/2021	<i>E.coli</i>

Sítio de Coleta3	Data 3 Col	Mo Col3
retal	10/12/20	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	15/10/2020	<i>Citrobacter koseri</i>
nasal	30/12/2020	<i>E.coli</i>
retal	30/12/2020	<i>E.coli</i>
retal	21/01/2021	<i>Klebsiella oxytoca</i>
nasal	04/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	07/01/2021	<i>Enterobacter cloacae</i>
retal	11/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	18/02/2021	<i>E.coli</i>
retal	23/04/2021 e 29/04	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	01/04/2021	<i>E.cloacae</i>

retal	06/05/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	01/04/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	22/04/2021	<i>Enterobacter aerogenes</i>
retal	29/04/2021	<i>Klebsiella ozonae</i>
retal	25/03/2021	<i>E.coli</i>
retal	17/06/2021	<i>P.aeruginosa</i>
retal	10/06/2021	<i>E.cloacae</i>
nasal	15/07/2021	<i>Serratia marcensens</i>

Sítio de Coleta4	Data 4 Col	Mo Col4
retal	22/12/2020	<i>K. pneumoniae</i>
retal	05/11/2020	<i>S.malthophilia</i>
retal	27/12/2020	<i>E.coli</i>
nasal	30/12/2020	<i>E.coli</i>
retal	04/02/2021	<i>E.coli</i>
nasal	23/04/2021	<i>K. pneumoniae</i>
nasal	13/05/2021	<i>P. aeruginosa</i>
retal	29/04/2021	<i>K.ozonae</i>
retal	05/05/2021	<i>Serratia marcencens</i>

Sítio de Coleta5	Data 5 Col	Mo Col 5
nasal	22/12/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	10/11/2020	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	04/02/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
retal	13/05/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	06/05/2021	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
nasal	05/05/2021	<i>Serratia marcencens</i>

sítio de coleta6	Data 6 col	Mo col 6
retal	28/01/2021	<i>E.coli</i>
retal	06/05/2021	<i>E. cloacae</i>

ANEXOS

ANEXO A

Parecer da Comissão de ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos

UNIVERSIDADE PARANAENSE
- UNIPAR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise das Colonizações por Bacilos Gram Negativos em Recém-Nascidos na Unidade Neonatal de um Hospital do Paraná, Brasil

Pesquisador: THALINY LEAL SPECIAN SESTAK

Área Temática: Projetos de pesquisa que envolvam organismos geneticamente modificados (OGM), células-tronco embrionárias e organismos que representem alto risco coletivo, incluindo organismos relacionados a eles, nos âmbitos de: experimentação, construção, cultivo, manipulação, transporte, transferência, importação, exportação, armazenamento, liberação no meio ambiente e descarte;

Versão: 1

CAAE: 58344722.4.3001.0109

Instituição Proponente: ASSOCIACAO BENEFICENTE DE SAUDE DO NOROESTE DO PARANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.673.991

Apresentação do Projeto:

O progresso na área da saúde permite a sobrevivência de recém-nascidos cada vez mais prematuros e de extremo baixo peso. Logo, a sepse neonatal, particularmente por bacilos gram-negativos (BGN) tornou-se importante causa de mortalidade e preocupação na área da neonatologia. Diante da importância da temática descrita, este trabalho avaliará a microbiota dos pacientes internados em uma unidade de terapia neonatal por meio da utilização de culturas de vigilância, que permitirá reconhecer a microbiota presente e observar se há semelhanças genéticas entre as bactérias isoladas nos diversos pacientes. Serão analisadas neste estudo retrospectivo observacional, 100 amostras de swabs nasal e retal positivas para enterobactérias, coletadas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva neonatal de uma cidade do interior do Paraná no período de novembro de 2020 a julho de 2021. As amostras serão submetidas a análise microbiológica e análise molecular. Os dados serão tabulados e a análise estatística será realizada com o programa Jamovi version 2.0.0. Esperamos após o estudo obter dados sobre o consumo de antimicrobianos, adquirir informações essenciais para prevenção de IRAS e possibilitar a melhoria na assistência à saúde do paciente hospitalizado bem como a redução dos óbitos.

Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219
Bairro: Centro **CEP:** 87.502-210
UF: PR **Município:** UMUARAMA
Telefone: (44)3621-2828 **E-mail:** cepeh@unipar.br

Continuação do Parecer: 5.673.991

Objetivo da Pesquisa:

Segundo a pesquisadora:

"Objetivos primários:

Analisar a ocorrência dos principais tipos de infecções neonatais em uma unidade de terapia intensiva neonatal através da leitura e coleta de dados dos prontuários dos pacientes envolvidos e conhecer a microbiota bacteriana presente nos recém nascidos.

Objetivo Secundário:

- Adquirir informações sobre a importância das culturas de vigilância para a prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde.
- Avaliar o consumo de antibióticos na unidade antes do estudo, durante o estudo e após o período do estudo.
- Avaliar as taxas de infecção e colonização durante e após o estudo.
- Avaliar a letalidade durante e após a implantação de rotina de prevenção.
- Realizar análise fenotípica e molecular de enterobactérias isoladas de culturas de vigilância de pacientes internados em UTI neonatal.
- Verificar se há semelhanças moleculares entre as enterobactérias isoladas.
- Correlacionar a colonização por bactérias Gram negativas e seus mecanismos de resistência envolvidos com os desfechos clínicos dos pacientes."

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora:

"Riscos:

Com relação aos riscos desta pesquisa, ressaltamos apenas a possibilidade de perda da confidencialidade de dados clínicos e laboratoriais, uma vez que iremos realizar estudo do prontuário de seu(sua) filho(a), porém faremos todo o possível para que isso não aconteça.

Benefícios:

A diminuição nas taxas de infecções relacionadas à assistência à saúde, de óbitos e de consumo de antibióticos em uma unidade de terapia intensiva neonatal de uma maternidade do noroeste do Paraná."

Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219
Bairro: Centro **CEP:** 87.502-210
UF: PR **Município:** UMUARAMA
Telefone: (44)3621-2828 **E-mail:** cepeh@unipar.br

Continuação do Parecer: 5.673.991

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Este projeto de pós graduação (mestrado) é um estudo original, caracterizado como observacional, retrospectivo de série de caso. A pesquisa se apresenta de forma conclusiva e pode ser executada, uma vez que os pesquisadores contemplaram todos os requisitos éticos para a sua realização.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE - APROVADO. Este documento contém as informações para o bom entendimento e anuência dos participantes da pesquisa, devendo ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa e a outra arquivada pelo pesquisador.

TERMO DE ANUÊNCIA INSTITUCIONAL - APROVADO. Este documento se apresenta de forma satisfatória (nome completo, função e carimbo) com a autorização pelo responsável da Instituição onde a pesquisa será realizada.

FOLHA DE ROSTO - APROVADA. Informações prestadas compatíveis com as do protocolo apresentado.

Recomendações:

De acordo com a Resolução 466/12 – III - Dos aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos – III.1 – A eticidade da pesquisa implica em:

I)Prever procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos participantes da pesquisa, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de autoestima, de prestígio e/ou de aspectos econômico-financeiros;

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Prezada pesquisadora, vosso projeto foi aprovado sem restrições.

De acordo com o Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012:

O termo de consentimento livre esclarecido deve ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa, ou por seu representante legal, e uma arquivada pelo pesquisador.

Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219
Bairro: Centro **CEP:** 87.502-210
UF: PR **Município:** UMUARAMA
Telefone: (44)3621-2828 **E-mail:** cepeh@unipar.br