



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS  
CURSO DE MESTRADO

MON  
616.92:615.478  
C425C  
TES/MEU

**COLONIZAÇÃO E INFECÇÃO POR BACIOS GRAM-NEGATIVOS  
(ENTEROBACTERIACEAE E NÃO FERMENTADORES) EM NEONATOS DO  
BERÇÁRIO DE ALTO RISCO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

Renata Cristina Cezário

UBERLÂNDIA-MG

FEVEREIRO/2003

SISBI/UFU



1000209178



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E**  
**PARASITOLOGIA APLICADAS**  
**CURSO DE MESTRADO**

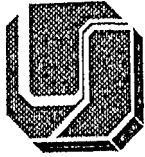
**COLONIZAÇÃO E INFECÇÃO POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS**  
**(ENTEROBACTERIACEAE E NÃO FERMENTADORES) EM NEONATOS DO**  
**BERÇÁRIO DE ALTO RISCO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia aplicadas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre .

Renata Cristina Cezário

**UBERLÂNDIA-MG**

2003



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E**  
**PARASITOLOGIA APLICADAS**  
**CURSO DE MESTRADO**

**COLONIZAÇÃO E INFECÇÃO POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS**  
**(ENTEROBACTERIACEAE E NÃO FERMENTADORES) EM NEONATOS DO**  
**BERÇÁRIO DE ALTO RISCO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia aplicadas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

*Renata Cristina Cezário*

*Prof<sup>o</sup> Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho (Orientador)*

**UBERLÂNDIA-MG**

**2003**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E**  
**PARASITOLOGIA APLICADAS**  
**CURSO DE MESTRADO**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia aplicadas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre .

*Renata Cristina Cezário*

*Prof<sup>o</sup> Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho (Orientador)*

**UBERLÂNDIA-MG**

**2003**

*Dedico este  
trabalho com todo amor e  
carinho á minha mãe NEUSA,  
meu pai ANTONIO e ao meu  
nego ALEXANDRE que sempre  
me apoiaram durante esta  
caminhada.*

*“...cada cientista tem a obrigação de expor-se para,  
no final, enriquecer-se com as críticas ou  
reconhecimentos de seus pares”*

HAGUETTE,1992

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pelos pais que me deste, a saúde e sabedoria para discernir o caminho certo;

Aos meus pais e ao meu nego Alexandre pelo apoio, esforço, carinho, amizade e confiança;

Ao meu Orientador Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho, pela paciência e dedicação;

A Rosineide Marques Ribas pela amizade, paciência, apoio e colaboração para que este fosse executado;

Aos professores Ângela, Geraldo Mello, Daise, Denise pela convivência;

Às amigas Grace, Janaina, Fabiana Kimie, Renata Felix, Rose, Claudete Eliete, Karine, Helisângela e Dayane por dividirem comigo todos os momentos desta caminhada;

Aos colegas do laboratório: Geraldo Sadoyama, Noraisa, Lidiane, Kariciele, Érica, Michele, Fabiana, Lílian, Gláucia, Elias, obrigado pela paciência;

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia da UFU, Claudete e Ricardo, pela amizade, paciência e colaboração para que este fosse desenvolvido;

À Dr<sup>a</sup> Vânia, Dr<sup>a</sup> Cláudia e toda sua equipe do Berçário de Alto Risco do HC-UFU pela colaboração em nossas coletas;

Aos pais de nossos pequeninos pacientes, ao colaborarem conosco, permitindo a realização de nossas coletas;

Ao Neto, Lucileide e Jorge pela amizade e paciência

Aos funcionários do Laboratório de Microbiologia e prontuário do HC-UFU ;

A equipe do COMUT da biblioteca do Umuarama/UFU em especial Helena, Vilmar e Vilma pela atenção e carinho;

A farmacêutica Dr<sup>a</sup> Silvana pela colaboração;

*E todas as pessoas que acreditaram em mim. Em especial, minha mãe, meu pai, meu namorado Alexandre e Rosineide.*

## SUMÁRIO

<b>Lista de Abreviaturas</b>	<b>VII</b>
<b>Lista de Tabelas</b>	<b>VIII</b>
<b>Lista de Figuras</b>	<b>IX</b>
<b>Lista de Anexos</b>	<b>X</b>
<b>Resumo</b>	<b>XI</b>
<b>Summary</b>	<b>XII</b>
<b>1- INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2- OBJETIVOS</b>	<b>5</b>
<b>3-CASUÍSTICA E MÉTODOS</b>	<b>6</b>
3.1 Hospital	6
3.2 Desenho do estudo	6
3.2.1 Definição de infecção hospitalar e vigilância	6
3.2.2 Vigilância dos casos de infecções e consumo de antibióticos	6
3.2.3 Vigilância de neonatos colonizados	7
3.3 Procedimentos laboratoriais	7
3.3.1 Coleta de espécimes clínicos	7
3.3.2 Cultivo primário	7
3.3.3 Identificação das amostras	7
3.3.4 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos	8
3.3.4.1 Teste de difusão em ágar	8
3.3.4.2 Teste de sinergismo com duplo disco	8
3.4 Análise estatística	9



3.5	Aprovação do Comitê de Ética	9
4-	<b>RESULTADOS</b>	<b>10</b>
5-	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>26</b>
6-	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>31</b>
7-	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>32</b>
8-	<b>ANEXOS..</b>	<b>40</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS**

**AIMP-UFU** ↔ Área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia

**BGN** ↔ Bacilos Gram Negativos

**BHI** ↔ Brain Heart Infusion

**BAR** ↔ Berçário de Alto Risco

**ESBLs** ↔ Extended- Spectrum Beta-Lactamases

**Grupo CESP** ↔ *Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Providência.*

**HC-UFU** ↔ Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

**IH** ↔ Infecção hospitalar

**PBPs** ↔ Proteínas ligadoras de penicilinas

**TSB** ↔ Trypticase Soy Broth

**UFC/ml** ↔ Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

**UTI<sub>n</sub>** ↔ Unidade de Terapia Intensiva neonatal

## LISTA DE TABELAS

	Pag
<b>Tabela 1-</b> Incidência de infecções por BGN em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002 .....	10
<b>Tabela 2-</b> Incidência de infecções endêmicas e epidêmicas em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....	10
<b>Tabela 3-</b> Síndromes infecciosas de natureza endêmica e epidêmica em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....	11
<b>Tabela 4-</b> Agentes etiológicos das infecções em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....	12
<b>Tabela 5-</b> Agentes etiológicos das infecções de natureza endêmica e epidêmica em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....	13
<b>Tabela 6-</b> Etiologia das síndromes infecciosas em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....	14
<b>Tabela 7-</b> Frequência de neonatos colonizados por microrganismos da família Enterobacteriaceae resistentes a 2µg/ml de ceftazidima, internados em diferentes setores do BAR do HC-UFU, nos quatro inquéritos de prevalência realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001, Fevereiro e Agosto/2002.....	15
<b>Tabela 8-</b> Prevalência de neonatos colonizados em diferentes sítios anatômicos por microrganismos da família Enterobacteriaceae multirresistentes internados no BAR do HC-UFU, durante os períodos de Setembro, Novembro/2001, Fevereiro e Agosto/2002.....	16

**Tabela 9**-Frequências do diferentes bacilos Gram-negativos isolados a partir de neonatos infectados e colonizados, internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....17

**Tabela 10**-Frequências de representantes da família Enterobacteriaceae multirresistentes colonizando neonatos internados no BAR do HC-UFU, nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro, Agosto/2002.....18

**Tabela 11**-Perfil de resistência antimicrobiana de bacilos Gram-negativos associados à colonização em neonatos internados no BAR do HC-UFU, em inquéritos de prevalência realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro, Agosto/2002.....19

**Tabela 12**-Frequência (%) de resistência das amostras de bacilos Gram-negativos associados a infecções hospitalares, em neonatos internados no internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....20

**Tabela 13**-Distribuição dos fenótipos de resistência de Enterobacteriaceae, em neonatos colonizados em diferentes setores do BAR do HC-UFU, em inquéritos de prevalência realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro Agosto/2002.....21

**Tabela 14**-Frequência de amostras de bacilos Gram-negativos produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro ampliado do fenótipo ESBL e AmpC, em neonatos internados no BAR do HC-UFU, durante os inquéritos de prevalência realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro, Agosto/2002.....22

**Tabela 15**-Fatores de risco para colonização e infecção por bacilos Gram-negativos em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002 .....23

## LISTA DE FIGURAS

	Pag
<b>Figura 1-</b> Freqüência do consumo de ceftriaxona e a colonização por bacilos Gram-negativos produtores de beta-lactamases de espectro ampliado em neonatos internados no BAR do HC-UFU período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....	24
<b>Figura 2-</b> Freqüência do consumo de carbapenemas e de neonatos infectados por amostras epidêmicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Acinetobacter baumannii</i> internados no BAR do HC-UFU período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.....	25

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo I-</b> Diagrama do Berçário de Alto Risco do HC-UFU.....	40
<b>Anexo II-</b> Ficha.....	41
<b>Anexo III-</b> Aceite do Comitê de Ética.....	42

## RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a incidência de bacilos Gram-negativos em infecções hospitalares, a relação entre colonização e infecção, os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos, os principais fenótipos de resistência (ESBL e AmpC), incluindo amostras epidêmicas e a utilização de cefalosporinas de terceira geração e carbapenemas em neonatos admitidos no BAR do HC-UFU no período de 23 meses entre Janeiro/2001 a Dezembro/2002. Foi realizado um estudo prospectivo de vigilância das infecções hospitalares e do uso dos  $\beta$ -lactâmicos, e quatro inquéritos de prevalência de colonização realizados nos meses de Setembro e Novembro/2001, Fevereiro e Agosto/2002. O teste de sinergismo foi realizado através do duplo-disco para detectar amostras produtoras  $\beta$ -lactâmases. A incidência de pacientes infectados por BGN foi de 2,4%, sendo sepse (38,9%) e conjuntivite (30,5%) as síndromes mais observadas. A maioria das infecções foi de natureza endêmica (77,9%) e associadas à família Enterobacteriaceae (88,3%), verificando-se uma estreita relação entre aquelas mais freqüentes e as encontradas quando de colonização, correspondendo principalmente às amostras de *Enterobacter* spp. e *Klebsiella* spp. Foram caracterizados dois surtos durante o estudo, associados a amostras de *Pseudomonas aeruginosa* (N=10) e *Acinetobacter baumannii* (N=11), sendo que o último coincidiu com um aumento no consumo de carbapenemas. Ao contrário das infecções endêmicas, as amostras epidêmicas não foram detectadas em neonatos assintomáticos. No total, dos 135 neonatos incluídos no estudo de prevalência, 41,5% estavam colonizados por amostras resistentes a 2  $\mu$ g/ml de ceftazidima, predominantemente no intestino (59,0%). Os fatores de risco intrínsecos (tempo de internação) e extrínsecos (uso de antimicrobianos, ventilação mecânica, cateter vascular central, cirurgia e nutrição parenteral) foram associados significativamente ( $p \leq 0,05$ ) aos casos de infecção. Foi verificada uma alta freqüência dos representantes do fenótipo ESBL (80,1%) entre as amostras resistentes, assim como sua relação com a utilização de ceftriaxona na unidade.

**Palavras chave:** Infecção Hospitalar; colonização; neonatos; bacilos Gram negativos

## SUMMARY

The aim of this study was to determine the incidence of Gram-negative organisms from nosocomial infections, the relationship between colonization and infection, the intrinsic and extrinsic risk factors, the major antibiotic resistance phenotypes (ESBL and AmpC) including an epidemic strain and utilization of third-generation cephalosporins and carbapenems in neonates admitted in the BAR UFU-HC, during 23 month period between January, 2001 and December, 2002. A vigilance of the cases of nosocomial infections and use of the  $\beta$ -lactams was achieved through of prospective study and four prevalence of colonization inquired from September and November, 2001 and February and August/2002. The synergy test was performed with double-disk to detect the samples producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. The incidence of infected patients with BGN was 2.4%, including sepsis (38.4%) and conjunctivitis (30.5%) with were more infections observed. The most of infections were endemic and often associated with Enterobacteriaceae family (88.3%), observed a narrow relation between the most frequent Enterobacteriaceae and that found when the colonization, corresponding mainly to samples of *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp. During of the study were identified two outbreak, associated the samples by *Pseudomonas aeruginosa* (N=10) and *Acinetobacter baumannii* (N=11) these last was coincided with the increased of the consume of carbapenems. At the opposed the endemic infections, the epidemics samples were not detected in asymptomatic neonates. In total 135 neonates included in the prevalence study, were colonized with resistant sample to 2  $\mu$ g/ml of cefazidime mainly in the intestine (59.0%). The intrinsic risk factors (length of hospitalization) and extrinsic (antibiotic use, mechanic ventilation, central venous catheters, surgical and nutrition parenteral) were more significantly associated with infections cases. A high frequency was observed among resistant samples of the ESBL phenotypes, as well as the relation with ceftriaxone use in the Unit.

**Keywords:** Nosocomial infection; colonization; neonates; Gram-negative bacillus.

## 1- INTRODUÇÃO

---

Atualmente as infecções hospitalares representam um importante problema, por estarem associados com a morbidade, mortalidade e custos (VIERA et al., 1999). Elas constituem um sério problema de saúde pública, principalmente em países do terceiro mundo, como o Brasil, onde uma pequena parte dos hospitais possui comissões ativas de controle de infecção (PRADE et al., 1995). A vigilância de infecções adquiridas em hospitais, normalmente requer profissionais treinados e uma sistemática de trabalho acessível e aplicável, o que demanda recursos financeiros freqüentemente restritos nestes países (RABELO, 1995).

As infecções hospitalares são classificadas em endêmicas e epidêmicas sendo que, as últimas representam uma pequena proporção (5,0% a 10,0%) das infecções, mas são de grande interesse não apenas pela sua repercussão, mas por englobar infecções passíveis de serem prevenidas (MACGOWAN; METCHOCK, 1995). As infecções podem também ser definida como: a) Infecções endógenas primárias, causadas por microrganismos potencialmente patogênicos presentes na microbiota normal do trato respiratório superior; b) Infecções endógenas secundárias causadas por microrganismos potencialmente patogênicos, usualmente ausentes da microbiota intestinal normal e adquiridos durante a hospitalização (SILVESTRI et al., 1999).

As duas maneiras mais importantes de aquisição de infecções neonatais são: a partir da microbiota vaginal da mãe durante o parto (transmissão vertical), com manifestações precisas nas primeiras 48 horas de vida, e a partir do ambiente hospitalar originando as infecções pós-natais usualmente tardias após dois dias de vida (BRADLEY, 1985, WAGGNOER-FOUNTAIN; DONOWITZ, 1997).

As taxas de infecções hospitalares em neonatos mantidos no BAR, assim como, em UTIs oscilam entre 5,0% e 25,0% (SIEGEL, 1998). Observando-se um predomínio de bacteremias, pneumonias, infecções de sítio cirúrgico, infecções de trato urinário e meningites (HEMMING et al., 1976). Nestas unidades hospitalares é fundamental a implantação de práticas de vigilância, controle e prevenção de IH (CAVALCANTE et al., 1991).

Dos fatores de risco que predispõem às infecções em neonatos destacam-se entre os intrínsecos: idade, sistema imunológico imaturo, proteção reduzida no que se refere às



barreiras naturais como a pele, ausência de microbiota normal, baixo peso, prematuridade e gravidade da doença de base; e entre os extrínsecos as intervenções cirúrgicas, presença de dispositivos invasivos, principalmente cateteres intravasculares periféricos e centrais, tubos endotraqueais, sondas nasogástricas e vesicais, e drenos (SINGH-NAZ, 1996, SIEGEL, 1998).

Os principais responsáveis por estas infecções estão os BGN incluindo *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* entre os microrganismos da família Enterobacteriaceae, e *Pseudomonas spp.* e *Acinetobacter spp.* entre BGN não fermentadores. A *E. coli* é o BGN mais frequentemente associado com infecções hospitalares e o principal patógeno de infecções urinárias de origem hospitalar. A *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter spp.* são os patógenos mais frequentes associados principalmente aos episódios de infecções urinárias e pneumonias (KAYER et al., 2000). Dos Gram-negativos não fermentadores *Pseudomonas aeruginosa* é o microrganismo mais importante por ser a causa mais comum de pneumonia hospitalar (FOSTER; DASCHNER, 1998).

Segundo Jolley (1993) é importante conhecer os microrganismos da microbiota normal dos neonatos, considerando-se a possível colonização por microrganismo potencialmente patogênico, que representam um fator de risco para uma posterior infecção. A microbiota intestinal é considerada a mais complexa de todas devido a sua riqueza qualitativa e quantitativa em microrganismos (TORTORA et al., 2000). Em neonatos, ela pode variar devido à alimentação, sendo que, a amamentação no seio resulta numa microbiota rica em lactobacilos seguidos de uma proporção reduzida de *E. coli*, já em neonatos que ingerem fermentações lácteas, demonstram uma relação inversa entre estes dois microrganismos, além da presença de outros BGN (Goldmann, 1981). Este autor também verificou a presença de *Staphylococcus epidermidis* na narina e coto umbilical, *Streptococcus* alfa hemolítico na garganta e de BGN como *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* e *Citrobacter spp.* no intestino, de neonatos submetidos a um período de internação prolongado. Outro fator com impacto na microbiota intestinal é a administração de agentes antimicrobianos de amplo espectro que resulta na diminuição da mesma e favorecem a colonização por bacilos Gram-negativos resistentes (ROSE; SCHRIER, 1968).

No entanto, existem investigações afirmando que o monitoramento microbiológico, de um único sítio anatômico apresenta uma baixa sensibilidade como valor preditivo para a previsão de uma futura etiologia dos casos de sepse (ISAACS et al., 1987; EVANS, 1988; JOLLEY, 1993).

Segundo Damjonovic et al. (1994) o monitoramento microbiológico deve ser realizado em regiões do corpo onde há microrganismo potencialmente patogênico por meio de coletas de "swab" de faringe e do reto, pelo menos uma vez por semana, a partir da admissão do paciente na unidade e durante o período de internação. Dobson et al. (1992) realizaram o monitoramento microbiológico da narina, olhos, ouvido, reto, umbigo, secreção endotraqueal, sangue e líquido cefalorraquidiano de neonatos em UTIn, durante um período de sete anos, no qual observaram através do seu valor preditivo uma relação entre a etiologia de surtos e a presença de microrganismos multirresistentes. Assim, o monitoramento microbiológico em BARs é importante no controle e prevenção de surtos, lembrando que os mesmos são mais comuns nestas unidades e contribuem significativamente para a morbidade e mortalidade dos neonatos (DAMJONOVIC et al., 1994).

Após o advento dos antibióticos, ocorreu uma redução na mortalidade dos pacientes devido a uma grande variedade de doenças infecciosas, contudo, os microrganismos têm encontrado várias formas de contornar o efeito letal desses medicamentos, resultando no surgimento de resistência aos mesmos, além disso, novos modelos epidemiológicos e fenótipos de resistência têm sido observado em organismos hospitalares multirresistentes (QUINTILIANI; SAHM; COURVALIN, 1997; BODEY, 1999, NATHISUWAN et al., 2001).

Atualmente os  $\beta$ -lactâmicos, particularmente as cefalosporinas estão entre os agentes antimicrobianos mais frequentemente utilizados na prática médica, sendo que, estes exercem o seu efeito antimicrobiano inibindo a síntese da parede celular nas células bacterianas susceptíveis através de ligações covalentes com as PBPs (PITOUT; SANDERS; SANDERS, 1997). A resistência a este antimicrobiano pode ocorrer por diferentes mecanismos tais como: diminuição da permeabilidade da membrana externa, presença de bombas de efluxo e principalmente pela inativação enzimática pelas  $\beta$ -lactamases. (KONEMAM, 1997; QUINTILIANI; SAHM; COURVALIN, 1997). Estas enzimas produzidas pelas bactérias Gram-negativas encontram-se no espaço periplasmático e são codificadas por genes localizados no DNA cromossômico ou extra-cromossômico (transposons e/ou plasmídeos) (PITOUT; SANDERS; SANDERS, 1997, NORDMANN, 1998, JONES, 2000).

As  $\beta$ -lactamases são uma família de enzimas classificadas principalmente com base na estrutura molecular, substratos e inibição por ácido clavulânico. Entre essas enzimas

destacam-se atualmente pela sua importância hospitalar e epidemiológica, aquelas que apresentam um espectro ampliado, capaz de hidrolisar entre outros  $\beta$ -lactâmicos as penicilinas, cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, (KONEMAM, 1997; QUINTILIANI; SAHM; COURVALIN, 1997). Neste grupo estão as referidas como AmpC, cromossomais, presentes particularmente no grupo CESP, e ESBL, plasmidial que, estão associadas principalmente a *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (QUINN, 1994; AKOVA, 1999; NATHISUWAN et al., 2001).

O primeiro grupo, AmpC, são enzimas constitutivas/induzidas que, requerem a presença de antibiótico para sua produção e não são neutralizadas por inibidores de  $\beta$ -lactamases, e apresentam resistência a cefoxitina e a cefalosporinas de segunda geração. (LIVERMORE, 1991; QUINTILIANI; SAHM; COURVALIN, 1997).

As ESBLs por serem mediadas por plasmídeos, podem ser transmitidas horizontalmente, assim representa um problema clínico maior no ambiente hospitalar, pois uma vez adquirido, esse mecanismo de resistência pode sofrer disseminação; essas enzimas têm a capacidade de hidrolisar as cefalosporinas de amplo espectro, mas são susceptíveis a cefoxitina e inibidas pelo ácido clavulânico (JACOBY; MEDEIROS, 1991; QUINN, 1994; JONES, 2000; NATHISUWAN et al., 2001). Os microrganismos produtores dessas  $\beta$ -lactamases podem ser resistentes ao aztreonam, mas, permanecem susceptíveis aos carbapenemas (QUINN, 1994; THOMSON; PREVAN; SANDERS, 1996; JONES, 2000; NATHISUWAN et al., 2001).

A presença de microrganismos produtores de ESBLs (colonização e/ou infecção) em pacientes internados em UTIn esta associada com determinados fatores de risco, incluindo principalmente: tempo de internação prolongado, utilização de antimicrobianos como cefalosporinas de terceira geração, procedimentos invasivos, cirurgia, peso abaixo de 1000 gramas e nutrição parenteral (CALIL et al., 2001; LOUREIRO et al., 2002; SINGH et al., 2002).

Em países em desenvolvimento, como o Brasil, deve-se destacar o uso intenso e indiscriminado de antimicrobianos que favorecem a emergência de bactérias multirresistentes nos hospitais, e que, quando somada a inexistência de programas de prevenção e controle de infecções na maioria dos hospitais, torna-se o principal responsável pela presença significativa de pacientes infectados por esses microrganismos.

## 2- OBJETIVOS

---

Foram avaliados os seguintes aspectos relacionados à epidemiologia por bacilos Gram- negativos infectando e/ou colonizando neonatos:

- Taxa de incidência de infecções hospitalares endêmicas,
- Taxa de prevalência de colonização,
- Frequências de colonização na boca e intestino,
- Frequência do consumo de cefalosporinas de terceira geração e carbapenemas,
- Fatores de risco intrínsecos e extrínsecos associados à colonização e infecção,
- Relação entre colonização e infecção por estes microrganismos,
- O espectro de suscetibilidade das amostras aos antimicrobianos,
- Presença de amostras pertencentes aos fenótipos ESBLs e AmpC.

### **3- CASUÍSTICA E MÉTODOS**

---

#### **3.1- Hospital:**

O estudo foi realizado no BAR do HC/UFU, que possui 45 leitos. A unidade é dividida nas seguintes áreas: Unidade de Terapia Intensiva neonatal incluindo UTI-I e II, Isolamento, Intermediários 1 e 2, sala de Admissão e Berçário Externo, conforme diagrama em anexo I.

#### **3.2- Desenho do estudo:**

Foi realizado um estudo prospectivo, do tipo coorte longitudinal durante o período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002, acrescido de quatro cortes transversais (inquéritos de prevalência de colonização) e de um estudo do tipo Caso-controle não-pareado utilizando como caso aqueles pacientes colonizados identificados nos inquéritos e como Controles os pacientes infectados no estudo prospectivo e que estavam internados no período do estudo.

##### **3.2.1- Definição de infecção hospitalar e vigilância:**

Em neonatos as infecções são ditas como hospitalares, com exceção das transmitidas de forma transplacentária e aquelas associadas à bolsa rota superior a 24 horas (Ministério da saúde, 1998); e que não esteja presente ou incubada durante a admissão do neonato no Berçário de Alto Risco, porém que manifesta-se após internação ou em 48 horas após transferência do neonato de um hospital para outro (EMORI, T.G., CULVER, D.H., HORON, T.C., 1991).

A vigilância epidemiológica foi realizada por método ativo, utilizando-se os dois sistemas descritos a seguir:

##### **3.2.2- Vigilância dos casos de infecções e consumo de antibiótico:**

A vigilância de infecções hospitalares por BGN e do consumo de cefalosporinas de terceira geração e carbapenemas foi realizada, através de visitas semanais ao BAR e ao Laboratório de Microbiologia e visitas mensais a farmácia do HC/UFU, respectivamente,

durante o período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002. As amostras de BGN provenientes de episódios de infecções hospitalares foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia do AIMP da UFU.

### **3.2.3- Vigilância de neonatos colonizados**

A vigilância de neonatos colonizados por BGN, foi realizada através de inquéritos de prevalência nos meses de Setembro e Novembro/2001, e Fevereiro e Agosto/2002, coletando espécimes clínicos de orofaringe e cavidade anal.

Uma ficha (anexo II) com dados demográficos, clínicos, fatores de risco intrínsecos e extrínsecos foi preenchida para cada criança.

## **3.3- Procedimentos Laboratoriais:**

### **3.3.1-Coleta de espécimes clínicos:**

Foram coletados espécimes clínicos de todos neonatos por ocasião dos quatro inquéritos de prevalência a partir de orofaringe e cavidade anal, utilizando-se "swabs", e transportados ao laboratório de Microbiologia em tubos com caldo TSB (COLLINS; LYNE; GRANGE, 1995).

### **3.3.2- Cultivo primário:**

Os espécimes clínicos foram semeados em Ágar MacConkey com e sem 2µg/ml de ceftazidima e incubados a 37°C por um período de 24 a 48 horas; colônias representativas foram subcultivadas em caldo BHI, incubadas a 37°C e a suspensão resultante estocada a - 20° C após a adição de glicerol na concentração final de 20,0% (KONEMAN et al., 1997).

### **3.3.3- Identificação das amostras:**

Foram caracterizadas como pertencentes à família Enterobacteriaceae e ao grupo dos bacilos não fermentadores através dos testes de oxidação-fermentação (OF) e de oxidase. A identificação ao nível de gênero e espécie foi realizada pelos seguintes testes:

a) família Enterobacteriaceae: fermentação da lactose, produção de Indol, motilidade, utilização de citrato, hidrólise da uréia, produção de gás sulfídrico, fenilalanina desaminase, lisina e ornitina descarboxilase, e reação do vermelho de metila (ISENBERG, 1992).

b) bacilos não fermentadores: redução de nitrato, utilização de gluconato, produção de pigmento, atividade da lisina descarboxilase, produção de catalase, urease, produção de Indol, hidrólise de acetamida e de esculina (KONEMAN et al., 1997).

### 3.3.4- Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos:

#### 3.3.4.1- Teste de difusão em ágar:

O teste de difusão em ágar foi realizado de acordo com as recomendações do "National Committee for Clinical Laboratory Standards" (NCCLS, 1999). Para cada amostra foi preparada uma suspensão contendo aproximadamente  $1-2 \times 10^8$  UFC/ml (turvação correspondente à escala 0,5 de McFarland), a qual foi semeada em placas de Ágar Mueller-Hinton, seguido-se a aplicação dos seguintes discos de antimicrobianos: amicacina (30 µg), ceftazidima (30 µg), aztreonam (30 µg), cefalotina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cefoxitina (30 µg), cefotaxima (30 µg), cefepima (30 µg), imipenem (10 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), trimetoprim/sulfametoxazol (1,25 /23,75 µg). Foi utilizado como amostra padrão *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Amostras multiresistentes:** foram caracterizadas como multiresistentes aquelas amostras que apresentaram resistência a dois ou mais de três grupos de antimicrobianos.

#### 3.3.4.2-Teste de sinergismo com duplo disco:

A detecção de amostras de bactérias produtoras de  $\beta$ - lactamases de espectro ampliado (fenótipo ESBL) foi realizado em placas de Ágar Mueller-Hinton, com a aplicação de discos, ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg) ceftriaxona (30 µg) e aztreonam (30 µg), colocados uma distância de 30 mm de centro a centro de um disco de amoxicilina (10 µg) associada a um inibidor de  $\beta$ -lactamase o ácido clavulânico (20 µg) (LIVERMORE, 1995). Após a incubação por 24 horas a 37 °C, a observação no crescimento da zona de inibição de aéreas de distorção entre os discos, indicando sinergismo, sendo indicativo da produção de ESBL. Foram utilizados como controle

amostras de *Escherichia coli* ATCC 25922 (controle negativo) e de *Klebsiella pneumoniae* Micro 23 (controle positivo). As amostras do fenótipo AmpC foram caracterizadas pela negatividade no teste de sinergismo com duplo-disco e resistência a cefoxitina.

### **3.5-Análise estatística:**

Foi realizada a análise univariada na avaliação dos fatores de risco para colonização e/ou infecção por BGN. Os testes utilizados foram o  $X^2$ , Exato de Fisher, Risco Relativo (RR) com intervalo de confiança de 95% (CI<sub>95</sub>) (DEAN et al., 1995).

### **3.6-Comissão de ética:**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética da Universidade Federal de Uberlândia. CEP Nº: 075/2001, anexo-III.



## 4- RESULTADOS

Durante o período referente ao estudo foram admitidos 4791 neonatos destes somente 3000 neonatos permaneceram internados no BAR do HC/UFU, verificando-se uma incidência de infecções hospitalares por BGN de 3,2%, correspondendo a 95 episódios, diagnosticados através de critérios microbiológicos (Tabela 1), sendo 77,9% identificados como infecções endêmicas e 22,1% como infecções epidêmicas, estes últimos referentes a dois surtos compreendendo 21 episódios associados a *Pseudomonas aeruginosa* (N=10) e *Acinetobacter baumannii*, (N=11) (Tabela 2).

TABELA 1-Incidência de infecções por BGN em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

Ano	Internações*		Taxa de infecções hospitalares	
	N		N	%
2001	1551		56	3,6
2002	1449		39	2,7
Total	3000		95	3,2

\* Neonatos que permaneceram internados no BAR

TABELA 2- Incidência de infecções endêmicas e epidêmicas em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

Infecções	Ano				Total	
	2001		2002			
	N	%	N	%	N	%
Endêmicas	42	56,8	32	43,2	74	77,9
Epidêmicas	14	66,7	7	33,3	21	22,1
Total	56	58,9	39	41,1	95	100,0

No que se refere as infecções endêmicas as síndromes infecciosas mais frequentes foram sepse (36,4%), e conjuntivite (29,7%) seguidas de infecção do trato urinário (20,2%); entre as infecções epidêmicas a sepse (47,6%) e a conjuntivite (33,3%) foram às síndromes mais comuns (Tabela 3).

TABELA 3- Síndromes infecciosas de natureza endêmica e epidêmica em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

Síndromes infecciosas (N)	Infecções					
	Endêmicas			Epidêmicas		
	2001 n (%)	2002 n (%)	Total n (%)	2001 n (%)	2002 n (%)	Total n (%)
Sepse (37)	9 (24,3)	18 (48,6)	27 (36,4)	5 (14,7)	5 (14,7)	10 (47,6)
Conjuntivite (29)	14 (48,3)	8 (27,6)	22 (29,7)	6 (20,7)	1 (3,4)	7 (33,3)
Infecção urinária (16)	10 (62,5)	5 (31,3)	15 (20,2)	1 (6,3)	0 (0,0)	1 (4,7)
Infecção cutânea (6)	4 (66,7)	0 (0,0)	4 (5,4)	1 (6,7)	1 (16,7)	2 (9,5)
Outras <sup>1</sup> (7)	4 (57,1)	2 (28,6)	6 (8,1)	1 (14,3)	0 (0,0)	1 (4,7)
Total (95)	41 (43,2)	33 (34,7)	74 (77,9)	14 (14,7)	7 (7,4)	21 (22,1)

<sup>1</sup> Otite (4), sinusite (3)

Os agentes etiológicos mais frequentes associados às infecções foram da família Enterobacteriaceae (69,4%) predominando as amostras de *Enterobacter* spp. (32,4%), *Klebsiella* spp. (26,5%), *Serratia* spp. (16,2%) e *Escherichia coli* (16,2%); e entre os BGN não fermentadores (30,6%) a *Pseudomonas aeruginosa* (46,7%) e *Acinetobacter baumannii* (43,3%) foram os microrganismos mais observados (Tabela 4).

TABELA 4- Agentes etiológicos das infecções em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

Microrganismos	Ano		Total N (%)
	2001 N (%)	2002 N (%)	
Enterobacteriaceae:	41 (70,7)	27 (67,5)	68 (69,4)
<i>Enterobacter</i> spp.	14 (34,5)	8 (29,6)	22 (32,4)
<i>Klebsiella</i> spp.	10 (24,4)	8 (29,6)	18 (26,5)
<i>Escherichia coli</i>	5 (14,6)	6 (22,2)	11 (16,2)
<i>Serratia</i> spp.	9 (21,9)	2 (7,4)	11 (16,2)
<i>Citrobacter</i> spp.	2 (4,8)	2 (7,4)	4 (5,9)
<i>Proteus mirabilis</i>	1 (2,4)	1 (3,7)	2 (2,0)
BNG não fermentadores:	17 (29,3)	13 (32,5)	30 (30,6)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11 (64,7)	3 (23,1)	14 (46,7)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5 (29,4)	8 (61,5)	13 (43,3)
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	0 (0,0)	1 (7,7)	1 (3,3)
<i>Burkholderia cepacia</i>	1 (5,9)	1 (7,7)	2 (6,7)
Total	58 (59,2)	40 (40,8)	98 (100,0)

A maioria dos BGN correspondentes aos episódios de infecções endêmicas pertenciam a família Enterobacteriaceae (88,3%) (Tabela 5).

TABELA 5- Agentes etiológicos das infecções de natureza endêmica e epidêmica em neonatos internados no BAR do HC-UFU no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

Microrganismos	Infecções	
	Endêmicas n (%)	Epidêmicas n (%)
Enterobacteriaceae:	68 (88,3)	0 (0,0)
<i>Enterobacter</i> spp.	22 (32,4)	0 (0,0)
<i>Klebsiella</i> spp.	18 (26,5)	0 (0,0)
<i>Escherichia coli</i>	11 (16,2)	0 (0,0)
<i>Serratia</i> spp.	11 (16,2)	0 (0,0)
<i>Citrobacter</i> spp.	4 (5,8)	0 (0,0)
<i>Proteus mirabilis</i>	2 (2,9)	0 (0,0)
BNG não fermentadores:	9 (11,7)	21 (100,0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 (44,4)	10 (44,6)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 (22,2)	11 (52,4)
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	1 (11,1)	0 (0,0)
<i>Burkholderia cepacia</i>	2 (22,2)	0 (0,0)
Total	77 (100,0)	21 (100,0)

Quanto à etiologia das síndromes infecciosas independente da natureza das infecções, os principais microrganismos associados aos casos de sepse foram do gênero *Klebsiella* spp. (50,0%), *Enterobacter* spp. (36,4%) e *Escherichia coli* (27,3%), entre as Enterobacteriaceae e *Acinetobacter baumannii* (76,9%) entre os BGN não fermentadores. Nos casos de conjuntivite predominam os microrganismos dos gêneros *Enterobacter* spp. (36,4%), *Serratia* spp. (36,4%) *Klebsiella* spp. (22,2%) e *Pseudomonas aeruginosa* (57,1%), enquanto que nas infecções urinárias a principal agente foi *E.coli* (36,3%) (Tabela 6).

TABELA 6- Etiologia das síndromes infecciosas em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

Microrganismos	N	Síndromes infecciosas				
		Sepse	Conjuntivite	Infecção urinária	Infecção cutânea	Outras <sup>1</sup>
<i>Enterobacter</i> spp.	22	8 (36,4)	8 (36,4)	4 (18,2)	1 (4,5)	1 (4,5)
<i>Klebsiella</i> spp.	18	9 (50,0)	4 (22,2)	3 (16,7)	0 (0,0)	2 (11,1)
<i>Escherichia coli</i>	11	3 (27,3)	1 (9,1)	4 (36,3)	3 (27,3)	0 (0,0)
<i>Serratia</i> spp.	11	2 (18,2)	4 (36,4)	3 (27,3)	0 (0,0)	2 (18,2)
<i>Citrobacter</i> spp.	4	1 (25,0)	0 (0,0)	1 (25,0)	0 (0,0)	2 (50,0)
<i>Proteus mirabilis</i>	2	1 (50,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	4 (28,5)	8 (57,1)	1 (7,1)	1 (7,1)	0 (0,0)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13	10 (76,9)	2 (15,4)	0 (0,0)	1 (7,7)	0 (0,0)
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	1	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	1 (50,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	98	40 (40,8)	29 (29,6)	16 (16,3)	6 (6,1)	7 (7,1)

<sup>1</sup>Otite (4), sinusite (3)

Foram incluídos 135 neonatos no estudo de prevalência distribuídos nos diferentes setores do BAR, com 21,5% (29/135) deles colonizados por amostras susceptíveis e 41,5% (56/135) por amostras resistentes a 2 µg/ml de ceftazidima, respectivamente, (Tabela 7).

TABELA 7-Freqüência de neonatos colonizados por microrganismos da família Enterobacteriaceae resistentes a 2µg/ml de ceftazidima, internados em diferentes setores do BAR do HC-UFU, nos quatro inquéritos de prevalência realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro e Agosto/2002.

Setor	Neonatos	
	Internados	Colonizados
	N	N %
UTI	65	26 40,0
Intermediário I e II	54	22 40,7
Berçário externo	16	08 50,0
Total	135	56 41,5

A colonização por estes microrganismos foi observada em diferentes sítios anatômicos inclusive boca, boca e intestino e somente o intestino, sendo que quatro neonatos apresentaram colonização por dois microrganismos diferentes no mesmo sítio. O intestino foi o sítio com maior freqüência de colonização (59,0%) (Tabela 8).

TABELA 8-Prevalência de neonatos colonizados em diferentes sítios anatômicos por isolados de Enterobacteriaceae multirresistentes internados no BAR do HC-UFU, durante os períodos de Setembro, Novembro/2001, Fevereiro e Agosto/2002.

Inquéritos (data)	Neonatos			Sitio anatômico		
	N <sup>1</sup>	n <sup>2</sup>	(%)	Boca	Intestino	Boca e intestino
1 <sup>o</sup> (09/01)	35	19	(54,6)	1 (5,3)	13 (68,4)	5 (26,3)
2 <sup>o</sup> (11/01)	27	12	(44,4)	5 (42,0)	3 (25,0)	4 (33,3)
3 <sup>o</sup> (02/02)	36	6	(19,4)	2 (33,3)	3 (50,0)	1 (16,7)
4 <sup>o</sup> (08/02)	37	19	(51,4)	3 (15,8)	14 (73,7)	2 (10,5)
Total	135	56	(41,5)	11 (19,6)	33 (59,0)	12 (21,4)

<sup>1</sup>Total de neonatos, <sup>2</sup>Total de neonatos colonizados por BGN multirresistentes.

No total, foram identificadas 115 amostras pertencentes à família Enterobacteriaceae colonizando os neonatos. A relação dos BGN associados aos casos de infecção e de colonização está na Tabela 9, indicando uma estreita relação entre os BGN identificados nos casos de infecção endêmica com aquelas associadas à colonização, destacando-se os gêneros *Enterobacter* spp. (32,3%-infecção, 41,7%-colonização) e *Klebsiella* spp. (26,7%-infecção e 17,4%-colonização). Esta concordância não foi observada para as amostras de BGN não fermentadores, associadas às infecções epidêmicas.

Tabela 9- Frequências dos diferentes bacilos Gram-negativos isolados a partir de neonatos infectados e colonizados internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

Microrganismos	Infecção		Colonização	
	N	%	N	%
Enterobacteriaceae:	68	69,4	115	100,0
<i>Enterobacter spp.</i>	22	32,3	48	41,7
<i>Klebsiella spp.</i>	18	26,5	20	17,4
<i>Serratia spp.</i>	11	16,2	15	13,1
<i>Escherichia coli</i>	11	16,2	13	11,3
<i>Citrobacter spp.</i>	4	5,8	9	7,8
Outras <sup>1</sup>	2	2,9	10	8,7
BGN não fermentadores:	30	30,6	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	46,7	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13	43,3	0	0
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	1	3,3	0	0
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	6,7	0	0
Total	98	100,0	115	100,0

<sup>1</sup>*Proteus mirabilis* (5), *Salmonella spp.*(3), *Providência spp.*(2), *Morganella morganii* (2).

Das 115 amostras identificadas nesta investigação, 68 foram caracterizadas como multirresistentes e representadas principalmente pelos gêneros *Enterobacter spp.* (51,5%), *Serratia spp.* (17,6%) e *Klebsiella spp.* (14,7%) (Tabela 10).



TABELA 10-Freqüências de representantes da família Enterobacteriaceae multirresistentes colonizando neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro, Agosto/2002.

Microrganismo	Inquéritos N (%)				Total N (%)
	1°	2°	3°	4°	
<i>Enterobacter</i> spp.	13 (37,1)	8 (22,8)	4 (11,4)	10 (28,6)	35 (51,5)
<i>Serratia</i> spp.	5 (41,7)	1 (8,3)	2 (16,7)	4 (33,3)	12 (17,6)
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (20,0)	0 (0,0)	1 (10,0)	7 (70,0)	10 (14,7)
<i>Escherichia coli</i>	3 (60,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (7,3)
<i>Citrobacter</i> spp.	0 (0,0)	1 (33,3)	0 (0,0)	2 (66,7)	3 (4,4)
<i>Salmonella</i> spp.	0 (0,0)	3 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (4,4)
Total	23,0 (34,8)	15 (22,1)	7 (10,6)	23 (34,8)	68 (100,0)

Os microrganismos associados à colonização apresentaram uma freqüência de resistência alta (50,0-95,0%) para cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, aztreonam e aminoglicosídeos e susceptibilidade apenas para imipenem e fluorquinolonas (Tabela 11). A susceptibilidade dos agentes etiológicos dos casos de infecções hospitalares foi observada somente ao imipenem, e uma freqüência de resistência (> 50,0%) para aminoglicosídeos, aztreonam, ceftaxitina e ceftriaxona (Tabela 12).

Tabela 11-Perfil de resistência antimicrobiana de bacilos Gram-negativos associados à colonização em neonatos internados no BAR do HC-UFU, em inquéritos realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro, Agosto/2002.

Microrganismos	N	Antimicrobiano <sup>1</sup>										
		Cfl	Cfo	Caz	Ctx	Cro	Cpm	Atm	Imp	Ag	Fq	St
<i>Enterobacter</i> spp.	35	97,1	26,4	61,8	88,2	79,4	26,4	58,8	26,4	67,6	17,6	47,0
<i>Serratia</i> spp.	12	92,0	42,0	67,0	92,0	92,0	33,3	67,0	0,0	75,0	17,0	42,0
<i>Klebsiella</i> spp.	10	100,0	10,0	45,0	90,0	80,0	10,0	30,0	0,0	80,0	0,0	10,0
<i>Escherichia coli</i>	5	100,0	0,0	60,0	80,0	0,0	20,0	20,0	0,0	60,0	0,0	40,0
Outros <sup>2</sup>	6	66,7	33,3	66,7	83,3	33,3	16,7	50,0	0,0	66,7	16,7	16,7
Total	68	93,0	37,0	60,1	85,0	70,0	22,0	50,0	13,0	80,0	12,0	35,0

<sup>1</sup>Cfl-cefalotina, Cfo-cefoxitina, Caz-ceftazidima, Cro-ceftriaxona, Cpm- cefipima, Ctx-cefotaxima, Atm-aztreonam, Imp-impenem, Ag-aminoglicosídeos (amicacina e/gentamicina), Fq-fluorquinolona (ciprofloxacina), St-sulfazotrim

<sup>2</sup>*Salmonella* spp. (3), *Citrobacter freundii* (2), *Citrobacter diversus* (1).

TABELA 12- Frequências (%) de resistência das amostras de bacilos Gram-negativos associados a infecções hospitalares em neonatos internados no BAR.do.HC-UFLU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002

Microrganismo	N	Cfo	Antimicrobiano <sup>1</sup>						
			Caz	Cro	Atm	Imp	Ag	Fq	St
Enterobacteriaceae									
<i>Enterobacter</i> spp.	22	100,0	- <sup>2</sup>	85,0	13,6	0,0	63,6	9,0	59,1
<i>Klebsiella</i> spp.	18	53,0	47,0	53,0	47,0	0,0	47,0	7,7	16,7
<i>Escherichia coli</i>	11	14,3	-	36,4	42,8	0,0	0,0	0,0	81,2
<i>Serratia</i> spp.	11	80,0	-	30,0	9,1	0,0	0,0	30,0	30,0
Outros <sup>3</sup>	6	66,7	-	50,0	50,0	0,0	66,7	16,7	33,3
BGN não fermentadoras						0,0			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	-	25,0	-	18,8	0,0	18,8	92,9	42,8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13	-	31,0	-	100,0	0,0	62,0	100,0	46,1
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	1	-	-	-	100,0	0,0	100,0	100,0	0,0
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	-	-	-	100,0	0,0	100,0	50,0	100,0
Total	98	62,8	34,3	50,9	53,5	0,0	51,0	45,1	45,5

<sup>1</sup>Cfl-cefalotina, Cfo-cefoxitina, Caz-ceftazidima, Cro-ceftriaxona, Ctx-cefotaxima, Atm-aztreonam, Imp-impenem, Ag-aminoglicosídeos (amicacina e/ou gentamicina), Fq-fluorquinolonas (ciprofloxacina e /ou perfloxacina), St-sulfazotrim.

<sup>2</sup> Não foi testado, <sup>3</sup> *Proteus mirabilis* (2), *Citrobacter freundii* (3), *Citrobacter diversus* (1).

Na tabela 13 está a distribuição dos fenótipos de resistência das amostras provenientes a colonização dos neonatos internados em diferentes setores do BAR. O fenótipo ESBL foi o mais freqüente (73,2%), predominando em neonatos internados no setor intermediário (77,3%) enquanto o fenótipo AmpC foi mais comumente encontrado (37,5%) no berçário externo. Foram observados dois neonatos colonizados simultaneamente na boca e intestino por amostras apresentando fenótipos diferentes (ESBL e AmpC).

TABELA 13-Distribuição dos fenótipos de resistência de Enterobacteriaceae em neonatos colonizados em diferentes setores do BAR do HC-UFU, durante os inquéritos de prevalência realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro, Agosto/02.

Fenótipo	Neonatos colonizados							
	UTIn		Intermediário		B. Externo		Total	
	N= 26		N= 22		N= 8		N =56	
	n	%	n	%	n	%	n	%
ESBL	19	73,1	17	77,3	5	62,5	41	73,2
AmpC	5	9,2	4	18,2	3	37,5	12	21,4
ESBL+ AmpC	1	3,8	1	4,5	0	0,0	2	3,5

Entre as bactérias caracterizadas como produtoras de ESBL, as mais freqüentes foram *Enterobacter* spp. (47,3%), *Serratia* spp. (20,0%), *Klebsiella* spp. (12,7%), enquanto que no fenótipo AmpC predominaram amostras de *Enterobacter* spp. (69,2), (Tabela 14).

Tabela 14- Frequências das amostras de bacilos Gram-negativos produtores de beta-lactamases de espectro ampliado do fenótipo ESBL e AmpC em neonatos internados no BAR do HC-UFU durante os inquéritos de prevalência realizados nos períodos de Setembro, Novembro/2001 e Fevereiro, Agosto/2002.

Microrganismos	Fenótipos		Total N (%)
	ESBL N (%)	AmpC N (%)	
<i>Enterobacter</i> spp.	26 (74,2)	9 (25,7)	35 (51,4)
<i>Serratia</i> spp.	11 (92,0)	1 (7,1)	12 (17,6)
<i>Klebsiella</i> spp.	7 (70,0)	3 (30,0)	10 (14,7)
<i>Escherichia coli</i>	5 (100,0)	0 0,0	5 (7,4)
<i>Citrobacter</i> spp.	3 (100,0)	0 0,0	3 (4,1)
<i>Salmonella</i> spp.	3 (100,0)	0 0,0	3 (4,1)
Total	55 (80,9)	13 (19,1)	68 (100,0)

A relação entre os fatores de risco associados à colonização e/ou infecção por esses microrganismos, excluindo aqueles relacionados a infecções epidêmicas está na tabela 15. Todos os fatores intrínsecos considerados excetuando-se o peso, bem como os extrínsecos, foram mais associados aos neonatos infectados ( $p \leq 0,05$ ) quando da análise estatística univariada.

Tabela 15- Fatores de risco para colonização e infecção por bacilos Gram-negativos em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro2002

Fatores de risco	Neonatos		RR <sup>1</sup> (IC) <sup>2</sup>	Valor P <sup>3</sup>
	Colonizados	Infectados		
	(N=85) n (%)	(N=40) n (%)		
<b>Intrínsecos</b>				
Tempo de internação > 7 dias	53 (62,4)	39 (97,5)	0,59 (0,49-0,72)	<0,0001
Peso <1500g	28 (32,9)	17 (42,5)	0,87 (0,67-1,14)	0,4015
<b>Extrínsecos</b>				
Uso de antibióticos	27 (31,7)	38 (95,0)	0,43 (0,32-0,59)	<0,0001
Nº ≥2	9 (10,6)	36 (90,0)	0,21 (0,12-0,38)	<0,0001
Nº <2	18 (21,2)	2 (10,0)	1,41 (1,15-1,73)	0,0413
Uso de cefalosporinas de 3 <sup>a</sup> /4 <sup>a</sup> geração	3 (3,5)	17 (42,5)	0,19 (0,07-0,55)	<0,0001
Uso de procedimentos invasivos:				
CVC <sup>4</sup>	13 (15,3)	15 (37,5)	0,63 (0,41-0,95)	0,0108
Ventilação mecânica	9 (10,6)	20 (50,0)	0,39 (0,23-0,68)	<0,0001
Cirurgia	2 (2,4)	23 (57,5)	0,10 (0,03-0,37)	<0,0001
Nutrição parenteral	4 (4,7)	17 (42,5)	0,24 (0,10-0,59)	<0,0001

<sup>1</sup>RR= Risco Relativo, <sup>2</sup>IC= Intervalo de confiança, <sup>3</sup>P= <0,05, <sup>4</sup> Cateter vascular central

As frequências de neonatos colonizados observados nos quatro inquéritos realizados estão na figura 1, juntamente com a curva de consumo de ceftriaxona (unidades) no BAR durante o período em que foi realizado o estudo, e aponta uma relação na prescrição desta cefalosporina e a proporção de neonatos colonizados com BGN resistentes a ceftazidima bem como dos pertencentes ao fenótipo ESBL.

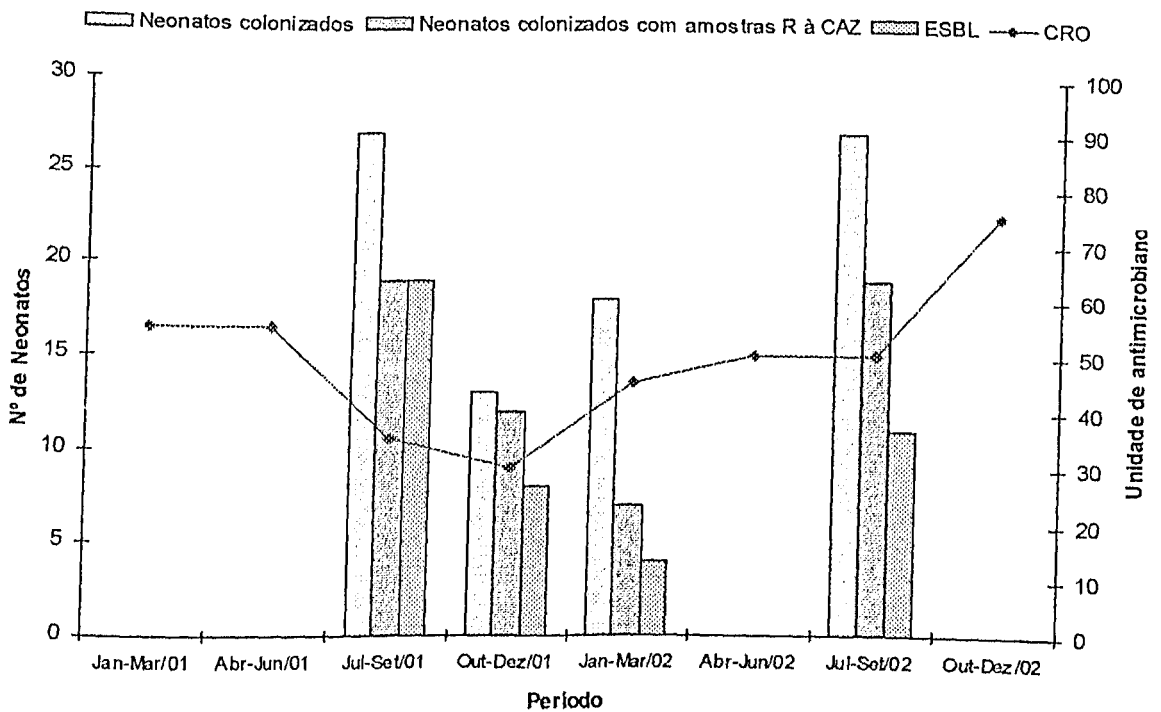


FIGURA 1-Freqüência do consumo de ceftriaxona (CRO) e a colonização por BGN produtores de beta-lactamases de espectro ampliado em neonatos internados no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.

O aumento no consumo de carbapenemas na unidade coincidiu com a emergência de amostras epidêmicas de *Acinetobacter baumannii* verificado a partir de Outubro-Dezembro de 2001 (Figura 2).

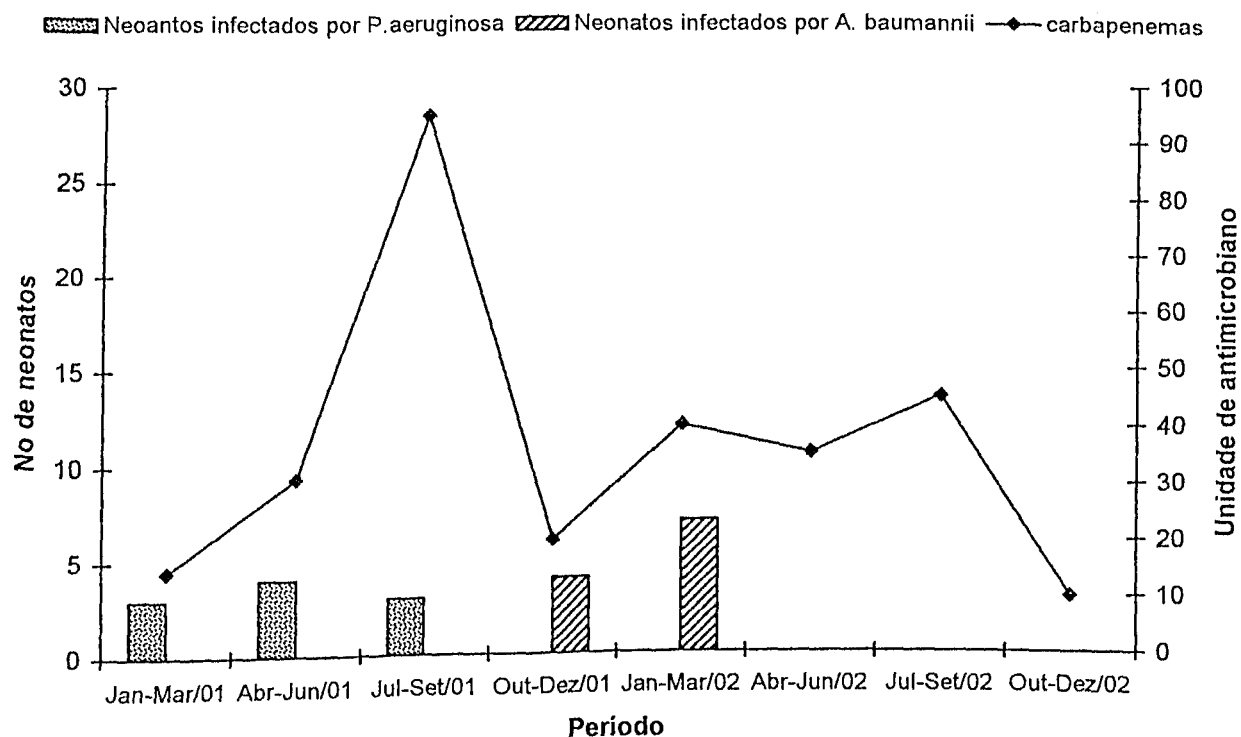


FIGURA 2-Freqüência do consumo de carbapenemas e de neonatos infectados por amostras epidêmicas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* no BAR do HC-UFU, no período de Janeiro/2001 a Dezembro/2002.



## 5- DISCUSSÕES

---

Nesse estudo, a incidência de infecções em neonatos causadas por bacilos Gram-negativos foi de 3,2%, representadas na sua maioria por microrganismos da família Enterobacteriaceae (69,4%) e o restante por BGN não fermentadores. No período investigado foram detectados dois surtos por *Pseudomonas aeruginosa* (n=10) e *Acinetobacter baumannii* (n=11), correspondendo à cerca de 22,1% do total das infecções, portanto superior ao observado na população hospitalar como um todo (5-10%), confirmando assim a maior frequência de surtos nessas unidades (MACGOWAN; METCHOCK, 1995; RICHTMANN, 2002).

Ao contrário do que se observa usualmente, não foram detectados surtos por amostras de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens* e *Citrobacter freundii*, comuns nessas unidades (TOLTIZ; BLUMER, 1995). Entretanto no período considerado, as amostras pertencentes aos gêneros *Enterobacter* spp. (32,4%) e *Klebsiella* spp. (26,5%) predominaram como agentes de infecções endêmicas.

As síndromes infecciosas mais frequentes, independente da natureza da infecção, foram sepse (38,9%) e conjuntivite (30,5%), seguindo-se as infecções do trato urinário (16,8%). Estes dados estão de acordo com os observados nestes pacientes nos hospitais americanos (SIEGEL, 1998; SINGH et al. 2002), excetuando-se a ausência de pneumonias, devido à inexistência de uma rotina no diagnóstico microbiológico por técnica quantitativa no HC/UFU. Em uma investigação realizada na UTIn do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, Brasil, Nagata; Brito; Matso (2002), considerando todos os patógenos, demonstram que o pulmão foi o sítio anatômico mais afetado, porém com diagnóstico etiológico relatado apenas em 10 de 46 neonatos, e sem avaliação quantitativa. Estes autores registraram que, a proporção dos casos com confirmação laboratorial foi pequena e a *Klebsiella pneumoniae* (20,0%) foi o bacilo Gram-negativo mais frequente. Já no BAR do Hospital Maternidade Alexander Fleming II no Rio de Janeiro, Loureiro et al. (2002), analisando apenas casos de sepse verificaram que entre os episódios associados os bacilos Gram-negativos, 71,6% foram por Enterobacteriaceae e o restante por BGN não fermentadores, sendo *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia marcescens* os agentes mais frequentemente isolados e os BGN não fermentadores foram identificados na sua maioria

como *Pseudomonas aeruginosa* (60,3%). Entretanto não havia referências quanto às infecções, se eram endêmicas ou epidêmicas.

O monitoramento microbiológico dos neonatos em BAR/UTIn é motivo de controvérsia, apontado por alguns autores, como de baixa sensibilidade quanto ao valor preditivo para o desenvolvimento de sepse, mas importante quando associado a surtos por microrganismos multirresistentes, segundo outros autores (EVANS, 1988; DOBSON, 1992; DANJANOVIC; VAN SAENE; HART, 1995; ISAACS; WILKINSON; MOXON, 1997). Ao contrário do observado nessa investigação, as amostras epidêmicas de *Acinetobacter baumannii* não foram detectadas em pacientes colonizados nos inquéritos realizados no período de 25 e 5 semanas após início dos surtos, respectivamente. Entre os fatores de risco mais frequentemente associados à colonização intestinal por microrganismos como *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. destacam-se o tempo de internação e o uso de antimicrobianos de amplo espectro (ROSE; SCHREIR, 1968; GOLDMANN; JEANNE-LECLAIR; MACONE, 1978; VIERA et al. 1999). Nessa série as amostras de Enterobacteriaceae mais prevalentes colonizando o intestino dos neonatos foram de *Enterobacter* spp. (59,1%) e *Klebsiella* spp. (16,0%) sendo também, as mais associadas aos casos de sepse, conjuntivite e infecção urinária. Na população colonizada ou com infecção endêmica por Enterobacteriaceae a maioria estava em uso de antimicrobianos (52,0%) e internados na unidade a mais de sete dias (73,6%). No total, cerca de 41,5% dos neonatos estavam colonizados por microrganismos multirresistentes, predominantemente no intestino (59,0%).

Embora a maioria das crianças colonizadas não desenvolva infecção, a colonização representa um fator de risco não só para o neonato, mas para os demais pacientes internados no mesmo setor, por servir como reservatório para a transmissão de microrganismo de paciente a paciente e/ou paciente aos profissionais de saúde através das mãos (GOLDMANN; JEANNE-LECLAIR; MACONE, 1978; SINGH et al. 2002).

Na investigação realizada na UTIn em Londrina/Pr, como anteriormente referido, os fatores de risco associados com infecções, na sua maioria sem diagnóstico etiológico, foram o baixo peso, idade gestacional, ventilação mecânica, nutrição parenteral, cateter umbilical, uso de antimicrobianos e entubação na sala de parto. A exemplo do que foi relatado por Singh et al. (2002), quando comparou crianças colonizadas versus infectadas por microrganismos da família Enterobacteriaceae em relação aos fatores de risco intrínsecos e extrínsecos, as crianças com baixo peso (<1000 gramas) que permaneceram mais tempo internados e receberam terapêutica antimicrobiana prolongada estavam mais

associadas com os casos de infecção assim como o uso de cateter venoso central e ventilação mecânica. A maioria dos fatores de risco analisados no nosso estudo foram associados com os casos de infecção, excetuando-se o baixo peso (<1500 gramas), apesar de 36,0% dos neonatos infectados e colonizados apresentarem esta característica.

A utilização de antibióticos em neonatos é ainda maior do que em outros pacientes em função da frequência elevada de pacientes infectados, da dificuldade no diagnóstico clínico das infecções e na alta mortalidade observada nestas unidades (FONSECA; EHRENKRANZ; BALTIMORE, 1994; NAGATA; BRITO; MATSO, 2002). Na investigação realizada por Nagata; Brito; Matso (2002), o uso de antimicrobianos foi relatado em 46,0% dos neonatos, semelhante ao observado no BAR do HC-UFU (52,0%). Esta proporção foi ainda mais alta (83,0%) em trabalho realizado por Loureiro et al. (2002), no BAR no Rio de Janeiro. Isto resulta em uma pressão seletiva que somada a outros fatores de risco, tais como a densidade do uso de antimicrobianos nesta unidade, o tempo de internação e os procedimentos invasivos favorecem a emergência de amostras multirresistentes (GROGAN; MURPHY; BUTLER, 1998; CORDEIRO; SANANES; AYERS, 1999; VAN DEZWET; PARLEVLIET; SVELKOU, 1999).

Nesta investigação, entre os pacientes infectados, a frequência de patógenos apresentando resistência a ceftriaxona, cefoxitina, aztreonam e aminoglicosídeos foram de 50,0-65,0%, mais comum em amostras de *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. *E. coli* e *Citrobacter* spp. enquanto que entre aquelas associadas à colonização a resistência a cefalosporinas de terceira geração, bem como para aztreonam e aminoglicosídeos foi acima de 50,0% detectada principalmente em *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Klebsiella* spp. e *E. coli*.

Entre os microrganismos de importância epidemiológica em hospitais, destacam-se os produtores de beta-lactamases de espectro ampliado, com predomínio dos fenótipos ESBL e AmpC, associados principalmente a amostras de *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* e ao grupo CESP, respectivamente (JONES, 2000; WINOKUR et al. 2001). A presença do fenótipo ESBL é associada principalmente ao uso de dispositivos intravasculares, ventilação mecânica, baixo peso ao nascer, cirurgia, colonização gastrointestinal após o uso prolongado de cefalosporinas e uso prévio de antibióticos, particularmente cefalosporinas de terceira geração (JONES, 2000). Na investigação realizada por Loureiro et al. (2002) 69,5% das amostras de *Klebsiella pneumoniae* isoladas dos neonatos foram associadas a casos de sepse além de serem produtoras de ESBL. Nessa série, a pesquisa de microrganismos pertencentes ao fenótipo ESBL, somente foi realizada entre as amostras de

colonização, sendo verificadas não só em *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli* que são considerados seus reservatórios tradicionais, mas também em *Enterobacter* spp. e *Serratia* spp. entre outras (JONES, 2000). No total, a proporção de neonatos colonizados por microrganismos resistente a ceftazidima e produtores de beta-lactamases de espectro ampliado nos quatro inquéritos de prevalência variou de 16,7% (3º inquérito) a 54,6% (1º inquérito), relacionando-se com o uso de cefalosporinas de terceira geração na unidade. Entretanto, o uso destes beta-lactâmicos não foi significativo no grupo de neonatos colonizados que apresentou esse fenótipo, ao contrário do observado para os fatores de risco como: período de internação prolongado, uso de procedimentos invasivos, nutrição parenteral, cirurgia, quando comparado com neonatos não colonizados.

Os antibióticos estão entre as drogas mais prescritas nos hospitais inclusive no HC-UFU, onde cerca de 50,0% dos pacientes internados utilizam antibióticos (TRINDADE et al., 1997). O seu impacto é importante não apenas quanto aos custos, mas, sobretudo porque sua utilização resulta em alterações na microbiota hospitalar, levando ao aparecimento de microrganismos intrinsecamente resistentes como *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus* spp. ou na emergência de microrganismos com resistência adquirida (KUNIN, 1993). O que se observa rotineiramente é a necessidade freqüente de mudanças dos antibióticos utilizados nos pacientes hospitalizados (FONSECA, 2002). No momento, devido à característica de multirresistência de microrganismos hospitalares, torna-se indispensável que as farmácias hospitalares disponibilizem antibióticos como: cefalosporinas de terceira geração e carbapenemas, que são efetivas contra a maioria das bactérias Gram-negativas (TRINDADE et al., 1997). Entretanto a exposição as cefalosporinas de terceira e quarta geração em particular, tem sido associado ao aumento de amostras resistentes de BGN não fermentadores e da família Enterobacteriaceae a este antimicrobiano, com destaque para aquelas pertencentes aos fenótipos ESBL e AmpC (TOLTZIS et al., 1998).

Os nossos resultados demonstram freqüências elevadas de amostras de Enterobacteriaceae resistentes a ceftriaxona (50,9%) e a ceftazidima (60,1%) em crianças infectadas e colonizadas, respectivamente. A avaliação do mecanismo de resistência revelou que a maioria 55/68 (81,9%) das amostras de colonização foi do fenótipo ESBL, possivelmente pela maior facilidade de disseminação devido a sua natureza plasmidial (VIEIRA et al., 1999), sendo que as do fenótipo AmpC foi verificado em apenas 19,1% dos isolados.

O uso de cefalosporinas de terceira geração, particularmente a ceftazidima, está mais associado à emergência do fenótipo ESBL (JONES, 2000; CALIL et al., 2001). Mas o seu uso no HC-UFU não é freqüente. No entanto, verificou-se uma associação entre a prescrição de ceftriaxona (cefalosporina de terceira geração mais utilizada no BAR do HC-UFU) e a presença de amostras produtoras de ESBL.

As carbapenemas, geralmente são recomendadas no tratamento de infecções por bacilos Gram negativos, incluindo aqueles que apresentam resistência a outros beta-lactâmicos e aminoglicosídeos (YAO; MOELLERING, 1999). Durante a nossa investigação observou-se um aumento na prescrição deste  $\beta$ -lactâmico por ocasião do aparecimento de um surto por *Pseudomonas aeruginosa* na unidade coincidindo com a emergência de um segundo surto por *Acinetobacter baumannii* susceptível ao imipenem, envolvendo 11 crianças.

## 6- CONCLUSÕES

---

Verificou-se:

- Taxa de prevalência de colonização foi alta e que esta colonização foi mais freqüente no intestino.
- Relação entre os bacilos Gram-negativos associados à colonização e infecção quando das infecções endêmicas, ao contrário do observado para as de natureza epidêmica relacionadas a espécie de *A. baumannii*;
- Maior relação entre os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos com os casos de infecção do que com os de colonização;
- Uma freqüência elevada de amostras de BGN com resistência as cefalosporinas de terceira geração tanto entre neonatos infectados quanto nos colonizados;
- Uma presença significativa dos fenótipos ESBL e AmpC entre as amostras produtoras de  $\beta$ -lactamases de amplo espectro nos pacientes colonizados;
- Relação entre o aumento no uso de carbapenemas e o aparecimento da amostra epidêmica de *Acinetobacter baumannii*.

## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS <sup>1</sup>

---

AKOVA, M. Variações regionais na resistência  $\beta$ -lactâmica. In: INOUE, M. *Perguntas e respostas sobre resistência beta-lactâmica*. 1<sup>th</sup> ed., Reino Unido: Cambridge Medical Publications, 1999, cap.1, p.19-32.

BODEY, G.P. Resistência  $\beta$ -lactâmica Hoje e Amanhã, um problema global. In: INOUE, M. *Perguntas e respostas sobre resistência beta-lactâmica*. 1<sup>th</sup> ed., Reino Unido: Cambridge Medical Publications, 1999, cap.1, p.8-18.

BRADLEY, J.S. Neonatal infections. *Pediatrics Infection Diseases*, Baltimore, v.4, p.315-320, 1985.

CALIL, R.; MARBA, S.T.M.; TRESOLDI, A.T. Redution in colonization and nosocomial infection by multiresistant bacteria in neonatal unit after institution of educational measures and resistant in the use of cephalosporins. *Infection Control Hospital Epidemiology*, USA, v.29, n.3, p.133-138, 2001.

CAVALCANTE, M.D.A. *et al.* Cost improvements through the establishment of prudent infection control practices in Brazilian general hospital, 1986-1989. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, USA, v.12, n.11, p.649-653; 1991

COLLINS, C. H.; LYNE, P. M.; GRANGE, J.M. Culture media. In: COLLINS, C. H.; LYNE, P.M.; GRANGE, J. M. *Microbiological Methods*, 7<sup>th</sup> ed. London: Butterworth-Heinemann, 1995, p.60-92.

CORDEIRO, L.; SANANES, M.; AYERS, L.W. Bloodstream infections in a neonatal intensive care unit: 12 years experience with an antibiotic control program. *Infection Control Hospital Epidemiology*, USA, v.20, p.242-246, 1999.

<sup>1</sup> Normas NBR6023 da ABNT(2000)

DAMJANOVIC, V.; VAN SAENE, H. K.; HART, C. A. Letters to the editor, *Journal of Hospital Infection*, Reino Unido, v.31, p.73-74; 1995.

DEAN, A. G. Epi-info, Versão 5.0: *Aword processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers*. Stone Montain, G.A.: USD, Ins; 1995.

DOBSON, S.R. M.; ISAACS, D.; WILKINSON, A.R.; HOPE, P.L. Reduce use of surface cultures for suspected neonatal sepsis and surveillance. *Archives Diseases Children*, v.67, p.44-47, 1992.

EMORI, T.G., CULVER, D.H., HORAN, T.C. National Nosocomial surveillance system NNIS, discription of surveillance methods. *American journal infection control* v.19,p.19-35,1991.

EVANS, M.E.; SCHAFFNER, W.; FEDERSPIEL, C.F.; COTTON, R.B.; MCKEE, K.T.; STRTTON, C.W. Sensitivity, specificity and predictive value of body surface cultures in a neonatl intensive care unit. *JAMA*, v.259, p. 248-2582, 1988.

FONSECA, S.N.S.; EHRENKRANZ.; BALTIMORE, R.S. Epidemiology of antibiotic use in neonatal intensive care unit. *Infection Control Hospital Epidemiology, USA*, v.15, n.3, p.156-62, 1994.

FONSECA, S.N.S. Tratamento das infecções hospitalares e uso racional dos antimicrobianos. In: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar *Diagnóstico e Prevenção de Infecção Hospitalar em Neonatologia*. 1ª ed. São Paulo: APECIH, 2002. cap.6, p.63-67.

FOSTER D.H.; DASCHNER, F.D. Acinetiobacter especies as nosocomial pathogens. *Europe Journal Clinic Microbiology Infection Diseases*, v.17, p.73-77, 1998.

GILCHRIST,M.J.R. Enterobacteriaceae; Opportunistic Pathogens ando other genera. In: MURRAY, P.R., BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F.C., YOLKEN, R.H., *Manual of Clinical Microbiology*. 6<sup>th</sup>ed. Washington P .C.: ASM PRESS, 1995. Cap.34 p.457-460.



- GOLDMANN, D.A.; JEANNE-LECLAIR, M.D.; MACONE, A. Bacterial colonization of neonates admitted to an intensive care environment. *Journal Pediatrics*, v.93, n.20, p.288-293, 1978.
- GOLDMAN, D.A.; DURBIN, W.A.; FREEMAN, J. Nosocomial Infections in a neonatal intensive care unit. *Journal Infection Diseases*, Chicago, v.144, p.449-459, 1981.
- GORBACH, S.L., BARTLETT, J.G., BLACKLOW, N.R. Epidemiology of nosocomial infection. In: GORBACH, S.L., BARTLETT, J.G., BLACKLOW, N.R. *Infectious diseases*. ed Philadelphia: W. B. Sanders Company, 1992, Cap.13, p.96-106,
- GROGAN, J.; MURPHY, H.; BUTLER, K. Extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a dublin pediatric hospital. *British Journal Biomedicine Science*, London, v.55, p.111-117, 1998.
- HEMMING, V.Q.; OVERALL, J.C.; BULTT, M.R. Nosocomial infections in a newborn intensive care unit: Results of forty-one months of surveillance. *New English Journal Medical*, London, v.294, p.1320-1311, 1976.
- ISAACS, D.; WILKINSON, A.R.; MOXON, E.R. Surveillance of colonization and late-onset septicemia in neonates. *Journal Hospital Infection*, Reino Unido, v.10, p.114-119, 1987.
- ISENBERG, H. D. Enterobacteriaceae. In: GORBACH, S.L.; BARTLETT, J.G.; BLACKLOW, N.R. *Infectious diseases*. Ed. Philadelphia: W. B. Sanders Company, 1992. Cap.216, p.1463-1478.
- JACOBY, G.A.; MEDEIROS, A.A. More extended spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, v.39, p.824-829, 1995.

JACOBY, G.A. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino- $\beta$ -lactams. *Infections Diseases Clinical of North America*, v.11, n.4, p.875-887; 1997.

JARVIS, W.R. Investigation endemic and epidemic nosocomial infections. In: BENNETT, J.V., BRACHMAN, P.S. *Hospital Infections*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998, Cap.6, p.85-102.

JOLLEY, A.E. The value of surveillance cultures on neonatal intensive care units. *Journal Hospital Infection*, Reino Unido, v.25, p.153-159, 1993.

JONES R. Incidência global, tipos de triagem de beta-lactamases com espectro ampliado. *Infection Disease in Clinical Practice*, April, p.3-9, 2000, Suplemento especial.

KAYER, K. S., FRAIMOW, H. S., ABRUTYM, E. Patogeno resistant to antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, n.12, p.211-313; 2000.

KONEMAN, E.W., *et al.* Enterobactereaceae In: KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDA, W.M., SCHRECKENBERGER, P.C., WINN Jr., W.C. *Diagnostic Microbiology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. Cap.4, p.171-252.

KUNIN, C.M. Resistance to antimicrobial drugs a Word wide calamity. *Annals of Internal Medicine*, v.18, p.557-561, 1993

LOUREIRO, M.M.; de MORAES, B.A.; QUADRA, M.R.R.; PINHEIRO, G.S.; ASENSI, M.D. Study of multi-drug resistant microorganisms isolated from blood cultures of hospitalized newborns in Rio de Janeiro city, Brazil. *Brazilian Journal Microbiology*, Brasil, v.33, p.73-78, 2002.

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

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

MACGOWAN, J.E., METCHOCK, B. Infection control epidemiology and clinical microbiology. In: MURRAY, P.R., BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F.C., YOIKEN, R.H. *Manual of Clinical Microbiology*. 6<sup>th</sup>ed. Washington P .C.: ASM PRESS, 1995, Cap.16, p.182-189.

NAGATA, E.; BRITO, A.S.J.; MATSO, T. Nosocomial infections in neonatal intensive care unit: incidence and risk factors. *Infections Control Hospital Epidemiology, USA*, v.30, p.26-31, 2002.

NATHISUWAN, S.; BURGESS, D.; LEWIS, J.S. Extended-spectrum beta-lactamases: epidemiology, detection, and treatment. *Pharmacotherapy* v.21, n.8, p.920-928, 2001.

National Committee for Clinical Laboratory Performance. *Standards antimicrobial disk susceptibility tests*. Approved Standard M2- A5 NCCLS, Villanova, PA, 1997.

NORDMANN, P. Trends in  $\beta$ -lactam resistance among Enterobacteriaceae. *Clinical of Infections Diseases*, v.27, p.100-106, 1998, Supplement 1.

PITOUT, D.D; SANDERS, C.C.; SANDERS, W.E. Antimicrobial resistance with focus on  $\beta$ -lactam resistance in Gram negative bacilli. *American Journal Medecine*, New York, v.103, p.51-59, 1997.

PRADE, S. S. Estudo brasileiro da magnitude das infecções hospitalares em hospitais terciários. *Revista do Controle de Infecção Hospitalar*, Brasília, v.2, p.11-25; 1995.

QUIN, J.P. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases. *Europe Journal Microbiology Infection Diseases*. v.13, 1994, p.39-42, Supplement 1.

QUINTILIANI, Jr.R.; SAHM, D.F.; COURVALIM, P. Mechanism of resistance to antimicrobial agents. In: MURRAY, P.R., BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F.C., YOIKEN, R.H. *Manual of Clinical Microbiology*. 6<sup>th</sup> ed. Washington P .C.: ASM PRESS, 1995. Cap. 117, p.1505-1522

RABELO, L.F.D. *Prevalência de infecções hospitalares e fatores de risco intrínsecos e extrínsecos em pediatria nos hospitais universitários de Uberlândia e Rio de Janeiro*, 1995. 86f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) Programa de Pós-Graduação do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.

RICHTMANN, R. Cadeia epidemiológica da infecção neonatal. In: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar. *Diagnóstico e prevenção de infecção hospitalar em neonatologia*, São Paulo, Brasil: APECIH, 2002, Cap.3, p.20-28.

ROSE, H.D.; SCHREIR, J. The effect of hospitalization and antibiotic therapy on the gram-negative fecal flora. *American Journal Medicine Science*, New York, v.21, n.55, p.228-236, 1968.

SANDERS, C.C., THOMPSON, K.S., BRADFORD. Problems with detection of  $\beta$ -lactam resistance among non fastidious Gram-negative bacilli. In: MOELLERING, C., JR. WASHINGTON, J. A. *Infectious Diseases Clinical of North America: Laboratory. Diagnosis of Infectious Diseases*. Philadelphia: The W. B. Saunders Co., 1993, p.411-424.

SIEGEL, J.D. The newborn nursery. In: BENNETT, J.V.; BRACHMAN, P.S. *Hospital Infections*, 4<sup>th</sup> ed., Philadelphia: Lippinott-Raven, 1998, Cap.26, p.403-420.

SILVESTRI, *et al.* Are most ICU infections really nosocomial? A prospective observational cohort study in mechanically ventilated patients. *Journal of Hospital Infection*, Reino Unido, v.42, p.125-133; 1999.

SINGH-NAZ, N. Risk factors for nosocomial infection in critically ill children: a prospective cohort study. *Pediatric Critical Care*, v.24, n.5, p.875-878, 1996.

SINGH, N.; PATEL, K.M.; LEGER, M.M.; SHORT, B.; SPRAGUE, B.M.; KALU, N.; CAMPOS, J.M. Risk of resistant infections with Enterobacteriaceae in hospitalized neonates, *Pediatric Infection Diseases Journal*, Baltimore, v.21, n.11, p.1029-1033, 2002.

THOMSON, K.S.; PREVANS, A.A.M.; SANDERS, C.C. Novel plamid-mediated  $\beta$ -lactamases in Entrobacteriaceae: emerging problems for new  $\beta$ -lactam antibiotics. *Curr. Clinical Tropical Infection Diseases*, v.16, p.151-163, 1996.

TOLTZIS, P., BLUMER, J. L. Antibiotic resistant Gram-negative bacteria in the critical care setting. *The Pediatric Clinics of North America*, v.42, n.3, p.687-702, 1995.

TOLTZIS, P. et al. Antibiotic restrition does not alter endemic colonization with resistant Gram-negative rods in a pediatric intensive care unit. *Critical Care Medicine*, v.26, n.11, p.1893-1899, 1998.

TORTORA, G.F., FUNKE, B.R., CASE, C.L. Princípios de doença e epidemiologia. In: TORTORA, G.F., FUNKE, B.R., CASE, C.L. Microbiologia. 6<sup>th</sup> ed. Porto Alegre, Brasil: Arte Médicas Sul, 2000, Cap.14, p.394-439.

TRINDADE, E.R.; BORGER, L.W.; GONTIJO FILHO, P.P. Nosocomial infections in emergency units of Brazilian hospital. Letters to the editor. *Journal Hospital Infection*, Reino Unido, v.36, p.160-162, 1997.

VAN DEZWET, W.C. et al. Nosocomial outbreak of gentamicin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit contolled by a change in antibiotic plocicy. *Journal Hospital Infection*, Reino Unido, v.42, p.295-302, 1999.

VIEIRA, L.A.; CASTRO, E.A.R.; DUARTE, J.L.B.; PINHEIRO, S.R.; SUASSUAN, I.; PEREIRA, J.A.A. Colonização Intestinal de Recém Nascidos por Enterobactérias Multiresistentes a antimicrobianos em Unidade Neonatal. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, v.75, n.2, p.83-90; 1999.

WAGGNOER-FOUNTAIN, L.A.; DONOWITZ, L.G. Infection in the newborn. In WENZEL R.P. *Prevention and Control of Nosocomial Infections*. 3<sup>th</sup> ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1997, p.1019-1938.

WINOKUR, P.L.; CANTON R.; CASELLAS, J.M.; LEGAKIS, N. Variações na presença de cepas que expressam um fenótipo da  $\beta$ -lactamase de espectro estendido e caracterização de isolados proveniente da Europa, das Américas e da Região do Pacífico Oeste. *Clinical Infection Dis*, v.32, 2001, p.94-103, Supplement 2.

YAO, J.D.C., MOELLERIMG, Jr.R.C. Antibacterial agentes. In: MURRAY, P.R., BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F.C., YOIKEN, R.H. *Manual of Clinical Microbiology*. 7<sup>th</sup> ed. Washington P .C.: ASM PRESS, 1999. Cap.116, p.1478.

8- AEXOS

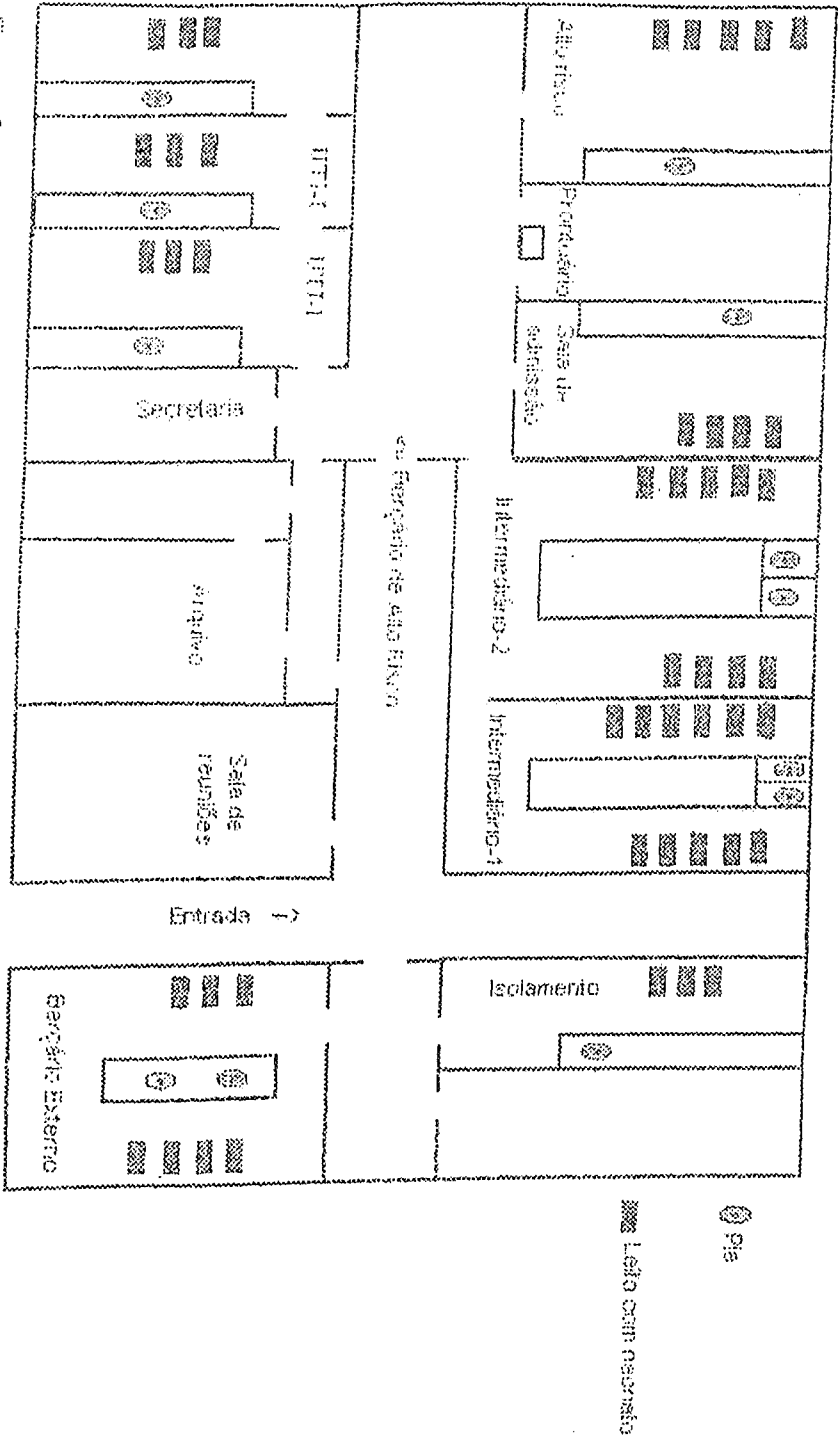


Figura 1 - Esquema do Barco de Alta Fluxão do IFC na UFPA

## ANEXO-II

## Estudo de BGN em neonatos do HC-UFU

Ficha Nº: \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_

Nome do Paciente: \_\_\_\_\_

Sexo: ( ) M/( ) F Idade: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_

Data / Internação: \_\_\_\_\_ Setor do BAR: \_\_\_\_\_ Data/alta \_\_\_\_\_

Doença de Base: \_\_\_\_\_

Diagnóstico Clínico: \_\_\_\_\_

## Fatores de Risco:

- Tempo de internação: ( )  $\geq 7$  dias ( )  $< 7$  dias

- Uso de Antimicrobianos ( ) Sim ( ) Não

Quais?	Início	Término
1. _____	_____	_____
2. _____	_____	_____
3. _____	_____	_____
4. _____	_____	_____

- Procedimentos Invasivos ( ) Sim ( ) Não

Quais? \_\_\_\_\_

-Estar em incubadora ( ) Sim ( ) Não

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

Espécimes clínicos: (infecção) \_\_\_\_\_

Observação: \_\_\_\_\_

---



---



## ANEXOIII

**Universidade Federal de Uberlândia****COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Av. João Naves de Ávila, n.º 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -  
CEP - 38400-089 ☎(034) 239 4131 - 235-2078


Uberlândia, 30 de novembro de 2001.

Processo n.º 075/2001

**PROJETO DE PESQUISA:** "Colonização e Infecção por bacilos gran-negativos em neomatos do Berçário de Alto Risco do Hospital de Clínicas da UFU".

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho

O projeto acima identificado, foi aprovado para ser realizado conforme os autores se comprometem.

  
Prof. Miguel Tanús Jorge  
CEP/UFU