

Perfil da microbiota associada a sepse neonatal em uma maternidade de referência do Estado do Pará, Amazonia, Brasil

Microbiota profile associated with neonatal sepsis in reference maternity in State of Pará, Amazon, Brazil

Perfil de microbiota asociado a sepsis neonatal en una maternidad de referencia en el Estado de Pará, Amazonía, Brasil

Recebido: 30/05/2024 | Revisado: 17/06/2024 | Aceitado: 19/06/2024 | Publicado: 21/06/2024

Erick Sena Santos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-3104-0998>
Universidade Estadual do Pará, Brasil
E-mail: ericksena64@gmail.com

Bianca Evelyn Piedade Sena

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-6847-6603>
Universidade Estadual do Pará, Brasil
e-mail: bievelyn2395@gmail.com

Salma Brito Saraty

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2326-1911>
Universidade Estadual do Pará, Brasil
E-mail: salmasaratybel@hotmail.com

Resumo

A sepse neonatal é uma síndrome clínica, que acomete neonatos, devido a transmissão/colonização de agentes microbianos na gestação ou parto, desenvolvimento desregulado da microbiota da pele e do trato gastrointestinal ou através exposição a cateteres durante estadia hospitalar. Objetivo: Determinar o perfil patogênico implicado na sepse neonatal e suas sensibilidades/resistência aos antimicrobiano. Métodos: O estudo analisou 803 prontuários de neonatos nascido entre 2020 e 2022 na maternidade da referência do Estado do Pará, Amazônia, Brasil. Eles tiveram o diagnóstico clínico de sepse com hemoculturas positivas. Resultados: A prevalência da doença atingiu 13,77%, o óbito 18,80% e a letalidade 19,95%. O *Staphylococcus epidermidis*, foi o mais frequente (56,29%) e foi resistente para Oxacilina e clindamicina. A *Klebsiella pneumoniae* foi observada em 36,57% dos casos e associada ao óbito, ela demonstrou-se multirresistente para Ampicilina, Cefepima, Cefotaxima, Cefuroxima e Ceftriaxona. A sensibilidade foi observada para o Meropenem, Amicacina e Imipenem. Conclusão: Estimar as prevalências do perfil microbianos circulantes, que causam sepse neonatal, assim como suas resistências/sensibilidade foi de suma importância para subsidiar estratégias que melhorem o diagnóstico oportuno e o tratamento adequado, evitando o uso de antibióticos de forma empírica e indiscriminada.

Palavras-chave: Sepse neonatal; Microrganismos; Resistência/Sensibilidade.

Abstract

Neonatal sepsis is a clinical syndrome that affects neonates due to the transmission/colonization of microbial agents during pregnancy or childbirth, unregulated development of the microbiota of the skin and gastrointestinal tract or through exposure to catheters during hospitalization. To determine the pathogenic profile implicated in neonatal sepsis and its sensitivity/resistance to antimicrobials. The study analyzed 803 medical records of neonates born between 2020 and 2022 at the reference maternity hospital in the State of Pará, Amazon, Brazil. They had a clinical diagnosis of sepsis with positive blood cultures. The prevalence of the disease was 13.77%, death 18.80% and lethality 19.95%. *Staphylococcus epidermidis* was the most frequent (56.29%) and was resistant to oxacillin and clindamycin. *Klebsiella pneumoniae* was observed in 36.57% of the cases and associated with death, it proved to be multiresistant to Ampicillin, Cefepime, Cefotaxime, Cefuroxime and Ceftriaxone. Sensitivity was observed for Meropenem, Amikacin and Imipenem. Conclusion: Estimating the prevalence of circulating microbial profiles that cause neonatal sepsis, as well as their resistance/sensitivity, was of paramount importance to support strategies that improve timely diagnosis and adequate treatment, avoiding the empirical and indiscriminate use of antibiotics.

Keywords: Neonatal sepsis; Microorganisms; Resistance/Sensitivity.

Resumen

La sepsis neonatal es un síndrome clínico que afecta a los recién nacidos debido a la transmisión/colonización de agentes microbianos durante el embarazo o el parto, el desarrollo no regulado del microbiota de la piel y el tracto gastrointestinal o por exposición a catéteres durante la estancia hospitalaria. Objetivo: Determinar el perfil patogénico implicado en la sepsis neonatal y su sensibilidad/resistencia a los antimicrobianos. Métodos: El estudio analizó 803 prontuarios de neonatos nacidos entre 2020 y 2022 en la maternidad de referencia del Estado de Pará, Amazonas, Brasil. Tenían diagnóstico clínico de sepsis con hemocultivos positivos. Resultados: La prevalencia de la enfermedad alcanzó 13,77%, muerte 18,80% y letalidad 19,95%. *Staphylococcus epidermidis* fue el más frecuente (56,29%) y fue resistente a oxacilina y clindamicina. *Klebsiella pneumoniae* se observó en el 36,57% de los casos y se asoció a muerte, resultó ser multirresistente a Ampicilina, Cefepima, Ceftazidima, Cefuroxima y Ceftriaxona. Se observó sensibilidad para Meropenem, Amikacina e Imipenem. Conclusión: Estimar la prevalencia de perfiles microbianos circulantes causantes de sepsis neonatal, así como su resistencia/sensibilidad, fue de suma importancia para sustentar estrategias que mejoren el diagnóstico oportuno y el tratamiento adecuado, evitando el uso empírico e indiscriminado de antibióticos.

Palabras clave: Sepsis neonatal; Microorganismos; Resistencia/Sensibilidad.

1. Introdução

Os avanços tecnológicos evidenciados nos últimos anos têm fornecido condições para o aumento da sobrevivência dos recém-nascidos (RN) de peso e idade gestacional cada vez menor (Stoll et al., 2015). Por isso, a necessidade de intervenções médicas nesta população tem aumentado, pois a fragilidade da barreira cutânea e gastrointestinal facilita a colonização de microrganismos patogênicos, culminando em quadros de septicemia neonatal (Odabasi & Bulbul, 2020).

A sepse é uma síndrome clínica grave, que acomete tanto os recém-nascidos a termo quanto os pré-termos, principalmente aqueles com peso inferior a 1500 gramas. Os sinais e sintomas estão associados a quadros graves, tais como: meningite, pielonefrite, pneumonia ou gastroenterite (Pire & Almeida, 2016).

Esta síndrome é um importante fator de risco que contribui para a morbidade neonatal em todo o mundo. Os recém-nascidos são desproporcionalmente afetados em países de baixa e média renda com alta prevalência de doenças infecciosas (Fleischmann et al., 2021). Sua manifestação clínica envolve alterações hemodinâmicas e sistêmicas oriundas da presença de um patógeno na corrente sanguínea, seja ele bactéria, vírus ou fungo (Shane et al., 2017).

A sepse é classificada em precoce, aquela que aparece nas primeiras 48h de vida, ou tardia, quando surge após estas 48h (Brasil, 2013). Trata-se de uma condição com difícil diagnóstico, sobretudo pela baixa acurácia dos exames complementares e dos sinais clínicos inespecíficos. Portanto, o diagnóstico oportuno, junto com a escolha da antibioticoterapia empírica, tem sido utilizado para a redução da morbimortalidade desta condição (Procianoy & Silveira, 2020).

Acredita-se que a sepse de início precoce (SIP) tem como principal via de contaminação a transmissão vertical, seja pelo fluido amniótico que sofreu contaminação ascendente, seja durante a passagem pelo canal vaginal colonizado por bactérias do trato genital inferior materno (Puopolo et al., 2018). Enquanto, a sepse de início tardio pode ter como origem a colonização neonatal inicial e posterior infecção, transmissão horizontal, seja pelo contato com prestadores de cuidados ou por fontes ambientais, ou pela ruptura das barreiras da pele e da mucosa por dispositivos invasivos, como cateter intravascular de longa permanência, exposição a antibióticos e longa hospitalização (Oliveira et al., 2016).

O principal fator de risco para sepse neonatal precoce é a colonização materna por *Streptococcus beta hemolítico do grupo B (GBS)*, bem como pela bactéria *Escherichia coli*, sendo as duas responsáveis por aproximadamente dois terços das infecções de início precoce (Schrage et al., 2016). Já os outros agentes bacterianos associados, como o *Staphylococcus aureus* que é um patógeno potencial na sepse neonatal, incluindo aqueles resistente à metilicina, pode ser adquirido na comunidade (Fortunov et al., 2006). Outras bactérias gram-negativas como a *Klebsiella*, *Enterobacter*, e *Citrobacter spp* estão associadas às infecções de início tardio, sobretudo em bebês internados nas unidades de terapia intensiva neonatal (Gordon, 2006).

É importante destacar que o perfil dos patógenos relacionados à sepse neonatal sofreram mudanças ao longo do tempo (Sands et al., 2021). Tais mudanças advêm da profilaxia antibiótica intraparto para GBS, que reduziu sua incidência em 80% nos Estados Unidos (Schrag et al., 2016). Ao contrário do que se imaginava, não houve aumento da incidência de outros germes, tal como a *Escherichia coli* com a implementação dessa prática, porém, houve manutenção da carga e mortalidade associada, o que desperta a preocupação para a necessidade de intervenção contra este patógeno (Schrag et al., 2016).

O isolamento de bactérias de uma hemocultura é o método padrão-ouro e mais específico na confirmação diagnóstica de sepse neonatal (Glaser et al., 2021). Entretanto, este sendo negativo, não afasta o diagnóstico, sendo a clínica de grande importância para este manejo, não retardando assim a antibioticoterapia empírica.

Um manejo clínico adequado necessita de informações confiáveis e atualizadas sobre o perfil do agente infeccioso circulante e suas sensibilidades e resistência, para que assim a tomada de decisão na conduta terapêutica nos casos suspeitos de sepse neonatal seja a mais apropriada. No Estado do Pará, Amazônia Brasileira, ainda não se conhece completamente o impacto da sepse pediátrica e acredita-se que os poucos dados relatados na literatura estão subestimados. Deste modo, este estudo teve como objetivo analisar o perfil microbiano e suas resistências/sensibilidades aos antimicrobianos na sepse neonatal precoce e tardia entre os recém-nascidos de uma unidade neonatal pública de referência do Pará, Amazônia Brasil.

2. Metodologia

2.1 Casuística

Este estudo transversal, retrospectivo, de incidência, descritivo e unicêntrico (Zangirolami-Raimundo et al., 2018), foi realizado a partir da análise de 803 prontuários físicos e eletrônicos de recém-nascidos internados no Hospital Santa Casa de Misericórdia do Pará, localizado na Região Metropolitana da cidade de Belém Estado do Pará, Amazônia Brasil, que foram clinicamente diagnosticados com sepse neonatal. O estudo analisou dados do período de 01 de junho de 2020 a 01 de junho de 2022.

Foram coletadas informações sobre tipo de sepse (Tardia ou Precoce), Sexo (Masculino ou feminino), espécie infecciosa, resistência/sensibilidade aos antimicrobianos e desfecho clínico dos casos (Sobrevivência ou Óbito).

A caracterização das espécies microbianas infectantes foi gerada no sistema automatizado Vitek® 2 Compact Biomérieux, que identifica a espécie presente no sangue. Este é inicialmente semeado para o crescimento do microrganismo e as colônias são testadas para a coloração de gram, a fim de classificá-lo em gram positivos e gram negativo e, assim, selecionar o cartão Vitek GPI (Biomérieux), que realiza o antibiograma para determinação da sensibilidade/resistência antimicrobiana. Os resultados foram obtidos seguindo as instruções do fabricante quanto ao preparo do inóculo, leitura e interpretação.

2.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos na pesquisa todas as hemoculturas positivas de recém-nascidos abaixo de 28 dias de vida, com o diagnóstico de sepse neonatal comprovada através de hemocultura positiva. Foram excluídos da pesquisa pacientes, acima de 28 dias de vida, aqueles oriundos de outro serviço no período referido, ou os que não apresentaram nenhum acometimento infeccioso. Foram excluídos também aqueles que apresentaram dados incompletos ou escrita ilegível nos prontuários.

2.3 Estimativa da taxa de letalidade e de sepse neonatal

Para calcular a taxa de letalidade do grupo estudado considerou-se a população de nascidos vivos no Estado do Pará nos anos de 2020, 2021 e 2022 disponível na Plataforma Integrada de Vigilância em Saúde - IVISQ do Ministério da Saúde-Brasil, que pode ser acessado através do link: <http://plataforma.saude.gov.br/natalidade/nascidos-vivos/>.

A taxa anual de sepse neonatal foi calculada em função da razão do número de afetados pelo número de nascidos vivos no ano considerado (2020, 2021, e 2022) por 1000 nascidos vivos. A taxa de letalidade foi obtida dividindo o número óbitos pelo número total de casos de sepse neonatal multiplicado por 100 casos.

2.4 Questões de Ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCMPA) sob CAAE número 66519822.4.0000.5171 e parecer número 5.887.722 no dia 10 de fevereiro de 2023 a partir do qual se iniciou a coleta e análise de dado.

2.5 Análise estatística dos dados

Os dados foram coletados em um formulário padronizado e armazenados em uma planilha eletrônica de dados (Microsoft Excel®, versão 2020) e analisados estatisticamente no software SPSS 20.0.

Nas estatísticas descritivas foram utilizados números absolutos e relativos e medidas de tendência central (média, mediana, desvio padrão). Para comparação de grupos foi usado o Teste Exato de Fisher. A comparação de proporção foi realizada pelo teste do Qui-quadrado binomial e de aderência. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os ranks médios dos números de moléculas antimicrobianas, aos quais os agentes infecciosos foram resistentes entre os sobreviventes e os que evoluíram para óbito. Nos testes aplicados, o nível de significância foi estabelecido em 95% ($p < 0,05$).

3. Resultados

No período de 2020 a 2022 foram registrados 5831 nascimentos na unidade de referência materno-infantil da Santa Casa de Misericórdia do Pará, globalmente, 13,77% deles (803/5831) evoluíram com infecção pós-parto, as quais foram comprovadas através de hemocultura positiva para algum tipo de microrganismo.

A frequência e a taxa de infecções detectadas nos neonatos ano a ano estão discriminadas na Tabela 1. A taxa de infecção por 1000 nascidos vivos, variou de 1,42 (2022) a 2,71 (2021) com média de $2,01 \pm 0,65$ entre os neonatos. A maior frequência e a maior taxa de infecção foram observadas no ano de 2021, que alcançou 18,33% e 2,71 por 1000 nascimentos, respectivamente. Considerando o ano de 2021, que teve o maior número de casos registrados, houve um aumento de 46,06% em relação a 2020, em seguida uma redução de 52,02% no ano de 2022. A frequência de óbito atingiu 18,80% (151/803) dos recém-nascidos e a taxa de letalidade variou de 15,35 a 21,34 por 100 acometidos pela sepse neonatal. Nota-se que, no ano 2021 houve um crescimento de 29,97% na letalidade, em relação ao ano anterior (2020), que registrou o menor valor dos anos analisados. Porém, apesar de em 2022 a taxa ter sido maior, de todo o período, ainda assim, houve uma desaceleração no crescimento da letalidade, quando se constatou um aumento de 6,97% em comparação a 2021 (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de nascimento no Estado do Pará, Taxa de sepse e letalidades entre neonatos que contraíram infecções no período de 2020 a 2022 em uma unidade de referência materno-infantil no Estado do Pará, Amazônia, Brasil.

Ano	Nº de nascimento		Nº de casos de infecção	Nº de óbitos	Frequência de infecção (%)	Taxa de sepse por 1000 Nascimento	Letalidade por 100 acometidos
	Estado do Pará	URN*					
2020	132938	1829	254	39	13,79	1,91	15,35
2021	137129	2024	371	74	18,33	2,71	19,95
2022	125341	1978	178	38	9,00	1,42	21,34

* Unidade de referência materno-infantil no Estado do Pará. Fonte: Autores.

Entre os neonatos acometidos pelas infecções, 13,45% (108/803) tiveram sepse Precoce e 86,55% (695/803) adquiriram infecção hospitalar tardiamente. Em relação ao sexo, 48,07% (386/803) foram meninas e 51,93% (417/803) meninos.

Foram isoladas 34 espécies de microrganismos das hemoculturas, dos quais 73,10% (587/803) eram Gram positivos e 26,90% (216/803) Gram negativos. O grupo dos fungos correspondeu a 8,84% (71/803) e o das bactérias 91,16% (732/803), correspondendo a ampla maioria.

A distribuição dos microrganismos Gram negativos está demonstrada na Tabela 2, entre eles, a *Klebsiella pneumoniae* foi a mais prevalente com 36,57% (79/216), seguido da *Acinetobacter baumannii* que atingiu 32,87% (71/216) das espécies bacterianas. Os patógenos que apresentaram frequência menor que 1% foram representados pela *Klebsiella oxytoca* e *Pantoea agglomerans*, que atingiram percentuais independente de 0,93% (2/216) e as *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Aeromonas hydrophila*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas stutzeri* e *Stenotrophomonas maltophilia* todas atingindo 0,46% (1/216) cada uma.

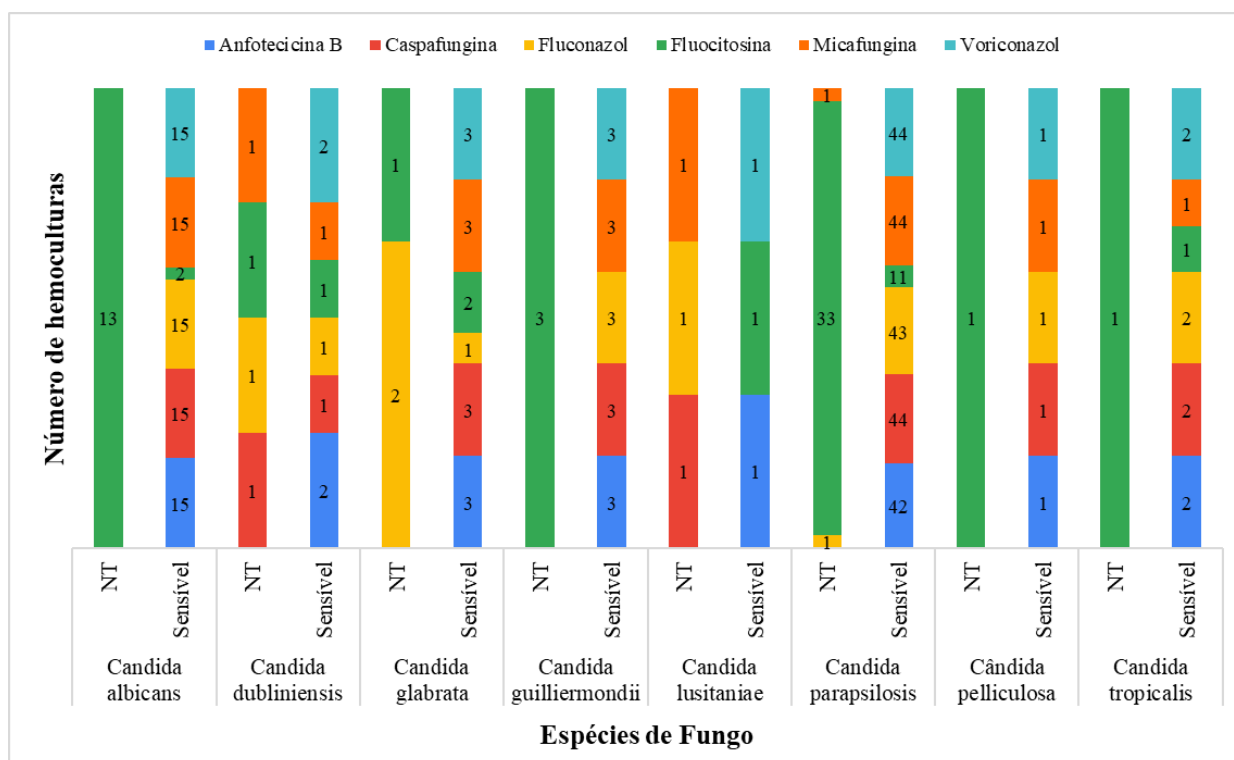
Tabela 2 - Frequência de bactéria Gram negativas e suas Resistência/Sensibilidade verificadas entre neonatos que contraíram sepse no período de 2020 a 2022 em uma unidade de referência materno-infantil no Estado do Pará, Amazônia, Brasil.

Bactérias Gram negativas	N	%	Status	Ácido nalidixico	Amicacina	Ampicilina	Ampicilina Sulbactam	Aztreonam	Amoxicilina clavulanato	Cefepima	Ceftazidima	Ceftazidima avibactam	Cefuroxima	Cefuroxima Acetil	Ceftolozane tazobactam	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Colistina	Daptomicina	Ertapenem	Gentamicina	Imipenem	Linezolid	Meropenem	Norfloxacina	Piperacilina tazobactam	Tigeciclina	Trimetropim sulfametoxazol	Vancomicina
Klebsiella pneumoniae	79	36,57	Res	3	64	37	12		57	56	1	56		3	57	41				45				1	22				
			Sen	71	1	23	2	1	22	31	11	19		8	22	29	1	1	77	33	65	1	76			50	1		
Acinetobacter baumannii	71	32,87	Res	4	4											1					5					31			
			Sen	59	4	34										23	36					66	42		71		42	68	
Escherichia coli	16	7,41	Res	1	8	2	2		6	7		8			7	4					4						2		
			Sen	13	2	6	4		9	11	6	6	2	6	9	11				14	12	10		16		16	13		
Serratia marcescens	12	5,56	Res	1	7	5	4		8	8					8	1					7								
			Sen	6			1		4	9	5					3	6				10	5	6		12				
Enterobacter cloacae	9	4,17	Res	2	1	7	4	1	2						6	6					7			2	5			2	
			Sen	8			1		3	5	2				2	3	3				7	3	7		9		4		
Pseudomonas aeruginosa	6	2,78	Res																		1					1	3		
			Sen	6			2		6	6	2				2		6	4				5	4		6		5		
Pseudomonas mendocina	4	1,85	Res																					1		2	1		
			Sen	4			2		3	3	1				1		4	1				4	2		3		2		
Pseudomonas putida	4	1,85	Res																		3			3		1			
			Sen	4			3		4	4							4					1	1		1		3		
Sphingomonas paucimobilis	4	1,85	Res		2				1						2	1				1				1		1			
			Sen	2					3	4						2	1	2			1	3	3		3		1	2	
Outros	11	5,09	Res		4	1	1		1						1	1				2	1	1		1					1
			Sen	8		3	1		6	6	2					3	7	3			4	8	6		8		7	3	1
Total	216	100,00	Res	2	10	96	42	20	2	72	72	1	64		3	81	55			3	72	1	0	6	3	63	6	3	
			Sen		181	7	66	16	1	60	79	27	27	2	19	42	94	47	1	113	140	146	1	205	0	130	87	1	3

Fonte: Autores.

Em relação às bactérias Gram positivas, o *Staphylococcus epidermidis* foi a mais prevalente, representando 87,60% (452/516) das culturas positivas, seguido pela *Enterococcus faecalis* com 5,23% (27/516) dos casos e *Staphylococcus aureus* com 4,65% (24/516) (Tabela 3). Os fungos foram isolados de 71 neonatos e se distribuíram entre 8 espécies com a *Candida parapsilosis* identificada em 61,97% (44/71) das hemoculturas (Figura 1).

Figura 1 - Frequência de fungos de acordo com o teste de sensibilidade verificada entre neonatos que contraíram sepsé no período de 2020 a 2022 em uma unidade de referência materno-infantil no Estado do Pará, Amazônia, Brasil.



Fonte: Autores.

Globalmente, a resistência microbiana foi testada para 31 princípios ativos e a sensibilidade para 43 moléculas. Os dados dos testes demonstraram resistência em 81,2% (652/803) dos casos, para pelo menos um composto, e em 18,80% (151/803) não foi verificada resistência a qualquer uma das moléculas avaliadas. O teste de sensibilidade detectou que todas as hemoculturas positivas (803) eram sensíveis para pelo menos um fármaco.

De um modo geral, a resistência à Clindamicina foi a mais pronunciada, atingindo cerca de 68,25% (445/652) das análises (Tabela 3) e a sensibilidade à Vancomicina atingiu 64,51% (518/803) deles. No grupo dos antifúngicos, apenas 2 das 71 culturas que tiveram crescimento fúngico apresentaram resistência a anfotericina B, as demais, pelo menos 70 delas, foram sensíveis a Caspofungina (Figura 1).

Entre aqueles que contraíram infecção pelas bactérias Gram negativas, a resistência à ampicilina foi mais frequente (44,44%), seguida pela ceftriaxona (37,50%), cefepima e ceftadizima ambas com (33,33%). A sensibilidade neste grupo foi mais pronunciada ao Meropenem que atingiu (94,90%), à Amicacina (83,79%), ao Imipenem (67,59%), à Gentamicina que atingiu (64,81%) e ao Piperacilina Tazobactam (60,18%) (Tabela 2).

Em relação às bactérias gram positivas, o maior número de resistência foi relacionado à Clindamicina (86,24%) seguida da Gentamicina e Trimetoprim Sulfametoxazol, que atingiram frequências de 48,26% e 35,27%, respectivamente

(Tabela 3). As maiores sensibilidades nesse grupo foram observadas, em ordem, para os seguintes antimicrobianos, Linezolida (63,76%), Tigeciclina (63,95%) e Daptomicina (56,20%) (Tabela 3).

Tabela 3 - Frequência de bactéria Gram positivas e suas Resistência/Sensibilidade verificadas entre neonatos que contraíram sepse no período de 2020 a 2022 em uma maternidade de referência do Estado do Pará, Amazônia, Brasil.

Bactérias Gram Positivos	N	%	Status	Ampicilina	Benzilpenicilina	Ceftarolina	Clindamicina	Clorafenicol	Daptomicina	Eritromicina	Gentamicina	Levofloxacina	Linezolida	Morfloxacina	Oxacilina	Rinfampicina	Teicoplanina	Tetraciclina	Trimetoprim Sulfametoxazol	Tigeciclina	Vancomicina
Staphylococcus epidermidis	452	87,60	Res				434			177	243	249	6		447	123			174		
			Sen				18		253	6	25	18	265		6	145	2		93	267	452
Enterococcus faecalis	27	5,23	Res							6							1				
			Sen	26			1		10	10			27				25			26	27
Staphylococcus aureus	24	4,65	Res		19		7				3	3			9	9	5			5	
			Sen		3	12	19		21		22	20	24		18	18	21			20	24
Enterococcus faecium	5	0,97	Res							1											
			Sen	5						3			5				5			5	5
Staphylococcus haemolyticus	4	0,78	Res		1		3				3	4			4	1	1			3	
			Sen						4		1		4			2	2			1	4
Streptococcus agalactiae	2	0,39	Res															1			
			Sen		1		1	1	1			1	2	1			2	1	1	2	2
Staphylococcus saprophyticus	1	0,19	Res				1														
			Sen						1		1	1	1		1	1	1			1	1
Enterococcus avium	1	0,19	Res																		
			Sen	1						1			1				1			1	1
Total	516	100,00	Res		20	12	445	1		184	249	256	6		460	133	7	1	182		
			Sen	32	4	12	39	1	290	20	49	40	329	1	25	166	59	1	116	330	516

Fonte: Autores.

Considerando a resistência aos diferentes antimicrobianos e as infecções mais frequentes, verificou-se que um mesmo neonato era resistente a mais de um princípio ativos ao mesmo tempo, variando de 2 a 10 (Tabela 4). Merece destaque ao fato de que 47,57% (215/452) das infecções causada por *Staphylococcus epidermidis*, tiveram resistência a um número de moléculas igual ou menor que a mediana (n = 3), contrariamente ao observado na infecção pela *Klebsiella pneumoniae*, na qual 72,15% (57/79) dos casos concentrou resistência microbiana para um número maior de antibióticos, acima da mediana, ou seja, de 4 a 10 (Tabela 4).

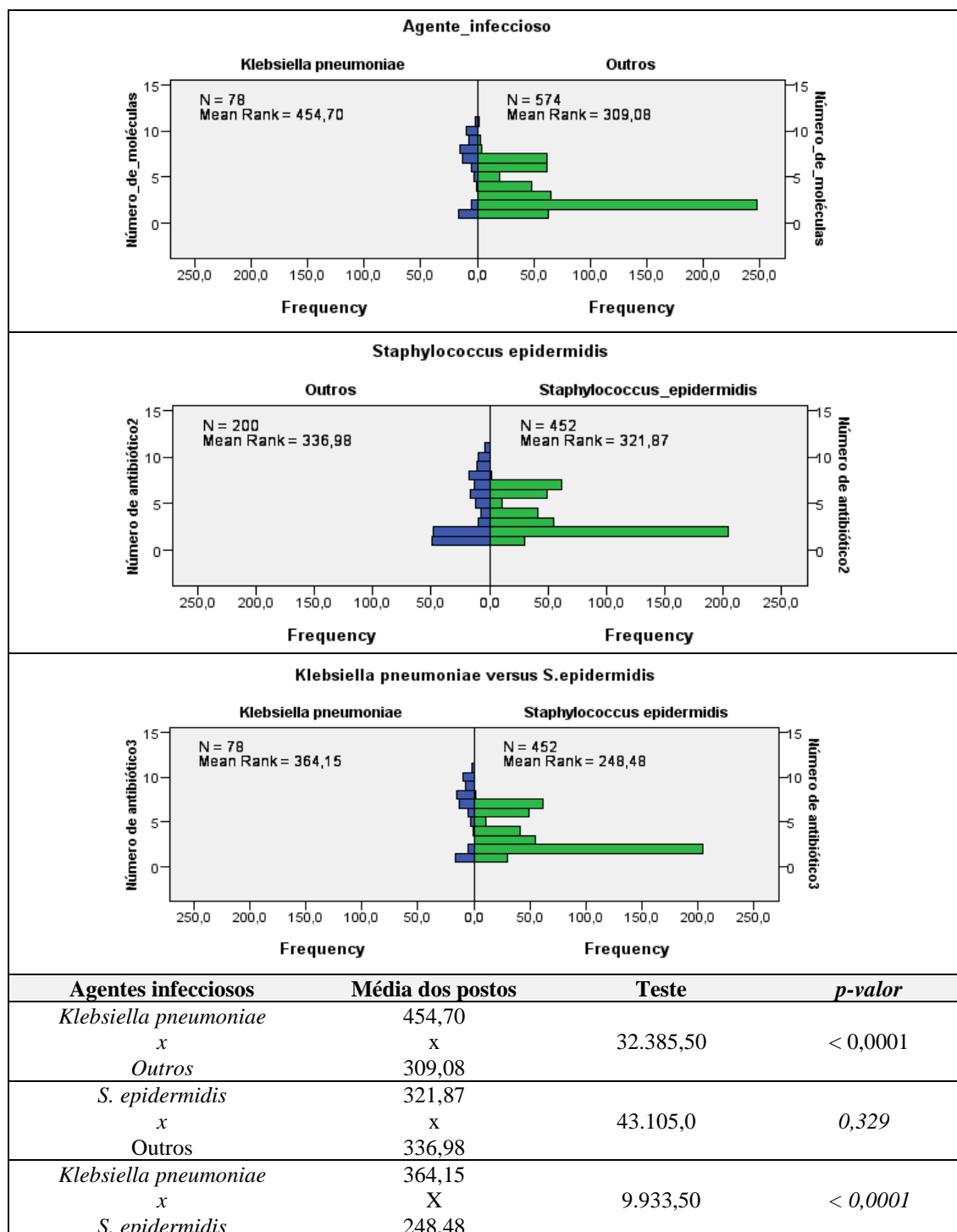
Tabela 4 - Distribuição das bactérias Gram positivas e Gram Negativas de acordo com o número de moléculas resistentes detectadas entre neonatos que contraíram sepse no período de 2020 a 2022 em uma maternidade de referência no Estado do Pará, Amazônia, Brasil.

Bactérias	Número de moléculas antimicrobiana										Total Geral	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10
Gram-negativos	54	57	16	5	7	10	13	16	22	12	4	216
<i>Acinetobacter baumannii</i>	38	27	2	1	2	1						71
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1											1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1											1
<i>Aeromonas hydrophila</i>				1								1
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>				1								1
<i>Enterobacter aerogenes</i>			1									1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1		1		1		2		2		2	9
<i>Escherichia coli</i>	5	3	1			1	4		1	1		16
<i>Klebsiella oxytoca</i>		2										2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	17	4		1	3	6	16	18	11	2	79
<i>Pantoea agglomerans</i>	1			1								2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	2		1								6
<i>Pseudomonas mendocina</i>	1	2	1									4
<i>Pseudomonas putida</i>		1	3									4
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1											1
<i>Serratia marcescens</i>		1	3		2	4	1		1			12
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	1			1	1						4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		1										1
Gram-positivo	28	24	26	191	58	79	104	5	1			516
<i>Enterococcus avium</i>	1											1
<i>Enterococcus faecalis</i>	20	7										27
<i>Enterococcus faecium</i>	4	1										5
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	8	5	2	2	2	3					24
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		6	21	188	55	76	101	5				452
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>				1	1	1			1			4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		1										1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	1										2
Total Geral	82	81	42	196	65	89	117	21	23	12	4	732

Fonte: Autores.

A Figura 2 demonstra a comparação entre as médias dos ranks dos diferentes números de antimicrobianos, detectados na sepse neonatal causada por *Staphylococcus epidermidis* e *Klebsiella pneumoniae*. Neste caso, o teste de Mann-Whitney demonstrou diferenças altamente significativas nas distribuições (Figura 2). Foi possível observar que a resistência antimicrobiana da *Klebsiella pneumoniae* foi superior em todas as comparações (Figura 2).

Figura 2 - Comparação do número de moléculas resistentes detectadas na sepse causada por *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus epidermidis* entre neonatos nascidos no período de 2020 a 2022 em uma maternidade de referência do Estado do Pará, Amazônia, Brasil.



Fonte: Autores.

4. Discussão

Os dados destes estudos revelaram que a taxa média de sepse neonatal foi $2,01 \pm 0,65$ por 1000 nascidos vivos em função da população geral do Estado do Pará, nascidos no período de 2020 a 2022, um valor que supera os dados descritos por

Cruz e colaboradores (Cruz et al., 2022), que evidenciaram uma taxa de 1,64 óbito por sepse a cada 1000 nascidos vivos em Alagoas Sergipe. Este índice oscilou entre aumento e declínio no período de 2020 a 2022, mas a letalidade cresceu ano a ano, um comportamento contrário aos registros dos estudos da carga global de doenças, que informa que em 2019 havia uma tendência crescente na incidência da sepse neonatal, mas a mortalidade por este agravo estava em declínio em todo o mundo (Li et al., 2023).

Mundialmente, os casos incidentes de sepse neonatal aumentaram 12,79% (de 5,59 milhões em 1990 para 6,31 milhões em 2019) e as mortes diminuíram 12,93% (de 0,26 milhões em 1990 para 0,23 milhões em 2019), contrariamente aos dados deste estudo que revelaram aumento na frequência de óbito por sepse neonatal, que chegou a atingir 29,97% em 2021 (Li et al., 2023).

O tipo de sepse neonatal mais frequente foi a tardia, que respondeu por 86,55% dos casos e foi associada às infecções por *Staphylococcus epidermidis* e *Klebsiella pneumoniae*, juntos estes dois patógenos somaram 67,10% das infecções detectados nos recém-nascidos. Essa proporção é 6,51 vezes maior do que a sepse precoce, sendo inverso ao descrito na revisão sistemática e de meta-análise publicado por Fleischmann e colaboradores, que avaliaram a situação epidemiológicas sobre sepse neonatal no mundo, onde verificou que a taxa da sepse precoce é 2,6 vezes mais comum do que a tardia (Fleischmann et al., 2020).

Na infecção precoce, a *Escherichia coli* liderou os casos com 8,41% dos registros diferindo significativamente (p -valor $<0,0001$) da proporção de afetados na sepse tardia que alcançou somente 1,01% dos bebês. O *Staphylococcus aureus* afetou 5,56% dos neonatos na sepse precoce, contra 2,59% na sepse tardia, essa diferença proporcional foi significativa ($p=0,0461$), demonstrando que o perfil de infecção difere em função do tempo de hospitalização. Estes achados estão de acordo com outros estudos publicados na literatura (Stoll et al., 2021; Miselli et al., 2022).

Nesta pesquisa, a causa mais frequente de infecção foi por *Staphylococcus epidermidis*, que globalmente afetou 56,28% dos recém-nascidos e cuja proporção de infectados não diferiu estatisticamente entre contágio precoce e tardio (56,07% versus 56,32%; p -valor = 0,962). Dados de pesquisas anteriores informam que este microrganismo é uma bactéria comensal, cutânea e onipresente (Byrd et al., 2018), constituindo uma das principais causas de sepse neonatal de início tardio (Dong & Speer, 2014).

Recém-nascidos com sepse tardia, geralmente apresentam sintomas inespecíficos e os sinais clínicos por si só não são confiáveis (Healy et al., 2004). Então, um amplo espectro de antibióticos é frequentemente administrado nos primeiros sinais de infecções sistêmicas, devido às deficiências diagnósticas, que são apoiadas no longo tempo de respostas das hemoculturas (12 a 48h), da sensibilidade dependente do volume de sangue inoculado, que é limitado (muitas vezes menos de 1 mL), e do fato de que bebês prematuros com sepse, geralmente têm níveis de bacteremia baixos e intermitente (7–121 unidades formadoras de colônias (UFC)/mL) (Stranieri et al., 2018; Celik et al., 2022). Isto tem ocasionado a disseminação global de cepas nosocomiais de *S. epidermidis* com sensibilidade reduzida aos antibióticos (Iroh & Bendel, 2017; Li et al., 2018; Huber et al., 2021). Nesta investigação foi detectada resistência do *S. epidermidis* para vários antimicrobianos, como para Oxacilina, em que 98,89% dos bebês demonstraram resistência, à clindamicina com 96,02%, à Levofloxacina com 55,09% e a gentamicina com 53,76%. Segundo Garrido e colaboradores (Garrido et al., 2021) muitas unidades neonatais usam a Vancomicina no tratamento da sepse, para este antibiótico todos os casos analisados nesta pesquisa se mostraram sensíveis.

A *Klebsiella pneumoniae* foi a segunda bactéria mais prevalente, alcançando 36,57% dos organismos Gram negativos e 9,84% de todos os microrganismos detectados. Estes resultados refletem estudos anteriores, que relatam que esta bactéria é o patógeno que causa sepse neonatal, predominante, do tipo tardia (Viswanathan et al., 2012a; Viswanathan et al., 2012b;

Malaki, 2015; Mitra et al., 2019; Sands et al., 2021). No Brasil, um estudo semelhante a este, detectou este patógeno em 10,7% das hemoculturas de bebês com sepse neonatal, na maternidade da Cidade Sobral Estado do Ceará (Sousa et al., 2019).

Os modos prováveis de infiltração da *K. pneumoniae* nos recém-nascidos são em grande parte realizados através do contato *intra-uterino*, obtenção da flora materna ou pela aquisição da comunidade hospitalar no período pós-natal (Gupta, 2002), pois sabe-se que esta bactéria é membro da família *Enterobacteriaceae* e, por isso, pode ser encontrada na microbiota humana normal (Shane et al., 2017). Porém, o contato com o patógeno nem sempre resulta em infecção, a qual é dependente do tempo de exposição patogênica, da dose do inóculo bacteriano, do estado imunológico do indivíduo e do potencial de virulência deste microrganismo, que se cumprirem essas premissas, leva a expressões das manifestações clínicas de uma infecção (Gupta, 2002). Ao nascimento, os recém-nascidos não possuem sua microflora endógena, que é naturalmente adquirida através da transferência perinatal da flora materna e de fontes ambientais. Devido à falta de uma microbiota estabelecida, à barreira intestinal ainda imatura e à alta permeabilidade da mucosa no trato GI, os recém-nascidos são infectados facilmente, principalmente aqueles de baixo peso e prematuros, que requerem hospitalização prolongada (Basu, 2014; Shane et al., 2017). De acordo com Martin e colaboradores, uma infecção localizada ou colonização do trato urinário, trato gastrointestinal ou trato respiratório pode se disseminar para o sangue e levar à sepse (Martin & Bachman, 2018).

Segundo Sousa e colaboradores, o fato dos resultados da hemocultura levarem um certo tempo para ficarem prontos, de horas a dias, há necessidade de uma intervenção terapêutica e preventiva, então tratamentos antimicrobianos iniciais e empíricos são administrados para prevenir mortes e complicações devido à infecção (Sousa *et al.*, 2019). As diretrizes do Ministério da Saúde, orientam que na suspeita de sepse neonatal é indicada a coleta de hemocultura e início imediato de antibioticoterapia de amplo espectro (Brasil, 2011).

No entanto, o uso indiscriminado de antibióticos inadvertidamente leva a emergência de resistência a diferentes drogas. A *K. pneumoniae* tem notoriamente uma habilidade para adquirir determinantes de resistência e devido a isto, estas infecções podem resultar em bacteremia persistente em bebês prematuros e levá-los à morte (Mukherjee et al., 2021). A Organização Mundial da Saúde ainda recomenda o uso da Ampicilina e da Gentamicina para o tratamento da sepse neonatal por *K. pneumoniae*, porém a cada dia é difícil atender esta recomendação, para esta população vulnerável, pois a rápida evolução bacteriana, frente a aquisição de genes de virulência e de resistência tem pressionado o uso mais frequente de cefalosporinas em ambientes de assistência à saúde, à administração de carbapenêmicos, um “antibiótico de último recurso”, e isto tem levado ao surgimento de *K. pneumoniae* resistente a vários fármacos incluindo os carbapenêmicos (CRKP), elevando o risco de morte neonatal (Mukherjee et al., 2021).

Seguindo a tendência mundial, nossos resultados também detectaram multirresistência da *K. pneumoniae* aos antimicrobianos, 81,01% dos casos demonstraram resistência à Ampicilina, 56,96% à Gentamicina, em relação as cefalosporinas, as proporções foram como segue: Cefepima (72,15%), Ceftazidima (70,89%), Cefuroxima (70,89%) e Ceftriaxona (72,15%). Nesta amostra, a sensibilidade foi bastante elevada para o Meropenem (96,20%), Amicacina (89,87%) e Imipenem (82,28%). Merece destacar também, que neste estudo, as infecções causadas pela *K. pneumoniae* demonstraram resistência a mais do que 4 antimicrobianos num mesmo indivíduo e isto foi significativamente associado com maior número de óbito quando comparados às outras infecções.

5. Considerações Finais

Este estudo permitiu verificar a prevalência dos agentes microbianos causadores de sepse em recém-nascidos, assim como a multirresistência das diferentes espécies aos medicamentos utilizados, especialmente a *K. pneumoniae*. Sabe-se que a

adoção de uma terapia apropriada e imediata no início dos sinais e sintomas da sepse neonatal evitaria as infecções persistentes e resistentes, porém o tempo prolongado dos resultados dos métodos diagnósticos tradicionais pressionam para a adoção de terapias empíricas, que elevam o risco de multirresistência e conseqüentemente de óbito. Uma alternativa para agilizar a detecção microbiana, seria a adoção de ferramentas da biologia molecular nas unidades de referência neonatal, tal como o PCR em tempo Real multiplex, que ao mesmo tempo que se detecta o agente infeccioso é capaz de verificar a presença de genes de resistência/sensibilidade da cepa infectante. Além disso, uma vantagem desse método é a sua alta sensibilidade e especificidade, além do tempo para liberação do resultado ser bem menor que os métodos atualmente usados. Uma limitação desta pesquisa foi relacionada a falta de informações sobre os achados inflamatórios, o tempo gestacional e o peso dos recém-nascidos, que não foram incluídas nesta análise, e suas interpretações poderiam ajudar esclarecer por que algumas crianças evoluem com sepse neonatal e outras não. Assim, estudos que avaliem estas variáveis, no contexto da sepse neonatal, são de suma importância para subsidiar a tomadas de decisão, que possibilitem um tratamento personalizado e eficiente em cada caso, em vista do tratamento ser mais assertivo, evitando o uso de antibióticos de forma empírica e indiscriminada.

Agradecimentos

À Santa Casa de Misericórdia do Pará pela colaboração e autorização para o desenvolvimento desta pesquisa e à Salma Saraty pela orientação deste estudo.

Referências

- Basu, S. (2014). Neonatal sepsis: the gut connection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 34, pp. 215–222. <https://doi.org/doi: 10.1007/s10096-014-2232-6>.
- Brasil. (2011). *Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde*. Ministério da Saúde. Brasília, DF.
- Brasil. (2013). Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas à assistência à Saúde Neonatologia. 2013. Disponível em: ANVISA, Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Fonte: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/criterios_diagnosticos_infecoes_assistencia_s
- Byrd, A. L., Belkaid, Y., & Sagre, J. A. (Mar de 2018). The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.*, 16(3), pp. 143-155. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.157>
- Celik, I. H., Hanna, M., Canpolat, F. F., & Pammi, M. (jan de 2022). Diagnosis of neonatal sepsis: the past, present and future. *Pediatr Res.*, 91(2), pp. 337-350. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01696-z>
- Cruz, L. P., Alves, J. S., & Pol-Fachin, L. (Apr de 2022). Óbitos Por Sepse Neonatal No Estado De Alagoas No período De 2010-2019: Um Estudo epidemiológico. *Brazilian Journal of Health Review.*, 5(2), pp. 7311-7326. <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n2-291>
- Dong, Y., & Speer, C. P. (JUL de 2014). The role of Staphylococcus epidermidis in neonatal sepsis: guarding angel or pathogenic devil? *Int J Med Microbiol*, 304, pp. 513-520. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.04.013>
- Fleischmann, S. C., Reichert, F., Cassini, A., Horner, R., Harder, T., Markwart, R., . . . Eckmanns, T. (22 de Jan de 2021). Global incidence and mortality of neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*, 106(8), pp. 745–52. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2020-320217>
- Fleischmann, S. C., Reichert, F., Cassini, A., Harder, T., Kisson, N., & Reinhart, K. (2020). Global assessment of neonatal sepsis incidence and case fatality. *30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, (pp. 18-21). Paris France.
- Fortunov, R. M., Hulten, K. G., Hammerman, W. A., Mason, E. O., & Kaplan, S. L. (Sep de 2006). Community-acquired Staphylococcus aureus infections in term and near-term previously healthy neonates. *Pediatrics*, 118(3), pp. 874-81. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-0884>
- Garrido, F., Allegaert, K., Arribas, C., Villamor, E., Raffaelli, G., Paniagua, M., & Cavallaro, G. (27 de Aug de 2021). On Behalf Of European Antibiotics Study Group Easg. Variations in Antibiotic Use and Sepsis Management in Neonatal Intensive Care Units: A European Survey. *Antibiotics (Basel)*, 10(9), p. 1046. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091046>
- Glaser, M. A., Hughes, L. M., Jnah, A., & Newberry, D. (1 de Feb de 2021). Neonatal Sepsis: A Review of Pathophysiology and Current Management Strategies. *Adv Neonatal Care*, 21(1), pp. 49-60. <https://doi.org/10.1097/ANC.0000000000000769>
- Gordon, A. I. (Jan de 2006). Late onset neonatal Gram-negative bacillary infection in Australia and New Zealand: 1992-2002. *Pediatr Infect Dis J.*, 25(1), pp. 25-29. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000195628.35980.2e>.

- Gupta, A. (2002). Hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit-Klebsiella pneumoniae. *Semin Perinatol*, 26, pp. 340-45. <https://doi.org/10.1053/sper.2002.36267>
- Healy, C. M., Palazzi, D. L., Edwards, M. S., Campbell, J. R., & Baker, C. J. (Oct de 2004). Features of invasive staphylococcal disease in neonates. *Pediatrics*, 114(4), pp. 953-61. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-0043>
- Huber, S., Knoll, M. A., Berktold, M., Würzner, R., Brindlmayer, A., Weber, V., . . . Weinberger, J. (2021). Genomic and Phenotypic Analysis of Linezolid-Resistant Staphylococcus epidermidis in a Tertiary Hospital in Innsbruck, Austria. *Microorganisms*, 9(5), p. 1023. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051023>
- Iroh, T. Y., & Bendel, C. M. (Oct de 2017). Diagnostics for neonatal sepsis: current approaches and future directions. *Pediatr Res*, 82(4), pp. 574-583. <https://doi.org/10.1038/pr.2017.134>
- Li, J., Xiang, L., Chen, X., Li, S., Sun, Q., Cheng, X., & Hua, Z. (May de 2023). Global, regional, and national burden of neonatal sepsis and other neonatal infections, 1990-2019: findings from the Global Burden of Disease Study 2019. *Eur J Pediatr*, 182(5), pp. 2335-2343. <https://doi.org/10.1007/s00431-023-04911-7>
- Li, X., Arias, C. A., Aitken, S. L., Galloway Peña, J., Panesso, D., Chang, M., . . . Shelburne, S. A. (18 de Jul de 2018). Clonal Emergence of Invasive Multidrug-Resistant Staphylococcus epidermidis Deconvoluted via a Combination of Whole-Genome Sequencing and Microbiome Analyses. *Clin Infect Dis*, 67(3), pp. 398-406. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy089>
- Malaki, M. (2015). Klebsiella pneumoniae bacteremia presenting on a neonatal intensive care unit during the first week of life. *J Pediatr Infect Dis*, 1, pp. 12-15. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1554971>
- Martin, R. M., & Bachman, M. A. (2018). Colonization, infection, and the accessory genome of Klebsiella pneumoniae. *Front Cell Infect Microbio*, 8, pp. 1-15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>
- Miselli, F., Cuoghi-Costantini, C., Creti, R., Sforza, F., Fanaro, S., Ciccia, M., . . . Berardi, A. (21 de Set de 2022). Escherichia coli Is Overtaking Group B Streptococcus in Early-Onset Neonatal Sepsis. *Microorganisms*, 10(10), p. 1878. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101878>
- Mitra, S., Mukherjee, S., Naha, S., Chattopadhyay, P., Dutta, S., & Basu, S. (2019). Evaluation of co-transfer of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes and blaNDM gene in Enterobacteriaceae causing neonatal septicaemia. *Mitra S, Mukherjee S, Naha S, Chattopadhyay P, Dutta S, Basu S. Evaluation of co-transfer of plasmid-mediated fluoroquinolone rAntimicrob Resist Infect Control*, 8, p. 46. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0477-7>
- Mukherjee, S., Mitra, S., Dutta, S., & Basu, S. (11 de Jun de 2021). Mukherjee S, Mitra S, Dutta S, Basu S. Neonatal Sepsis: The Impact of Carbapenem-Resistant and Hypervirulent Klebsiella pneumoniae. *Front Med (Lausanne)*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.634349>
- Odabasi, I. O., & Bulbul, A. (2020). Sepsis neonatal. *Şişli Etfal Hastanesi Tip Bülteni*, 54 (2), pp. 142-158. <https://doi.org/10.14744/SEMB.2020.00236>
- Oliveira, C. P., Souza, J. S., Machado, R. C., Feijão, A. R., & Souza, N. L. (2016). Risk factors for neonatal sepsis in neonatal intensive care unit: Evidence study. *Cogitare Enferm*, 21(2), pp. 01-09. <https://doi.org/10.5380/ce.v21i2.42845>
- Pire, S. A., & Almeida, N. M. (2016). Mortalidade por septicemia bacteriana: um estudo descritivo no período perinatal. *Rev Enferm Contemp*, 5(1), pp. 78-86.
- Procianny, R. S., & Silveira, R. C. (Mar-Apr de 2020). The challenges of neonatal sepsis management. *J Pediatr, Suppl 1*, pp. 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2019.10.004>
- Puopolo, K. M., Benitz, W. E., & Zaoutis, T. E. (Dec de 2018). COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN; COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES. Management of Neonates Born at ≥35 0/7 Weeks' Gestation With Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis. *Pediatrics*, 142(6), p. e20182894. <https://doi.org/10.1542/peds.2018-2894>
- Sands, K., Carvalho, M. J., Portal, E., Thomson, K., Dyer, C., Akpulu, C., . . . Walsh, T. R. (2021). Characterization of antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria that cause neonatal sepsis in seven low- and middle-income countries. *Nature Microbiology*, 6(4), pp. 512-523. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00870-7>
- Schrag, S. J., Farley, M. M., Petit, S., Reingold, A., Weston, E. J., Pondo, T., . . . Lynfield, R. (Dec de 2016). Epidemiology of Invasive Early-Onset Neonatal Sepsis, 2005 to 2014. *Pediatrics*, 138(6), p. e20162013. <https://doi.org/10.1542/peds.2016-2013>
- Shane, A. L., Sánchez, P. J., & Stoll, B. J. (14 de Oct de 2017). Neonatal sepsis. *Lancet*, 390(10104), pp. 1770-1780. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31002-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31002-4)
- Sousa, N. A., Coelho, C. G., Mesquita, C. S., Pires, F. B., Rosa, P. B., & Brito, I. L. (2019). Neonatal sepsis – microbiological profile and antimicrobial sensitivity in a hospital in the Northeast of Brazil. *Brazilian Journal of Clinical Analyses*, 51(1), pp. 46-51. <https://doi.org/10.21877/2448-3877.201900775>
- Stoll, B. J., Hansen, N. I., Bell, E. F., Walsh, M. C., Carlo, W. A., Shankaran, S., . . . Higgins, R. D. (2015). Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 314(10), pp. 1039-1051. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.10244>
- Stoll, B. J., Puopolo, K. M., Hansen, N. I., Sánchez, P. J., Bell, E. F., Carlo, W. A., . . . Higgins, R. D. (1 de Feb de 2021). Early-Onset Neonatal Sepsis 2015 to 2017, the Rise of Escherichia coli, and the Need for Novel Prevention Strategies. *JAMA Pediatr*, 175(2), p. 212. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2020.0593>
- Stranieri, I., Kanunfre, K. A., Rodrigues, J. C., Yamamoto, L., Nadaf, M. V., Palmeira, P., & Okay, T. S. (26 de Oct de 2018). Assessment and comparison of bacterial load levels determined by quantitative amplifications in blood culture-positive and negative neonatal sepsis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 60, p. e61. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860061>

Viswanathan, R., Singh, A. K., Basu, S., Chatterjee, S., Sardar, D., & Isaacs, D. (2012a). Multi-drug resistant gram negative bacilli causing early neonatal sepsis in India. *Arch Dis Child*, 97, pp. F182-187. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2011-300097>

Viswanathan, R., Singh, A. K., Ghosh, C., Dasgupta, S., Mukherjee, S., & Basu, S. (2012b). Profile of neonatal septicaemia at a district-level sick newborn care unit. *J Heal Popul Nutr*, 30, pp. 41-48. <https://doi.org/10.3329/jhpn.v30i1.11274>

Zangirolami-Raimundo, J., Oliveira, J., & Echeimberg, C. L. (2018). Tópicos de metodologia de pesquisa: Estudos de corte transversal. *Journal of Human Growth and Development*, 28(3), pp. 356-360. <https://doi.org/10.7322/jhgd.152198>