

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Marija N. Milić

**KOLONIZACIJA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA  
PREVREMENO ROĐENE DECE MULTIREZISTENTNIM  
ENTEROBAKTERIJAMA – USPOSTAVLJANJE,  
ODRŽAVANJE KOLONIZACIJE I GENOTIPSKA  
KARAKTERIZACIJA SOJEVA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2022.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF MEDICINE

Marija N. Milić

**GUT COLONIZATION WITH MULTIDRUG-RESISTANT  
ENTEROBACTERIA: ACQUISITION, PERSISTENCE OF  
CARRIAGE AND CHARACTERIZATION OF THE  
ISOLATES**

Doctoral Dissertation

Beograd, 2022.

**Mentori:**

**Prof. dr Vera Mijač, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu**

**Doc. dr Jelena Martić, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu**

**Članovi komisije:**

**Prof. dr Miloš Kuzmanović**

**Prof. dr Slobodan Spasojević**

**Doc. dr Ina Gajić**

**Datum odbrane: \_\_\_\_\_**

## ZAHVALNICA

Ovaj rad nije samo moj. Ovaj rad, zajedno sa mnom, "potpisuju" i neki izuzetni ljudi, koji su u svakom trenutku, tokom rada na doktorskoj disertaciji, bili uz mene. Nisam sigurna da mogu da im, u meri u kojoj bih želela, izrazim svoju najdublju zahvalnost.

Imala sam privilegiju i retku sreću da mi život ukrsti put sa nekim ko je, ne samo izuzetan profesor i, u mom slučaju, posvećen mentor, već i istinski dobar i veliki čovek, koji daje sve što može i još malo više od toga. Iskrenu i duboku zahvalnost, uz mnogo poštovanja, dugujem svom mentoru, prof. dr Vera Mijač.

Takođe sam imala ogromnu sreću da se našem putu rado priključi jedna osoba uspešna na svim poljima kojoj čovek može samo da se divi. Hvala, doc. dr Jelena Martić!

Zahvaljujem se Institutu za neonatologiju koji mi je omogućio da ovaj rad bude urađen, naročito onima koji su mi uvek, bez zadržke pomagali, moje Goca, Tijana, Vesna, moje sestre Radica, Jovana, Goca K, Sneška, Vera.

Zahvaljujem se na velikoj pomoći u laboratorijskom radu: Mileni Šijak-Papadimitrou, Valentini Čirković, Marini Šiljić i Milošu Jovićeviću.

Veliku zahvalnost dugujem prof. Maji Stanojević koja je učestvovala u svim delovima izrade ovog rada.

Njima, od kojih sam postala, koji su stajali uz mene, ne samo od početka i za vreme stvaranja ove doktorske disertacije, već čitavog mog života, od prvog njegovog dana, koji su čuvali leđa i bili oslonac za korake, kako one prve, nesigurne, tako i ove danas, njima dugujem sve - od prvog daha do današnjeg dana, i uvek. Čitavom svojom dušom zahvaljujem se svojim roditeljima, Lidiji i Nikoli.

Takođe, veliko, veliko hvala mojoj mlađoj sestri Anđelki, koja je u jednom trenutku ušla u moj život da prisvoji moje igračke i moje srce. Hvala joj što, imajući je, u životu nikad nisam bila sama i što je uvek uz mene, u svemu.

Neizostavni deo naše porodice je moja baka. Bake inače imaju veliku ulogu u odrastanju i sazrevanju svojih unuka, a njena uloga u mom životu je nemerljiva. Dedi, zauvek.

I na kraju, iako su oni moj početak, jer tek sa njima sam ja sasvim JA, neizmerno i najveće hvala mom suprugu Danilu i mojoj deci, Mateji i Teodoru, za sve zbog čega je život jedno divno čudo, za ljubav, za strpljenje, za podršku, za zagrljaje, za osmehe, za sve bez čega bilo šta drugo ne bi imalo smisla.

Hvala vam.

## Kolonizacija gastrointestinalnog trakta prevremeno rođene dece multirezistentnim enterobakterijama – uspostavljanje, održavanje kolonizacije i genotipska karakterizacija sojeva

**UVOD:** Antimikrobna rezistencija je globalan zdravstveni problem. Među rezistentnim patogenima poseban značaj imaju enterobakterije koje proizvode beta laktamaze proširenog spektra delovanja (engl. extended spectrum beta lactamases, ESBL-E) i karbapenem-rezistentne enterobakterije (CRE). Prevremeno rođena deca su vulnerabilna humana populacija koja zbog opšte nezrelosti ima često potrebu za produženom negom. Nerazvijenost kože i sluzokoža, nezrelost imunskog sistema i potreba za invazivnim procedurama doprinose visokom riziku nastanka infekcija kod prevremeno rođenih. Kolonizacija gastrointestinalnog trakta kod ove dece započinje u bolničkoj sredini, gde se često nalaze rezistentni mikroorganizmi kao što su ESBL-E i CRE. Kolonizacija može biti rizik za nastanak infekcije, a i rezervoar rezistentih patogena koji se mogu širiti dalje. U ovoj studiji je ispitivana kolonizacija ESBL-E i CRE kod prevremeno rođene dece hospitalizovane na Institutu za neonatologiju u Beogradu.

**CILJEVI:** Ciljevi ovog istraživanja su bili: (1) Određivanje učestalosti kolonizacije gastrointestinalnog trakta multirezistentnim enterobakterijama (ESBL-E i CRE) kod hospitalizovane prevremeno rođene dece; (2) Određivanje faktora rizika za nastanak kolonizacije multirezistentnim enterobakterijama (ESBL-E i CRE) kod hospitalizovane prevremeno rođene dece, kao i faktora rizika za razvoj infekcija; (3) Istraživanje dinamike uspostavljanja kolonizacije gastrointestinalnog trakta multirezistentnim enterobakterijama (ESBL-E i CRE) tokom hospitalizacije i dužine njenog održavanja nakon otpusta iz bolnice; (4) Ispitivanje antimikrobne osetljivosti izolovanih multirezistentnih enterobakterija (ESBL-E i CRE) i određivanje genske osnove rezistencije.

**MATERIJAL I METODE:** Od januara 2018. do maja 2020. godine, metodom slučajnog izbora su odabrani ispitanici i uključeni u studiju. Prva kohorta je obuhvatila 350 ispitanika kojima je na otpustu iz Instituta za neonatologiju ispitivana kolonizacija ESBL-E i CRE. U drugu kohortu je uključeno 88 ispitanika kojima je praćena dinamika uspostavljanja kolonizacije ESBL-E i CRE i njeno trajanje posle otpusta iz ustanove na redovnim kontrolnim pregledima. Podaci o ispitanicima i toku hospitalizacije su prikupljeni iz istorija bolesti. Svim pacijentima su uzimani rektalni brisevi i zasejavani na CHROMID ESBL i CHROMID CARBA Smart podloge. Kolonije su identifikovane konvencionalnim bakteriološkim metodama. Kod ispitanika kod kojih je kolonizacija prospektivno praćena, za prve izolate od pacijenata testirana je antimikrobna osetljivost konvencionalnim metodom i vršena je detekcija najčešćih gena za ESBL i za karbapenemaze multipleks PCR metodom.

**REZULTATI:** Na otpustu iz Instituta za neonatologiju kolonizacija ESBL-E je nađena kod 98%, a kolonizacija CRE kod 25% ispitanika. Među ispitanicima kolonizovanim sa ESBL-E, kod nešto više od trećine nađeno je dve vrste, ESBL proizvodeća *E. coli* (ESBL-EC) i ESBL-provodeća *K. pneumoniae* (ESBL-KP), kod jedne trećina je nađena samo ESBL-EC, a kod 7% je nađena samo ESBL-KP. Kod svih ispitanika kolonizovanih sa CRE izolovana je karbapenemaza- proizvodeća *K. pneumoniae* (CP-KP), izuzev kod jednog ispitanika kod koga je detektovana karbapenemaza- proizvodeća *E. coli* (CP-EC). Ukupna učestalost ESBL-EC je bila 88%, a ESBL-KP je bila 58%. Kolonizovani sa ESBL-KP su bili značajno češće ženskog pola i boravili su na prijemnom odeljenju. Faktori rizika za kolonizaciju sa CRE su bili duži boravak u bolnici, boravak na odeljenju intenzivne nege (OIN), primena venskog umbilikalnog katetra (VUK), nekrotizujuć enterokolitis (NEK), boravak na odeljenju izolacije, na prvom odeljenju specijalizovane nege i antibiotiska terapija i to primena meropenema samog ili u kombinaciji sa drugim agensima i ampicilin sulbaktama sa kolistinom. Nezavisni prediktori kolonizacije sa CRE su bili terapija meropenemom i NEK.

Učestalost potvrđene sepse je bila 17%: ESBL-KP je bila uzročnik u 5% slučajeva, dok CRE nisu nađene ni u jednom slučaju. Prediktori sepse su bili manja gestacijska zrelost (<28 gestacijske nedelje), telesna masa <1000g, boravak na OIN, primena mehaničke ventilacije, neinvazivne respiratorne potpore, plasiranje VUK, dok su bolesti prematuriteta NEK, intraventrikularna hemoragija (IVH), retinopatija prematuriteta (ROP), bronhopulmonalna displazija (BDP) i perzistentni *ductus arteriosus* (DAP) bili povezani sa sepsom. Među 88 prospektivno praćenih, 17% je na prijemu bilo kolonizovano sa ESBL-E, do sedmog dana je bilo 48%, a posle 4. nedelje 82% kolonizovanih. Posle otpusta iz ustanove, kolonizacija je perzistirala kod 27% kolonizovanih duže od godinu dana i to najviše kod kolonizovanih sa ESBL-EC (33%), a ređe kod kolonizovanih sa ESBL-KP (11%) i sa CRE (8%). Testiranje antimikrobne osetljivosti ESBL-E i CRE izolata je pokazalo da su svi sojevi bili multirezistentni, pri čemu su svi bili osetljivi na kolistin. Kod svih ESBL-E detektovani su *blaCTX-M-15*, *blaTEM* i *blaSHV*, a najveći broj sojeva je imalo kombinaciju dva gena. Među CRE izolatima nađene su karbapenemaze *blaKPC/ blaTEM/blaSHV* i *blaOXA-48/ blaCTX-M-15*.

**ZAKLJUČAK:** Dobijeni rezultati pokazuju da je kolonizacija ESBL-E i CRE izuzetno česta, a da je primena karbapenema faktor rizika za kolonizaciju CRE. Zapažena je visoka učestalost infekcija koje su povezane sa bolestima prematuriteta, a najčešće nastaju kod novorođenčadi lošijeg opšteg stanja, izloženih invazivnim procedurama. Primena antibiotske terapije u prevenciji i terapiji infekcija je najverovatniji uzrok visoke stope kolonizacije. Samo u 5% slučajeva sepse su izazvane ESBL-KP, ali veza između kolonizacije i nastanka sepse nije mogla biti potvrđena. Do uspostavljanja kolonizacije dolazi brzo i sa ESBL-EC i sa ESBL-KP, dok je kolonizacija CRE ređa i uspostavlja se kasnije. Brzina dekolonizacije je različita i perzistencija je uočena najčešće kod ESBL-EC. Raznovrsnost gena za ESBL i za karbapenemaze ukazuje na značajnu propagaciju gena rezistencije, visoku stopu transmisije i značaj uvođenja mera prevencije i skrininga kolonizacije kod ovako osetljive populacije u budućnosti.

**Ključne reči:** prevremeno rođena novorođenčad, multirezistentne enterobakterije, ESBL, CRE, kolonizacija gastrointestinalnog trakta, faktori rizika, infekcija.

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Mikrobi i infekcija

## GUT COLONIZATION WITH MULTIDRUG-RESISTANT ENTEROBACTERIA: ACQUISITION, PERSISTENCE OF CARRIAGE AND CHARACTERIZATION OF THE ISOLATES

**INTRODUCTION:** Antimicrobial resistance is a global health problem. Among Gram negative bacteria, extended spectrum beta lactamase-producing enterobacteria (ESBL-E), and carbapenem-resistant enterobacteria (CRE) are of special concern. Premature neonates (born before 37 weeks of gestation) comprise a vulnerable population that frequently requires long-term hospitalization due to the overall immaturity, underdeveloped mucosal surfaces and need for invasive manipulations, which are all factors contributing to an increased risk of infection. Colonization in preterm neonates commences in health-care settings. Contact with hospital environment and medical personnel, contaminated surfaces and equipment increase microbial exposure, accruing the risk of acquisition and transmission of ESBL-E and CRE. Colonization with ESBL-E and/or CRE might be a risk for infection, but also colonized individuals are a reservoir of resistant pathogens that can be transmitted to others in hospital, as well as in the community. In this study, colonization with ESBL-E and CRE was investigated among premature neonates hospitalized at the Institute of Neonatology in Belgrade.

**AIMS:** The aims of this study were: (1) To determine the frequency of gastrointestinal colonization with multidrug-resistant enterobacteria (ESBL-E and CRE) among hospitalized preterm infants; (2) To explore the risk factors for colonization with ESBL-E and CRE, as well as the risk factors for the development of infections; (3) To investigate the dynamics of ESBL-E and CRE colonization during hospitalization and the length of carriage after discharge from the hospital; (4) To determine antimicrobial susceptibility of the ESBL-E and CRE isolates and to explore the genetic basis of resistance.

**MATERIALS AND METHODS:** From January 2018 to May 2020, a randomly selected participants were included in the study. The first cohort included 350 neonates who were screened for rectal carriage of ESBL-E and CRE at discharge from the hospital. The second cohort included 88 neonates that were screened for rectal colonization during hospitalization and at regular control visits following their discharge from the hospital. Patients' data were obtained from medical records. Screening for intestinal colonization with ESBL-E and CRE was performed by inoculating rectal swabs on CHROMID CARBA and CHROMID OXA-48 media. Colonies were identified by conventional biochemical tests. The initial isolates of ESBL-E and/or CRE detected in patients from the second cohort were used to perform antimicrobial susceptibility testing by conventional methods and detection of ESBL and carbapenemase encoding genes by multiplex PCR.

**RESULTS:** The frequency of ESBL-E and CRE colonization was 98% and 25%, respectively. Among the patients colonized with ESBL-E, approximately one third carried both ESBL-producing *E. coli* (ESBL-EC) and ESBL-producing *K. pneumoniae* (ESBL-KP), in one third of patients only ESBL-EC was detected, while 7% carried ESBL-KP, only. Among the CRE colonized patients, *K. pneumoniae* was found in all but one patient in whom *E. coli* was detected. The overall frequency of ESBL-EC and ESBL-KP was 88% and 58%, respectively. Discharge from the admission unit and female sex were associated with ESBL-KP colonization. Risk factors for CRE colonization were longer hospitalization, admission to neonatal intensive care unit (NICU), placement of vein umbilical catheter, necrotizing enterocolitis (NEK), discharge from the isolation unit and the first specialized care unit. All antibiotic therapies that included meropenem (alone or in combination with other agents), and therapy with ampicillin sulbactam/colistin were risk factors for CRE colonization. Independent risk factors for CRE colonization were meropenem therapy and NEK. The overall frequency of laboratory-confirmed sepsis was 17%, ESBL-KP was the causative agent in 5% of

patients, while CRE did not cause any infection. Risk factors for sepsis were lower gestational age (<28 weeks of gestation) and lower birth weight (<1000g), NICU admission, mechanical ventilation, non-invasive respiratory support, while, sepsis was related to NEK, retinopathy of prematurity, bronchopulmonary dysplasia, intraventricular haemorrhage and patent ductus arteriosus. Among the patients from the second cohort, 17% were colonized at admission with ESBL-E, while the frequencies of colonization were 47% and 82%, after 7 days and one month of hospitalization, respectively. CRE colonization was detected after one month of hospitalization in 8% of patients. Overall, upon hospital discharge, ESBL-E colonization persisted in 27% of infants after one year. Carriage rate was highest in infants colonized with ESBL-EC (33%), followed by ESBL-KP (11%) and CRE (8%). Antimicrobial susceptibility testing showed that all isolates were resistant to multiple antibiotic classes, but all were sensitive to colistin. Genes *bla*CTX-M-15, *bla*TEM or *bla*SHV were detected in ESBL-E strains, and the majority of them harboured two ESBL encoding genes. Among CRE isolates *bla*KPC/ *bla*TEM/*bla*SHV and *bla*OXA-48/ *bla*CTX-M-15 were found.

**CONCLUSION:** The obtained results demonstrate very high frequencies of colonization with ESBL-E and CRE, with the latter one related to carbapenem use. General immaturity and invasive procedures were linked with higher risk of infections, which were common and related to prematurity-associated disorders. In 5% of patients ESBL-KP was the causative agent of sepsis, but the relation of colonization and sepsis could not be determined. Significant antibiotic exposure was probably the reason for these findings. High rate of ESBL-E acquisition upon admission was noticed, while CRE colonization was less frequent and encountered later during the course of hospitalization compared to ESBL-E. Persistence of carriage after discharge from the hospital was most frequent in ESBL-EC carriers. Diversity of ESBL and carbapenemase genes detected implies high level of circulation of resistant strains. All these indicates the necessity of implementation of more stringent infection prevention practices including screening of carriage among preterm neonates.

**Key words:** preterm neonates, multidrug-resistant bacteria, ESBL, CRE, gut colonization, risk factors, infection.

**Scientific area:** Medicine

**Narrow area of expertise:** microbes and infection



## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. PREVREMENO ROĐENO NOVOROĐENČE .....	2
1.1.1. Komplikacije prevremenog rođenja .....	4
1.1.2. Nega prevremeno rođenog novorođenčeta .....	8
1.2. KOLONIZACIJA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA: FORMIRANJE MIKROBIOTE I KOLONIZACIJA MULTIREZISTENTNIM ENTEROBAKTERIJAMA .....	9
1.2.1. Mikrobiota novorođenčeta i njen značaj .....	10
1.2.2. Kolonizacija gastrointestinalnog trakta multirezistentnim enterobakterijama.....	13
1.3. INFEKCIJE U NEONATALNOM DOBU.....	15
1.3.1. Neonatalna sepsa.....	15
1.3.2. Dijagnostika neonatalne sepse .....	16
1.3.3. Primena antibiotika u lečenju neonatalne sepse.....	18
1.3.4. Veza između kolonizacije gastrointestinalnog trakta i nastanka neonatalne sepse .....	18
1.4. β-LAKTAMSKI ANTIBIOTICI, MEHANIZMI REZISTENCIJE NA β-LAKTAMSKE ANTIBIOTIKE .....	19
1.4.1. Beta laktamski antibiotici.....	19
1.4.2. β-laktamaze .....	19
1.4.3. β-laktamaze proširenog spektra delovanja (ESBL) .....	20
1.5. KARBAPENEMAZE .....	21
1.6. PODACI O ESBL-E I CRE U SRBIJI.....	22
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	23
<b>3. MATERIJAL I METODE</b> .....	25
3.1. ISPITANICI I METODE .....	26
3.1.1. Ustanove u kojima je istraživanje sprovedeno.....	26
3.2. ISPITANICI I PERIOD ISTRAŽIVANJA.....	27
3.3. TIP STUDIJE.....	27
3.4. PODACI IZ ISTORIJA BOLESTI ISPITANIKA.....	28
3.4.1. Demografski podaci o ispitanicima.....	28
3.4.2. Podaci o majkama ispitanika.....	28
3.4.3. Podaci o ispitanicima na rođenju .....	28
3.4.4. Podaci o toku hospitalizacije.....	29
3.5. DETEKCIJA KOLONIZACIJE ESBL-E I CRE.....	29
3.5.1. Uzorkovanje rektalnog brisa .....	29
3.5.2. Kultivisanje i identifikacija sojeva.....	29
3.5.3. Ispitivanje antimikrobne osetljivosti ESBL-E i CRE .....	30

3.5.4. Čuvanje ESBL-E i CRE sojeva.....	30
3.6. DETEKCIJA ESBL GENA I GENA ZA PRODUKCIJU KARBAPENEMAZA.....	31
3.6.1. Ekstrakcija bakterijske DNK .....	31
3.6.2. Multipleks PCR za detekciju ESBL gena i gena za produkciju karbapenemaza.....	31
3.6.3. Vizualizacija produkata multipleks PCR elektroforezom u gelu.....	32
3.7. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	32
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>34</b>
4.1. PODACI O ISPITANICIMA UKLJUČENIM U STUDIJU KOJIMA JE NA OTPUSTU IZ INSTITUTA ZA NEONATOLOGIJU ODREĐIVANA KOLONIZACIJA ESBL-E I CRE: DEMOGRAFSKI PODACI, PODACI O TRUDNOĆI, STANJU NA POROĐAJU I TOKU HOSPITALIZACIJE.....	35
4.1.1. Demografski podaci o ispitanicima.....	35
4.1.2. Podaci o majkama ispitanika, trudnoći i porođaju.....	35
4.1.3. Podaci o ispitanicima na rođenju .....	36
4.1.4. Podaci o hospitalizaciji, odeljenjima i invazivnim i drugim procedurama tokom hospitalizacije.....	37
4.1.5. Podaci o infekcijama tokom hospitalizacije i primenjenoj antimikrobnoj terapiji .....	38
4.1.6. Podaci o učestalosti bolesti i stanja povezanih sa prevremenim rođenjem u ispitivanoj populaciji.....	40
4.2. KOLONIZACIJA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA ISPITANIKA ESBL-E I CRE NA OTPUSTU.....	40
4.2.1. Učestalost kolonizacije gastrointestinalnog trakta novorođenčadi i vrste i distribucija kolonizujućih bakterija.....	40
4.2.2. Osobine ispitanika u odnosu na kolonizaciju ESBL-EC .....	41
4.2.3. Osobine ispitanika u odnosu na kolonizaciju ESBL-KP .....	43
4.2.4. Osobine ispitanika u odnosu na kolonizaciju CRE.....	45
4.2.5. Osobine ispitanika koji nisu bili kolonizovani sa ESBL-E i CRE.....	48
4.2.6. Kolonizacija ispitanika koji su imali infekcije tokom hospitalizacije .....	48
4.3. DINAMIKA USPOSTAVLJANJA KOLONIZACIJE ESBL-E TOKOM HOSPITALIZACIJE I DUŽINA TRAJANJA KOLONIZACIJE POSLE OTPUSTA IZ INSTITUTA ZA NEONATOLOGIJU .....	51
4.3.1. Demografske osobine ispitanika kod kojih je kolonizacije ESBL-E i CRE prospektivno praćena, podaci o trudnoći i porođaju i podaci o ispitanicima na rođenju.....	51
4.3.2. Upostavljanje kolonizacije ESBL-E i CRE kod ispitanika tokom hospitalizacije.....	54
4.3.3. Upostavljanje kolonizacije po vrstama ESBL-E i CRE kod ispitanika tokom hospitalizacije.....	55
4.3.4. Podaci o ispitanicima koji su na prijemu u Institutu za neonatologiju bili kolonizovani sa ESBL-E .....	58
4.3.5. Infekcije kod prospektivno praćene prevremeno rođene novorođenčadi .....	61
4.4. ANTIMIKROBNA OSETLJIVOST I GENSKA OSNOVA REZISTENCIJE ESBL-E I CRE IZOLATA .....	66
4.4.1. Antimikrobna osetljivost ESBL-E i CRE izolata.....	66

---

4.4.2. Genska osnova rezistencije ESBL-E i CRE izolata .....	68
4.5. ODREĐIVANJE FAKTORA RIZIKA ZA NASTANAK KOLONIZACIJE MULTIREZISTETNIM ENTEROBAKTERIJAMA ESBL-E I CRE KOD HOSPITALIZOVANE PREVREMENO ROĐENE DECE, KAO I FAKTORA RIZIKA ZA RAZVOJ INFEKCIJA .....	71
4.5.1. Prediktori za kolonizaciju ESBL-KP, univarijantna logistička regresija.....	71
4.5.2. Prediktori za kolonizaciju CRE, univarijantna i multivarijantna logistička regresija.....	72
4.5.3. Prediktori za nastanak infekcije .....	74
<b>5. DISKUSIJA .....</b>	<b>78</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>95</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>97</b>

---

# 1. UVOD

---

## 1.1. PREVREMENO ROĐENO NOVOROĐENČE

U humanoj populaciji, trudnoća odnosno period gestacije, fiziološki traje 40 nedelja (280 dana), računajući od prvog dana poslednje menstruacije majke. Za dobar ishod trudnoće, i po majku i po novorođenče, optimalno vreme porođaja je između 37. i 42. nedelje gestacije. Prevremeno rođenje ili prematuritet, se definiše gestacijskom starošću na rođenju koja je manja od 37. nedelja ili 259 dana<sup>1</sup>, i povezano je sa povećanom stopom perinatalnog i neonatalnog morbiditeta i mortaliteta, kao i smrtnosti dece uopšte. Prema podacima prikupljenim od strane grupe eksperata Ujedinjenih nacija iz 2017. godine, prevremeno rođenje predstavlja glavni uzrok smrti dece mlađe od 5 godina u celom svetu, kao i uzrok 35% smrtnih ishoda u novorođenčkom periodu<sup>2</sup>. Oko 15 miliona dece u svetu se godišnje rodi pre vremena, što na globalnom nivou iznosi oko 11%<sup>1</sup>. Stopa prevremenog rođenja varira u zavisnosti od geografskog regiona i stepena ekonomske razvijenosti i kreće se od 4% (Belorusija) do 18% (Malavi)<sup>2</sup>. U Evropi, stopa prematuriteta varira od 5% do 10%, što se delimično može objasniti činjenicom da postoje različite granice gestacije kada se prevremeni porođaj sa nepovoljnim neposrednim ishodom registruje kao pobačaj, odnosno od kada se registruje kao neonatalna smrt<sup>3</sup>. Prevremeno rođenje je u porastu tokom poslednjih tridesetak godina u Evropi, i u prethodnoj deceniji, najniža stopa prematuriteta zabeležena je u Finskoj 5,5%, a najviša u Austriji 11,1%<sup>4</sup>. Prema podacima Republičkog zavoda za statistiku Srbije (RZS) o živorođenima prema gestaciji, incidencija prevremenog rođenja u Srbiji za 2020. godinu je 6,5% (podatak dobijen od RZS, nepublikovan).

Do prevremenog porođaja dolazi i usled brojnih sociodemografskih, medicinskih (pre svega akušerskih, ali i hroničnih bolesti), nutritivnih činilaca, kao i uticaja spoljašnje sredine<sup>5</sup>.

Pozitivna anamneza prethodnog spontanog prevremenog porođaja jedan je od faktora rizika za njegovu ponovnu pojavu, a obično se javlja u istom periodu gestacije<sup>6</sup>. Ova pojava može se objasniti postojanjem dokazanih genetskih polimorfizama koji utiču na dužinu gestacije i verovatnoću pojave prevremenog porođaja<sup>7</sup>. Starost trudnice još jedan od rizika za prevremeni porođaj, koji je učestaliji kod trudnica u adolescentnom periodu ili kod starijih od 35 godina<sup>8</sup>. Trudnoće nakon *in vitro* fertilizacije, bez obzira da li se radi o jednoplodnim ili višeploidnim, imaju veći rizik da se završe pre vremena<sup>9</sup>. Veći rizik od prevremenog rođenja imaju novorođenčad muškog pola, kod kojih je i mortalitet, kao i učestalost morbiditeta i kasnih sekvela veći<sup>10</sup>. Prethodne hirurške intervencije na grliću materice ili materici, urođene ili stečene malformacije uterusa su značajni faktori rizika za prevremeni porođaj ili gubitak trudnoće<sup>11</sup>. Mnoge hronične bolesti, kao što su hipertenzija, autoimunske bolesti, dijabetes melitus tip 1 i depresija, kao i bolesti nastale tokom trudnoće poput preeklampsije mogu dovesti do prevremenog porođaja.

Infekcija i zapaljenske promene nastale usled infekcije, su važan uzrok prevremenog porođaja, što je pokazano brojnim epidemiološkim, histološkim, mikrobiološkim i biohemijskim studijama<sup>12-16</sup>. Polno prenosive bolesti izazvane patogenima: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis* su takođe dobro poznati faktori rizika za nastanak prevremenog rođenja. Kolonizacija *Streptococcus agalactiae*, *Ureaplasma spp*, *Candida spp* ili infekcija humanim papiloma virusima u nekim studijama je pokazano da mogu povećati rizik prematuriteta<sup>17-22</sup>. Tako je lečenje asimptomatske bakterije indikovano u trudnoći radi prevencije komplikacija kod trudnice, uključujući i prevremeni porođaj, ali i prevencije bolesti novorođenčeta (naročito infekcija *Streptococcus agalactiae*)<sup>23</sup>.

Prevremeni porođaj se čak u 50% slučajeva javlja spontano, dok je u 30% slučajeva razlog prevremeno prsnuće plodovih ovojaka. U preostalim 20% slučajeva, prisutni su drugi uzroci kao što su višeploidne trudnoće, krvarenje u toku trudnoće, zastoj u rastu ploda (insuficijencija uteroplacentne cirkulacije), preeklampsija i eklampsija i drugo<sup>24</sup>.

Postoji nekoliko patogenetskih mehanizama kojima se objašnjava nastanak prevremenog porođaja. Prevremena aktivacija osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg kod ploda kao odgovor na stres ploda ili majke jedan je od najčešćih mehanizama. Ostali mogući mehanizmi su prenaplašen inflamatorni odgovor ili infekcija, kao i patološka kolonizacija genitalnog trakta (promenjen mikrobiom genitalnog trakta), akušerske komplikacije poput abrupcije placente i patološke distenzije uterusa. Infekcije, kao jedan od značajnih uzroka prevremenog porođaja, na različite načine dovode do njegovog pokretanja. Pokazano je da neki produkti mikroorganizama (posebno patogenih) poput fosfolipaze A2, mogu indukovati sintezu prostaglandina koji stimuliše kontrakcije uterusa.<sup>25</sup> Mnoge bakterije kao npr. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp, *Bacteroides* spp, *Enterobacter* spp proizvode enzime proteaze, kolagenaze i elastaze koji vrše degradaciju strukturalnih materija unutar plodovih ovojnica, što može dovesti do njihovog prevremenog prsnuća<sup>26</sup>. Bakterije, ali i drugi mikroorganizmi, mogu posedovati različite strukture koje vezivanjem za Toll-like receptore na placenti, plodovim ovojnicama i grliću materice, dovode do stimulacije receptora i pokretanja inflamatornog odgovora kao mogućeg uzročnika prevremenog porođaja.<sup>27</sup> Prisustvo infekcije in utero, indukuje fetalni inflamatorni odgovor, pri čemu se stvaraju brojni inflamatorni faktori kao što su interleukin-1 (IL-1), faktor nekroze tumora alfa (TNF- $\alpha$ ), faktor aktivacije trombocita, interferon gama (IFN- $\gamma$ ), interleukin 6 (IL-6), prostaglandini i drugi proinflamatorni medijatori koji mogu dovesti do prevremenog porođaja<sup>28</sup>.

Ishod prevremenog rođenja u najvećoj meri zavisi od stepena prematuriteta, stoga se prevremeno rođena novorođenčad prema stepenu zrelosti klasifikuju na:

- ekstremno nezrele (rođeni pre 28. nedelje gestacije)
- veoma nezrele (rođeni u periodu od 28. do 32. nedelje gestacije)
- umereno nezrele (rođeni u 32. i 33. nedelji gestacije)
- kasno pretermiske (rođeni od 34. do 37. nedelje gestacije)

Takođe bitan parametar koji utiče na preživljavanje i oboljevanje prevremeno rođene novorođenčadi je telesna masa na rođenju (porođajna telesna masa – PTM), u odnosu na koju se klasifikuju na:

- prevremeno rođenu novorođenčad male telesne mase (MTM), čija je PTM < 2500 g
- prevremeno rođena novorođenčad veoma male telesne mase (VMTM) sa PTM < 1500 g
- prevremeno rođena novorođenčad ekstremno male telesne mase (EMTM) sa PTM < 1000 g

Neonatalni mortalitet, smrt novorođenčeta u prvih 28 dana (po statističkoj definiciji od nultog do 27. dana) obrnuto je proporcionalan gestaciji, tako da je stopa mortaliteta rođenih pre 28. nedelje gestacije čak do 50%<sup>29</sup>.

U definisanju prematuriteta veoma bitno je osvrnuti se i na granicu vijabiliteta ploda, odnosno određivanje perivijabilnog perioda. Perivijabilitet se definiše kao najraniji stadijum fetalne zrelosti sa verovatnoćom za ekstrauterusno preživljavanje. Generalno, kao perivijabilni period uzima se period gestacije od 22. do 25. nedelje, jer ne postoje podaci o preživljavanju rođenih pre 22. gestacione nedelje<sup>30</sup>.

Pored nezrelosti, brojni drugi faktori utiču na stepen mortaliteta prevremeno rođene dece, među kojima najznačajnije mesto zauzima adekvatno zbrinjavanje i nega. Novorođenčad VMTM i gestacije manje od 32 nedelje, imaju značajno bolji ishod u smislu preživljanja i sekvela, ukoliko se rađaju u centrima sa neonatalnom intenzivnom negom tercijarnog nivoa<sup>31</sup>. Stoga se u slučaju pretećeg porođaja u veoma nezreloj gestaciji, savetuje transport „*in utero*“, odnosno transport trudnice radi porođaja u perinatalnom centru u kome postoje mogućnosti zbrinjavanja na najvišem nivou trudnica sa visokorizičnom trudnoćom i novorođenčadi veoma nezrele, ekstremno nezrele i perivijabilne gestacije<sup>32</sup>. Nedostatak antenatalne nege trudnice i sprovođenje procedura prevencije prevremenog porođaja i njegovih neonatalnih komplikacija, povećava rizik za mortalitet, kao i značajniji morbiditet prevremeno rođene dece<sup>33</sup>. Sam prevremeni porođaj najčešće ne može potpuno da se spreči, ali primena serklaža grlića, tokolize, davanja antibiotika u cilju lečenja postojeće infekcije može ga odložiti i omogućiti transport trudnice do tercijarnog perinatalnog centra visoko specijalizovanog za zbrinjavanje trudnica i novorođenčadi iz ovakvih trudnoća. Takođe, veoma značaj aspekt antenatalne nege je i primena kortikosteroide terapije kod svih trudnicama sa pretećim prevremenim porođajem u periodu od 24. do 34. nedelje gestacije, u cilju smanjenja učestalosti neonatalnih komplikacija ili primene magnezijum sulfata u cilju poboljšanja neuromotornog razvoja prevremeno rođene dece<sup>34,79</sup>.

Jedan od faktora koji utiču na smrtnost prevremeno rođene dece je i prisustvo kongenitalnih anomalija. Prema podacima iz studije Adams-Chapmana, kongenitalne anomalije su prisutne kod 5 do 6% novorođenčadi VMTM, sa smrtnošću koja je tri do deset puta veća u odnosu na novorođenčad VMTM bez kongenitalnih anomalija<sup>35,36</sup>.

Postojanje zastoja u intrauterusnom rastu ploda, često je povezano za povećanim moratalitetom prevremeno rođene dece. Najčešće, nedovoljan rast ploda je uzrokovan smanjenim prilivom kiseonika i hranljivih materija plodu, usled narušene uteroplacentne cirkulacije, rezultirajući promenama koje omogućavaju plodu preživljanje u „nepovoljnim“ uslovima. Ipak, mortalitet novorođenčadi koja se rode sa telesnom masom malom za gestaciju (ispod 10. percentila za pol i gestaciju) je veći u odnosu na prevremeno rođenu novorođenčad odgovarajuće telesne mase, i obrnuto je srazmeran stepenu zastoja u rastu, kao i gestacijskoj starosti<sup>3</sup>.

### 1.1.1. Komplikacije prevremenog rođenja

Prevremeno rođeno novorođenče, srazmerno stepenu nezrelosti, ispoljava otežanu adaptaciju na ekstrauterusne uslove, usled čega nastaju specifične komplikacije prematuriteta koje nose rizik povećanog morbiditeta i mortaliteta, kao i trajnih sekvela kod preživelih (neurorazvojni poremećaji, hronične bolesti, poremećaji rasta)<sup>37</sup>.

Dobro je poznato, da težina ispoljavanja bolesti koje se javljaju kod prevremeno rođene dece kao i njihovih sekvela, rastu sa smanjenjem gestacije i telesne mase na rođenju. Najčešće bolesti i stanja udruženi sa prematuritetom udruženi sa prematuritetom navedeni su u tabeli 1.1.

Tabela 1.1. Bolesti i stanja udruženi sa prematuritetom

**Najčešće bolesti i stanja udruženi sa prematuritetom**

Respiratorni distres sindrom - RDS

Intraventrikularna hemoragija - IVH

Nekrotizirajući enterokolitis - NEK

Otvoreni arterijski kanal (DAP – lat. *ductus arteriosus perisistens*)

Retinopatija prematuriteta - ROP

Bronhopulmonalna displazija - BPD

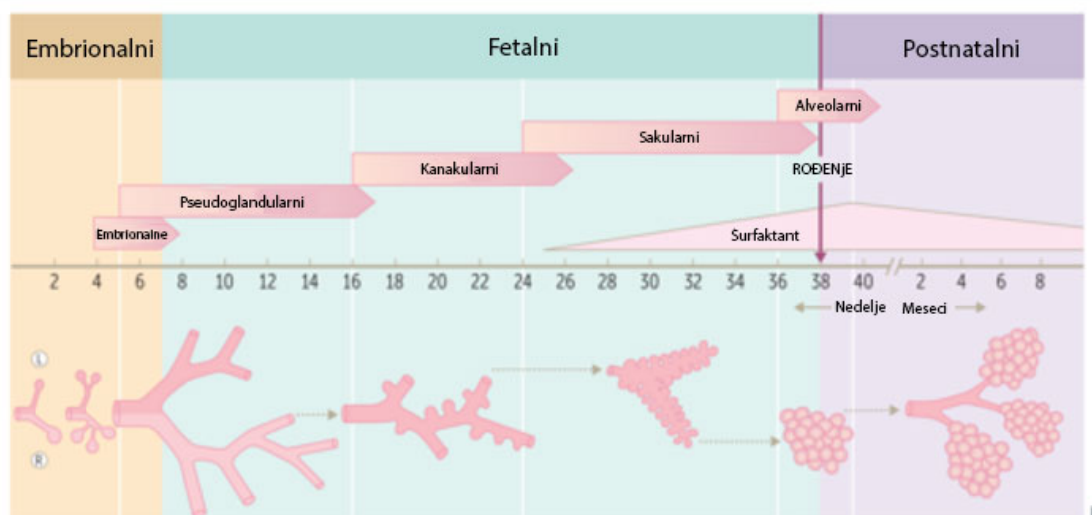
Apnea prematuriteta

Hipotenzija

Infekcije (sepsa, meningitis, pneumonija, infekcije urinarnog trakta)

Hipotermija, hipoglikemija, hiperbilirubinemija, anemija prematuriteta

Respiratorni distres sindrom (RDS) nastaje kao posledica nedostatka surfaktanta u alveolama usled nezrelosti pluća. Prisustvo surfaktanta u alveolama je neophodno da bi se smanjila površinska napetost njihovih zidova i sprečio kolaps tokom ekspirijuma. Alveolarne ćelije tipa II započinju sintezu surfaktanta tek oko 24/25. nedelje gestacije, ali je njegova količina nedovoljna sve negde do 36. nedelje gestacije, odnosno perioda kada pluća započinju svoju alveolarnu fazu razvoja (slika 1.1).



Slika 1.1. Embrionalni, fetalni i postnatalni razvoj plućnog parenhima. Preuzeto i adaptirano iz <https://quizlet.com/217013411/respiratory-embryology-lung-development-flash-cards/>

Usled nedostatka surfaktanta zidovi alveola prevremeno rođenog detata imaju povećanu površinsku napetost, što za posledicu ima njihov kolaps tokom ekspirijuma što otežava naredni inspirijum i dovodi do nastanka atelektaza (neventiliranih partija pluća) sa posledičnom vazokonstrikcijom intraalveolarnih krvnih sudova, hipoksemijom i tkivnom hipoksijom<sup>38</sup>. Dugo godina, RDS je bio glavni uzrok mortaliteta i morbiditeta prevremeno rođenih novorođenčadi. Jedan



od revolucionarnih momenata u neonatalnoj medicini bio je uvođenje terapije egzogenim surfaktantom, devesetih godina prošlog veka, čime je višestruko smanjen neonatalni morbiditet i mortalitet. Takođe značajan korak u prevenciji teških oblika ove bolesti je uvođenje antenatalne kortikosteroidne terapije, koja dovodi do ubrzanе maturacije pluća i indukuje enzime koji su važni za respiratornu funkciju<sup>39,40</sup>.

Bronhopulmonalna displazija (BPD), hronična bolest pluća novorođenčeta, nastaje kao posledica oštećenja nezrelih pluća usled prematuriteta, primene mehaničke ventilacije, toksičnosti kiseonika, infekcija i drugo, koje uzrokuje prekid alveolarizacije i razvoja mikrovaskulature pluća<sup>41</sup>. Važan je uzrok mortaliteta i morbiditeta prevremeno rođene novorođenčadi, naročito ekstremno nezrele kod koje je učestalost oko 50%<sup>42</sup>. Karakteristike bronhopulmonalne displazije su tokom vremena evoluirale sa porastom preživljavanja sve nezrelije novorođenčadi, uz upotrebu antenatalnih steroida, bolje inicijalne stabilizacije, kao i primene surfaktanta<sup>43</sup>. Ujedno se menjala i definicija ove bolesti, od prvog otkrića 1967. godine, pa sve do danas.<sup>44</sup> Savremena definicija, data od Nacionalnog instituta za zdravlje i razvoj dece (*NICHD, engl. National Institute of Child Health and Human Development*) bazirana je na potrebi primene dodatnog kiseonika u trajanju dužem od 28 dana, a zavisno od koncentracije kiseonika i oblika (stepena) respiratorne potpore, bolest se klasifikuje kao blaga, umerena ili teška.<sup>41</sup> Revizija ove definicije iz 2016. godine je obuhvatila nove modalitete respiratorne potpore, pre svega neinvazivne, promenjenu klasifikaciju stadijuma na I, II, III i IIIA (umesto prethodne podele na blagi, umereni i težak oblik), kao uključivanje radiografskog kriterijuma parenhimskih promena na plućima<sup>45</sup>. Jedno od najnovijih istraživanja Jensena i saradnika, pokazalo je da najbolju predikciju ishoda BPD (smrt ili tešak respiratorni morbiditet) daje definisanje na osnovu stepena respiratorne potpore pozitivnim pritiskom koja se primenjuje u 36. postmenstrualnoj nedelji, bez obzira na primenu dodatnog kiseonika<sup>42</sup>.

Intraventrikularna hemoragija (IVH) je jedna od najtežih komplikacija prematuriteta, karakteristična za novorođenčad rođenu sa manje od 34. nedelje gestacije. Mesto porekla ovog oblika krvarenja su mali krvni sudovi germinativnog matriksa, koji predstavlja bogato vaskularizovanu zonu lokalizovanu subependimalno i periventrikularno, u kojoj se nalaze prekursori ćelija za razvoj neurona i glijе tokom fetalnog razvoja<sup>46</sup>. Smatra se da je IVH najznačajniji uzrok trajnih neuroloških sekvela kod veoma i ekstremno nezrele novorođenčadi. Osim nezrelosti rizik za nastanak IVH čine i prisustvo RDS-a, transport novorođenčadi, primena mehaničke ventilacije, postojanje cirkulatorne nestabilnosti uz pojavu hipotenzije, ali i određeni genetski faktori<sup>47-50</sup>. Ultrasonografija ima veoma značajno mesto u detektovanju i proceni težine krvarenja<sup>51</sup>. Prema ultrasonografskim kriterijumima postoje četiri stadijuma IVH: 1. stadijum je blagi oblik, krvarenje lokalizovano u germinativnom matriksu (IVH I), 2. krvarenje koje se proširilo u ventrikule (bočne komore mozga) zauzimajući manje od 50% volumena (IVH II stepena), 3. stadijum u kome je preko 50% volumena ventrikula ispunjeno krvarenjem i sa dilatacijom ventrikula (IVH III) i 4. stadijum koji obuhvata dalje širenje krvarenja u moždani parenhim (IVH IV)<sup>52</sup>. Treći i IV stadijum IVH su povezani sa značajnim rizikom od nastanka komplikacija poput posthemoragijskog hidrocefalusa, teških sekvela ali i smrtnog ishoda.

Perzistentni duktus arteriozus (DAP), podrazumeva da nije došlo do spontanog zatvaranja fetalne komunikacije između aorte i pulmonalne arterije, što se javlja kod 30% novorođenčadi VMTM<sup>53</sup>. Protok krvi kroz otvoren duktusa arteriozus dovodi do levo-desnog šanta krvi iz aorte u plućnu arteriju čime se povećava protok kroz plućnu cirkulaciju, a smanjuje perfuzija kroz sistemsku cirkulaciju. Simptomi zavise od veličine šanta, kao i od odgovora samog srca i pluća na količinu krvi (opterećenje cirkulacije), pa se klinički prezentuje kao plućni edem, plućno krvarenje a doprinosi i nastanku BDP, IVH i nekrotizirajućeg enterokolitisa (NEK)<sup>54</sup>.

Nekrotizirajući enterokolitis je jedno od najznačajnijih i najurgentnijih stanja u neonatologiji. Patogeneza je multifaktorijalna, dovodi se u vezu ne samo sa malom gestacijom i telesnom masom

na rođenju, već je povezana i sa genetskom predispozicijom, nezrelošću intestinuma, promenama u mikrovaskularnom tonusu i abnormalnom mikrobiološkom kolonizacijom creva<sup>55-60</sup>. Smatra se da poslednji navedeni mehanizam, disbalans u mikrobiološkom ekosistemu creva, ima najveći uticaj na nastanak ove bolesti<sup>61</sup>. Naročito, umnožavanje gram negativnih bakterija koje sadrže dosta lipopolisaharida u crevima dovodi do prenatrženog inflamatornog imunog odgovora<sup>62</sup>. Bolest karakteriše specifično oštećenje intestinalne mukoze koje može dovesti do nekroze čitavog zida creva i perforacije.

Hipotenzija se često javlja kod prevremeno rođene novorođenčadi, naročito ekstremno nezrele novorođenčadi. Kod novorođenčadi, krvni pritisak varira u zavisnosti od gestacije i telesne mase na rođenju. Glavni faktori koji doprinose nastanku hipotenzije kod novorođenčadi su nezrelost srčanog mišića koja je uzrok smanjene kontraktilnosti, povišena sistemska vaskularna rezistencija i usporen protok krvi kroz periferna tkiva u fazi prilagođavanja na ekstrauterusne uslove (tranzicija cirkulacije), prisustvo DAP-a, asfiksije/hipoksije, primena ventilacije pozitivnim pritiskom, infekcija i inflamacija, kao i relativna adrenalna insuficijencija<sup>63</sup>. Nelečena hipotenzija uzrok je akutnih komplikacija koje životno ugrožavaju novorođenče, ali i kasnih sekvela u vidu narušenog neurološkog razvoja. Osim primene kristaloidnih rastvora, u lečenju hipotenzije prevremeno rođene novorođenčadi primenjuje se inotropna potpora<sup>64</sup>.

Retinopatija prematuriteta (ROP, engl. retinopathy of prematurity) predstavlja razvojnu vaskularnu proliferativnu bolest, koja se javlja na retini koja nije kompletno vaskularizovana<sup>65</sup>. Glavni rizici za razvoj ROP osim ekstremne nezrelosti su oksidativni stres (primena oksigenoterapije) i postojanje sistemske inflamacije<sup>66</sup>.

Veoma brz gubitak toplote po rođenju dešava se zbog nesrazmere zbog velike površine tela u odnosu na masu, a istovremeno, nemogućnost da produkuje dovoljno toplote, prevremeno rođeno novorođenče izlaže ogromnom riziku od hipotermije. Pokazano je da je hipotermija je povezana sa povećanim mortalitetom, kao i drugim komplikacijama prematuriteta poput IVH i plućnog krvarenja<sup>67</sup>.

Kasne posledice prematuriteta su brojne i obuhvataju pre svega neurorazvojne sekvele poput cerebralne paralize, vizuelnih oštećenja, oštećenja sluha, narušenog kognitivnog razvoja, poremećaja ponašanja. Kod prevremeno rođene dece češće su prisutni nizak rast, insulinska rezistencija, hipertenzija, hronične bubrežne bolesti.

Infekcije predstavljaju najznačajniji uzrok mortaliteta i morbiditeta prevremeno rođene novorođenčadi i o njima će biti više reči u narednim poglavljima. Prevremeno rođeno novorođenče je u povećanom riziku od infekcije zbog sveukupne nezrelosti, genetskih, epigenetskih faktora, kao i delovanja različitih faktora sredine<sup>68</sup>. Adaptivni imunitet novorođenčeta nedovoljan je za adekvatnu odbranu od infekcije<sup>69</sup>. Transplacentalni prelazak imunoglobulina G klase majke najvećim delom dešava se neposredno pred termin porođaja, stoga prevremeno rođena novorođenčad nemaju dovoljnu zaštitu nastalu pasivnim imunitetom<sup>28</sup>. Nezrelost kože, kao prve barijere zaštite od mikroorganizama, opsonizacija i fagocitoza, obuhvatanje bakterija uz pomoć antitela i komplementa, kao veoma važni koraci u odbrani od bakterija, su takođe nerazvijeni kod nezrelih novorođenčadi<sup>70</sup>. Neonatalne T ćelije su i antiinflamatorne i tolerogene, čak je pokazano da su i imunosupresivne zbog čega ova nezrela populacija dodatno ima povećan rizik od razvoja infekcije<sup>71,72</sup>. Smanjena odbranbena sposobnost usled nerazvijenosti imunskog sistema prevremeno rođenog novorođenčeta, jedan je od najznačajnijih uzroka nastanka neonatalne sepse<sup>73</sup>.

Prvi meseci života predstavljaju izuzetno važan period formiranja imunskog sistema. Značajan stimulus za razvoj imunskog sistema ima kolonizacija mikroorganizmima i formiranje mikrobiote pre svega u gastrointestinalnom traktu, kao najkolonizovanijoj regiji čoveka<sup>74</sup>.

### 1.1.2. Nega prevremeno rođenog novorođenčeta

Prevremeno rođenje ima ogroman uticaj na preživljavanje i kvalitet života jedinke u budućnosti. Stopa preživljavanja ove izuzetno osetljive populacije novorođenčadi je značajno povećana sa napretkom neonatalne intenzivne nege<sup>75</sup>, čiji je razvoj započeo još sedamdesetih godina prošlog veka, pre svega sa početkom primene i sve većom dostupnošću mehaničke ventilacije i primene kontinuiranog praćenja vitalnih parametara. Veliki napredak je omogućen osamdesetih godina prošlog veka, kada je sintetisan surfaktant, a mehanička ventilacija obogaćena uvođenjem visokofrekventne ventilacije<sup>76-78</sup>. Sve navedene mere, značajno su doprinele preživljanju nezrele novorođenčadi, ali i dovele do nastanka određenih patoloških stanja poput bronhopulmonalne displazije, retinopatije prematurita, a naročito do povećanja broja intrahospitalnih infekcija kod novorođenčadi lečene u odeljenjenjima intenzivne nege i terapije. Stoga, principi savremene nege i zbrinjavanja prevremeno rođene novorođenčadi baziraju se ne samo na primeni mera intenzivnog lečenja u cilju smanjenja mortaliteta, već i na prevenciji potrebe njihove primene i nastanka komplikacija usled ovakvog lečenja<sup>79,80</sup>.

Po rođenju i prelasku iz intrauterusne sredine, novorođenče prolazi kroz period tranzicije, odnosno prilagođavanja na ekstrauterusne uslove. Period tranzicije može se odlikovati narušenom adaptacijom, što je češće izraženo kod prevremeno rođenih u odnosu na terminsku novorođenčad. Stoga su vrlo bitne mere inicijalne stabilizacije prevremeno rođenog novorođenčeta koje se primenjuju u porođajnoj sali, u prvim minuta po rođenju.<sup>80</sup> Ove mere obuhvataju mere odloženog podvezivanja pupčanika radi poboljšanja kardiorespiratorne adaptacije i smanjenja rizika od anemije, sprečavanje rashlađivanja novorođenčeta, ranu primenu respiratorne potpore kontinuiranim pozitivnim pritiskom u disajnom putu (engl. continuous positive airway pressure, CPAP) u cilju izbegavanja intubacije i invazivne mehaničke ventilacije, izbegavanje visokih koncentracija kiseonika u cilju sprečavanja toksičnog delovanja slobodnih kiseoničnih radikala. U slučaju potrebe za dodatnom respiratornom potporom savetuje se davanje preparata surfaktanta, a tek u krajnjoj meri se primenjuju intubacija i invazivna mehanička ventilacija.

Veoma nezrela i ostala prevremno rođena deca ukoliko zahtevaju posebno praćenje, po rođenju se prevode u odeljenja intenzivne nege (OIN). Po prijemu u OIN, većina ove novorođenčadi se smešta u inkubatore ili na odgovarajuće „tople stolove“, čime se obezbeđuje održavanje normalne telesne temperature. Postavljanje senzora na telo novorođenčeta omogućava kontinuirano praćenje vitalnih kardiorespiratornih parametara tj. saturacije krvi kiseonikom, srčane frekvencije, respiracija. Na dnevnom nivou rade se laboratorijske analize krvi, kojima se prati nivo elektrolita, glukoze u krvi, parametara krvne slike, a po potrebi i koncentracija bilirubina, parametara inflamacije (C-reaktivni protein, prokalcitonin). S obzirom da kod većine ove novorođenčadi nije moguće odmah uspostaviti adekvatnu ishranu, neophodno je da dobijaju odgovarajuću infuziju tečnosti, pre svega rastvora glukoze, a potom i ostalih elektrolita. Pažljivo se evidentira napredak u telesnoj masi, tolerisanje obroka, satna diureza i defekacija. Enteralna ishrana, najbolje majčinim mlekom, uvodi se najranije moguće po rođenju. Međutim, kod rođenih pre 34 nedelja gestacije refleks sisanja nije razvijen pa se sprovodi enteralna ishrana putem gastrične sonde. Ovakav način ishrane sprovodi se i kod sve teško bolesne novorođenčadi. Postoje i stanja, kao što je izražena nezrelost, pre svega kod novorođenčadi telesne mase manje od 1500 grama, kao i kod cirkulatorno nestabilne novorođenčadi, koja ne mogu tolerisati enteralni unos, i kod kojih enteralna ishrana može biti veliki rizik, pre svega za nastanak nekrotizirajućeg enterokolitisa. Stoga je kod ove novorođenčadi neophodno sprovesti ishranu parenteralnim putem, davanjem rastvora glukoze i elektrolita, aminokiselina i lipida (totalna parenteralna ishrana – TPI). Ovakav način ishrane, primenom hiperosmolalnih rastvora, često uzrokuje pucanje inače fragilnih krvnih sudova novorođenčadi, pa je za njeno sprovođenje neophodna invazivna procedura plasira katetra u veći krvni sud. Kod novorođenčadi se najčešće plasira katetera

u umbilikalnu venu (venski umbilikalni kateter – VUK). Sama primena TPI, kao i prisustvo VUK-a jedni su od najčešćih rizika za nastanak intrahospitalnih infekcija kod prevremeno rođene dece.

Respiratorna insuficijencija je glavni uzrok mortaliteta i morbiditeta nezrele novorođenčadi<sup>81</sup>. Nezreli respiratorni sistem, počev od nedovoljno razvijenih, suženih i kolabiranih disajnih puteva do redukovanog alveolarnog prostora zbog nekompletne alveolarizacije i nedostatka surfaktanta, ne može da održi adekvatnu razmenu gasova zbog čega većina prevremeno rođene dece zahteva neku formu respiratorne potpore<sup>82</sup>. Mehanička ventilacija je spasonosna intervencija, koja nosi rizike za nastanak povrede pluća, ali i drugih organa, kao i sekvela u vidu poremećaja neurološkog razvoja. Smernice u lečenju respiratornog distres sindroma stalno napreduju u skladu sa savremenim saznanjima, težeći ka primeni što neinvazivnijih metoda poput nazalnog CPAP-a, manje invazivnog načina administracije surfaktanta, kao i primene što nižih koncentracija kiseonika dovoljnih da se ostvari optimalna oksigenacija. Putem CPAP prenosi se pozitivni pritisak dopremajući gas preko kratkih nazalnih nastavaka (prongsova) ili nazalne maske do distalnih disajnih puteva. Pritisak u nazofarinksu omogućava nekoliko benefita, ali je najvažniji prevencija kolapsa alveola na kraju ekspirijuma<sup>83</sup>. U današnje vreme ovaj oblik respiratorne potpore je standard za započinjenje lečenja prevremeno rođenog novorođenčeta sa respiratornom insuficijencijom, ali i prevencije njenog nastanka kod veoma nezrele novorođenčadi. Endotrahealna intubacija i mehanička ventilacija, omogućavaju direktan prodor bakterija iz spoljašnje sredine u sterilni disajni prostor novorođenčeta. Prevencija nastanka infekcija ovim putem može se vršiti smanjenim brojem „odvajanja“ novorođenčeta od ventilatora, na primer primenom „zatvorenog“ sistema za aspiraciju. Broj dana na mehaničkoj ventilaciji, proporcionalan je učestalosti infekcija kod novorođenčadi u OIN.

Pored navedenog, ostale invazivne procedure poput plasiranja urinarnog katetera, plasiranja kanila u periferne i centralne vene i arterije (jugularna, femoralna), stavljanje torakalnih drenova kod pneumotoraksa ili peritonealne cevi u slučaju potrebe za peritonealnom dijalizom, nose dodatne rizike za prodor mikroorganizama do sterilnih mesta u telu novorođenčeta i nastanka intrahospitalnih infekcija.

Zbog nezrelosti imunskog sistema i velike mogućnosti za nastanak bolničkih infekcija, u odeljenjima neonatalnih intenzivnih nega neophodni su striktni protokoli sprečavanja nastanka infekcija. Oni obuhvataju pored svih mera higijene počev od čišćenja površina podova, kontrole ispravnosti vode mokrih čvorova, adekvatnog pranja i dezinfekcije ruku, preko čišćenja i dezinfekcija inkubatora i ostalih površina sa kojima nezrelo novorođenče dolazi u direktni kontakt.

## **1.2. KOLONIZACIJA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA: FORMIRANJE MIKROBIOTE I KOLONIZACIJA MULTIREZISTENTNIM ENTEROBAKTERIJAMA**

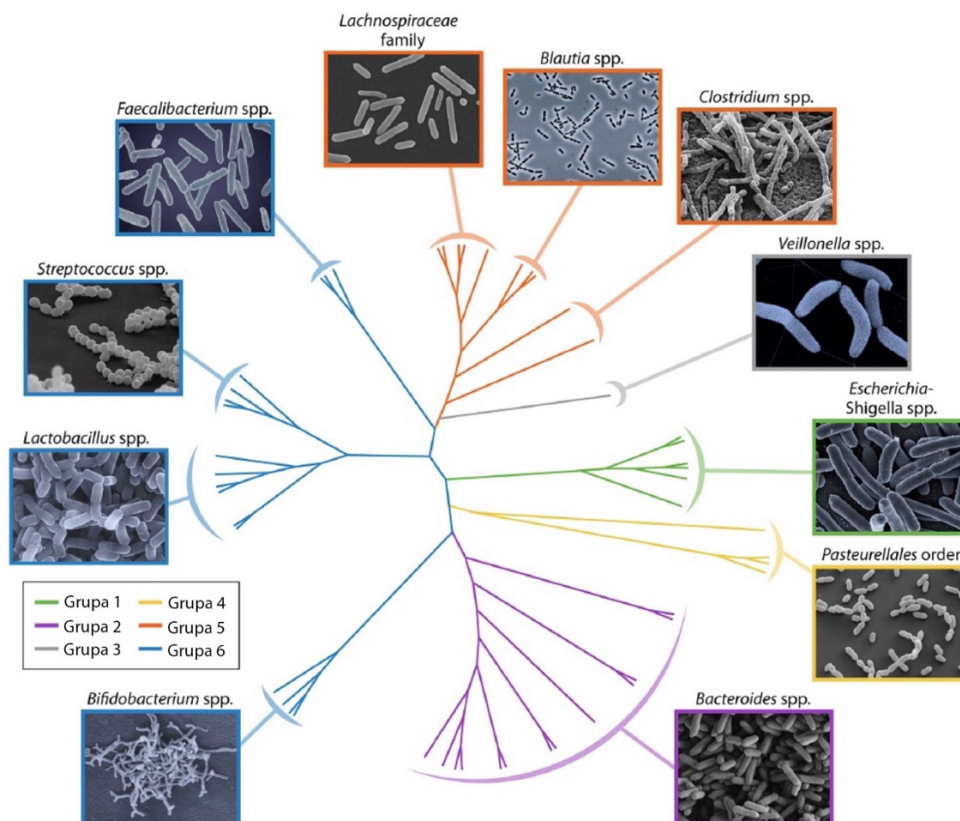
Trilioni ćelija mikroba nalaze svoje stanište u ljudskom telu. Naseljavaju sve regije čoveka koje su u kontaktu sa spoljašnjom sredinom i ta kompleksna i koordinisana zajednica mikroorganizama se naziva mikrobiota<sup>84,85</sup>. Celokupni genski sastav mikroorganizama koji formiraju mikrobiotu se naziva mikrobiom. Razvoj tehnologije je omogućio ubrzano otkrivanje mikroorganizama koji kolonizuju čoveka, njihovu ogromnu različitost, ali i uticaj koji imaju na zdravlje čoveka. Neki mikroorganizmi su stalno prisutni u određenoj regiji, a neki čine tranzitornu mikrobiotu. Mikrobiotu dominantno čine bakterije, a zatim arhee, gljivice i drugi eukariotski mikroorganizmi i virusi, ali se njihovih odnosi i vrste razlikuju u zavisnosti od dela tela koji naseljavaju<sup>84</sup>. Tako postoji specifična mikrobiota kože, usne duplje, urogenitalnog trakta, respiratornog trakta, gastrointestinalnog trakta, majčinog mleka, posteljice<sup>86</sup> i dr. Najgušće kolonizovane regije čoveka su donje partije gastrointestinalnog trakta. Trenutno, ne postoji

standardizovana definicija „zdrave mikrobiote gastrointestinalnog trakta“. Takođe, nema tačne definicije ni disbioze, koja predstavlja nedostatak zdrave mikrobiote. Smatra se da je mikrobiota gastrointestinalnog trakta se smatra da ima veliki uticaj na genotip i fenotip domaćina <sup>87</sup>. Kod prevremeno rođene dece koja zahtevaju produženu negu, kolonizacija gastrointestinalnog trakta mikroorganizmima započinje u bolničkoj sredini. Često je to mesto gde novorođenčad dolaze u kontakt sa multirezistentnim bakterijama, koje opstaju i selektuju se upravo u ovakvom okruženju.

### 1.2.1. Mikrobiota novorođenčeta i njen značaj

Početak kolonizacije i teorija „sterilne materice“ je i dalje predmet stručnih polemika svetskih eksperata. Rana istraživanja su pokazivala da kolonizacija počinje tek posle rođenja, sa izuzetkom slučajeva intrauterinih infekcija <sup>88</sup>. Međutim, početkom 21. veka, sa razvojem tehnologije i savremenih metoda sekvencioniranja genoma (*next-generation sequencing*), mnogim istraživanjima je dokazano prisustvo bakterija u placenti, amnionskoj tečnosti i prvom mekonijumu (formiranom pre rođenja, čime odražava prisustvo/odsustvo mikroorganizama *in utero*) <sup>89</sup>. Aagaard i saradnici su u placenti pokazali prisustvo komensala koji su inače deo mikrobiote različitih regija čoveka, a najbližiji mikrobioti usne duplje <sup>90</sup>. Takođe, Collado i saradnici su u prvom mekonijumu dokazali prisustvo bakterija koje su prethodno pronađene u mikrobiomu placente i amnionske tečnosti, što ukazuje na prenos mikroorganizama tokom *in utero* razvoja između fetusa i placente <sup>91</sup>. Pokazano je da se geni rezistencije na antimikrobne agense prisutni u digestivnom traktu majke se mogu naći u prvom mekonijumu i postati deo mikrobiote novorođenčeta <sup>92</sup>. Nasuprot tome, postoje i istraživanja u kojima nisu detektovani mikrobi (bakterije, arhee, virusi) u zdravim trudnoćama <sup>93-95</sup>. Predloženo objašnjenje za nalaz mikroba u nekim studijama je da se najverovatnije radi o kontaminaciji, imajući u vidu osetljivost tehnika koje se u svim navedenim studijama primenjuju.

Inicijalna kolonizacija crevnog epitela se smatra da predstavlja osnov za dugotrajni i stabilan mikrobiom odraslih ljudi <sup>96</sup>. Od prvog dana života, postoje značajne individualne razlike u sastavu mikrobioma novorođenčeta, a do treće godine mikrobiota bi trebalo da dostigne adultni nivo različitosti i kompleksnosti <sup>97</sup>. Kod novorođenčadi, mikrobiota je vrlo promenljivog sastava, postoje velike razlike među jedinkama i sadržaj bakterijskih vrsta je manji u odnosu na odrasle. Smatra se da *Bifidobacterium* spp. dominira u normalnoj mikrobioti, jer se u velikom broju nalazi kod neonatusa koji se hrane majčinim mlekom <sup>98</sup>. Prema Milani i sar. postoji šest osnovnih grupa mikrobiote novorođenčadi, koji se razlikuju po dominaciji odgovarajućih taksona (vrsta/porodica/red) bakterija (Slika 1.2)<sup>84</sup>.



Slika 1.2. Šest grupa mikrobiote novorođenčeta. Filogenetsko stablo zasnovano na 16S rRNK analizi mikrobiote. Boje označavaju 6 glavnih filogenetskih grupa mikrobiote. Elektronska mikroskopija taksona bakterija koje dominiraju u grupi. Preuzeto i adaptirano iz Milani et al, 2017<sup>84</sup>

Inicijalna mikrobiota u velikoj mjeri doprinosi razvoju imunskog sistema. Sustret sa velikom količinom mikroorganizmima koji započinju kolonizaciju novorođenčeta obezbeđuje na mukozi gastrointestinalnog trakta i drugim regijama, razvije imunskog sistema lokalno, a zatim i imunskog sistema u celini<sup>84,99</sup>.

Faktori koji utiču na razvoj mikrobiote novorođenčeta su način porođaja i okolina u kojoj se uspostavlja kolonizacija, dakle sredina u kojoj se neguje novorođenče nakon rođenja. Boravak u bolničkoj sredini (naročito lečenje u OIN), primena antibiotske terapije, način ishrane (parenteralna ili enteralna; majčino mleko ili mlečna formula), ali i genetski faktori imaju takođe veliki uticaj<sup>97</sup>.

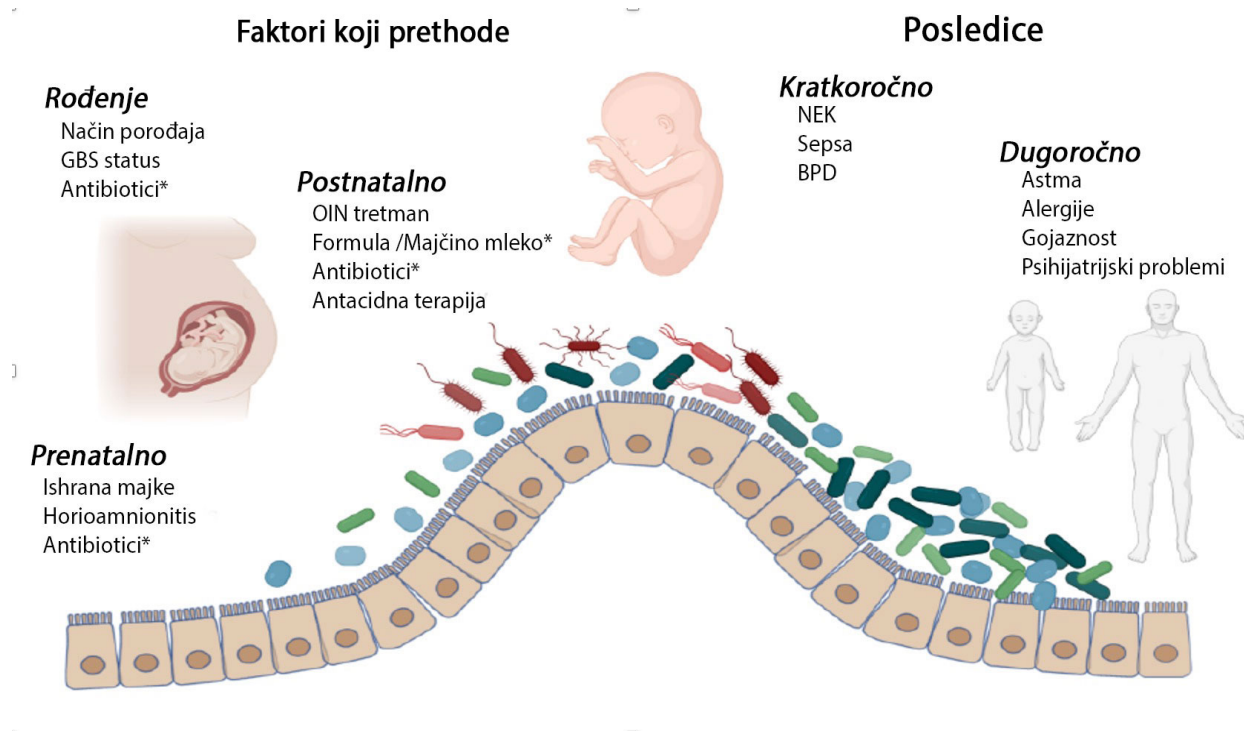
Porođaj carskim rezom je povezan sa drugačijim početkom kolonizacije u odnosu na prirodni porođaj. Prilikom porođaja carskim rezom, kolonizacija novorođenčeta započinje bakterijama sa kože majke<sup>100</sup>, odnosno bakterijama iz okoline (porođajna sala), za razliku od vaginalnog porođaja, gde se prolaskom kroz porođajni kanal novorođenče kolonizuje bakterijama porođajnog trakta majke<sup>101</sup>. Studije upućuju da nakon rođenja, novorođenčad rođena carskim rezom imaju mikrobiotu manjeg diverziteta i sporije dolazi do uspostavljanja kolonizacije gastrointestinalnog trakta u odnosu na decu rođenu vaginalnim putem<sup>97</sup>. Jednim delom je to uzrokovano češćom primenom antimikrobne terapije koja utiče na kolonizaciju.

Kod prevremeno rođene novorođenčadi je često dugotrajna hospitalizacija neophodna, pa kolonizacija započinje u bolničkoj sredini. Uticaj hospitalizacije na mikrobiotu je stoga znatno veći nego u ostalim humanim populacijama<sup>102</sup>. Uprkos merama dezinfekcije koje se primenjuju, u

bolničkim sredinama su prisutni mikroorganizmi. Stoga, na mikrobiotu novorođenčeta koja je dugotrajno hospitalizivano utiče prostor u kome je smešteno, okolni predmeti (inkubatori, respiratori i dr.), kao i osobe sa kojima je dolazilo u kontakt <sup>103</sup>. Tokom produžene hospitalizacija u OIN, pokazano je da se međusobne razlike u mikrobiomima novorođenčadi koja se leče na istom odeljenju intenzivne nege, smanjuju tokom vremena <sup>104</sup>. U jednoj studiji u kojoj je tokom mesec dana boravka u OIN praćen sastav mikrobiote digestivnog trakta prematurusa, pokazano je da se sastav menjao sa promenama u okruženju, tj. da je detekciji mikroorganizama u kolonizaciji prethodila detekcija prisustva u okruženju (sudopera, endotrahealni tubus, nazogastrična sonda, ruke osoblja i roditelja, površine u OIN, tastatura kompjutera, lični telefoni i dr.) <sup>105</sup>. Sastav mikroorganizama na svakom odeljenju intenzivne nege je specifičan, što se objašnjava transmisijom bakterija između pacijenata, kao i između pacijenata i osoblja koje neguje pacijente <sup>104</sup>. Gestaciona starost je takođe jedan od faktora koji utiču na razvoj mikrobiote <sup>102</sup>. Manja gestaciona starost, udružena je sa potrebom produžene hospitalizacije, lečenjem u OIN, primenom invazivnih procedura kao mehaničke ventilacije, ishranom putem sonde, davanjem antibiotika i dr., što utiče na formiranje mikrobiote. Uopšte uzev, novorođenčad lečena u bolničkoj sredini, u crevnoj mikrobioti imaju mnogo veći broj gram negativnih bakterija enterobakterija (*Enterobacteriales*), enterokoka i drugih oportunističkih mikroorganizama u odnosu na zdravu novorođenčad u kućnim uslovima, kod koje mikrobiotu uglavnom čini *Bifidobacterium* spp. <sup>84,106</sup>. U tom smislu, važno je poznavati mikroorganizme u intrahospitalnom okruženju i zbog mera prevencije kolonizacije „patološkim“ sojevima i prevencije intrahospitalne infekcije <sup>107</sup>.

Primena antibiotske terapije prenatalno, intrapartalno ili postpartalno utiče značajno na formiranje mikrobiote, odlažući tj. usporavajući proces <sup>97</sup>. Pokazano je da čak i 48h sati primene antibiotske terapije dovodi do smanjenja diverziteta mikrobiote. Vrsta antibiotika, dužina primene i starost novorođenčeta utiču na efekat koji ima antibiotska terapija <sup>84</sup>. Primena antibiotika ima izraženiji efekat na mikrobiotu ekstremno nezrele i veoma nezrele prevremeno rođene dece u odnosu na kasno pretreminsku decu <sup>102,108</sup>. Antibiotici širokog spektra delovanja kao što su npr. meropenem i cefalosporini III generacije, imaju izraženiji efekat i primena antibiotika utiče na smanjenje broja *Bifidobacterium* spp. i *Bacteroides* spp., a povećanje broja enterobakterija. Primena antibiotske terapije omogućava selekciju i propagaciju rezistentnih mikroorganizama. Zato je ukupni efekat antibiotika poremećaj mikrobiote i favorizovanje kolonizacije rezistentnim bakterijama. Pored antibiotika i primena drugih lekova takođe ima uticaj <sup>109</sup>.

Narušen sastav mikrobiote može biti uzrok nastanka različitih poremećaja zdravlja i bolesti. Nekrotizirajući enterokolitis i neonatalna sepsa, su primeri bolesti u kojima se smatra da narušavanje normalne mikrobiote ima važnu ulogu u patogenezi <sup>110</sup>. Nekrotizirajući enterokolitis se uobičajeno javlja kod veoma nezrele novorođenčadi u uzrastu od nekoliko nedelja. Kolonizacija crevnog trakta ove novorođenčadi je izmenjena pod uticajem bakterija okoline, izostanka ishrane oralnim putem i unošenjem hrane putem sonde u donje partije gastrointestinalnog trakta, kao i učestalom primenom antibiotika. Mikrobiota gastrointestinalnog trakta kod novorođenčadi sa NEK-om se razlikuje od novorođenčadi kod kojih se NEK nije razvio i smatra se da posebno umnožavanje gram negativnih bakterija čiji ćelijski zid sadrži lipopolisaharid, u crevima izaziva prenaplašen inflamatorni odgovor <sup>327</sup>. Kasna neonatalna sepsa nastaje kod prevremeno rođene dece najčešće tokom hospitalizacije, a disbalans mikrobiote kod prevremeno rođene dece prethodi nastanku sepse <sup>111-113</sup>.



Slika 1.3. Dinamika mikrobioma kod prevremeno rođenog novorođenčeta u zdravlju i u bolesti.  
Preuzeto iz Cuna 2021<sup>114</sup>

Zbog značaja mikrobiote i dokaza da je kod prevremeno rođene dece u bolničkoj sredini formiranje mikrobiote različito i insuficijentno, mogućnost davanja probiotika se nameće kao moguće rešenje. Najveći broj studija, ukazuje da se primena probiotika kod prevremeno rođene dece smanjuje rizik od smrti, sepse i nekrotizirajućeg enterokolitisa<sup>115</sup>. Kohranova analiza sistematskih pregleda efikasnosti i bezbednosti profilaktičke primene probiotika u prevenciji nastanka teških oblika NEK-a i sepse, pokazala je da suplementacija probioticima značajno smanjuje učestalost NEK-a i mortalitet, ali bez dokaza o značajnom smanjenju učestalosti intrahospitalne sepse. Nijedna od uključenih studija nije prijavila sistemsku infekciju uzrokovanu probiotskim mikroorganizmima<sup>116</sup>. Ipak, ima i izveštaja da primena probiotika kod novorođenčadi veoma male telesne mase nije bez rizika, zbog rizika od pojave infekcije ili sepse<sup>117,118</sup>.

### 1.2.2. Kolonizacija gastrointestinalnog trakta multirezistentnim enterobakterijama

Enterobakterije su Gram negativne bakterije, oblika štapića, veličine od jednog do nekoliko mikrometara. Pripadaju redu Enterobacterales i obuhvataju veliki broj vrsta bakterija koje su rasprostranjene u prirodi i najčešće predstavljaju deo normalne mikrobiote gastrointestinalnog trakta ljudi i životinja, a neke vrste su striktno patogene. Čoveka kolonizuju oportunističke vrste enterobakterija kao što su *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp. i *Serratia* spp. i druge. Navedene vrste su ujedno i važni uzročnici infekcija kod ljudi koje najčešće nastaju u bolničkoj sredini, kod predisponiranih osoba sa imunodeficijencijom i drugim udruženim bolestima i stanjima.

Otkriće antibiotika u dvadesetom veku je jedno od najvećih dostignuća u medicini. Ipak, posmatrano sa evolutivnog aspekta, za relativno kratko vreme koliko se antibiotici primenjuju došlo je do značajnog razvoja antimikrobne rezistencije. Rezistencija je do sada opisana na sve otkrivene antimikrobne agense. Posebno je zabrinjavajuća pojava multiple rezistencije tj. udružene rezistencije na više različitih antibiotika<sup>119</sup>. Porast rezistencije je izražen naročito u poslednje dve decenije<sup>120,121</sup>. Zbog toga je to globalan zdravstveni problem koji pretili da ugrozi uspeh terapije bakterijskih infekcija. I kod enterobakterija je došlo do razvoja rezistencije na različite klase antibiotika. Multirezistentne (engl. multidrug-resistant, MDR) enterobakterije su prema standardizovanoj međunarodnoj nomenklaturi one koje ispunjavaju kriterijum stečene rezistencije na najmanje jedan agens, iz



najmanje tri različite kategorije antimikrobnih agenasa <sup>122</sup>. Među MDR enterobakterijama poseban značaj imaju enterobakterije koje produkuju beta laktamaze proširenog spektra delovanja (engl. extended spectrum beta lactamases, ESBL) (ESBL-E), enterobakterije rezistetne na karbapeneme (engl. carbapenem resistant enterobacteri, CRE) i u poslednje vreme enterobakterije rezistetne na karbapeneme i na kolistin. Svetska zdravstvena organizacija (SZO) je 2016. godine definisala patogene kod kojih je učestalost i značaj stečene rezistencije izuzetno veliki <sup>119</sup>. Na pomenutoj listi, CRE i ESBL-produkujuće enterobakterije su svrstane u grupu bakterija kritičnog prioriteta za razvoj novih antimikrobnih lekova. Geni za produkciju ESBL enzima, kao i geni za karbapenemaze koje su najčešće razlog karbapenemske rezistencije kod enterobakterija, nalaze se na mobilnim genskim elementima, zbog čega je transmisija i propagacija ove rezistencije dostigla pandemijski nivo <sup>123,124</sup>.

Kolonizacija gastrointestinalnog trakta enterobakterijama kod novorođenčeta započinje u značajnoj meri posle rođenja. Brojna istraživanja zasnovana na detekciji bakterija kultivisanjem su pokazala da kod većine novorođenčadi *E. coli* postaje detektabilna u fecesu u krakom periodu, od jedan do tri dana posle rođenja <sup>125-127</sup>. Do kolonizacije ovom bakterijom ne dolazi kod sve novorođenčadi <sup>128</sup>. Kod prevremeno rođene dece, učestalost nalaza enterobakterija u fecesu je veća nego među terminskom decom, a bolnička sredina u kojoj borave ima velikog uticaja na uspostavljanje kolonizacije <sup>105,129-131</sup>. Pokazano je da je kod hospitalizovane prevremeno rođene dece, porođaj carskim rezom povezan sa većom učestalošću kolonizacije *Klebsiella* spp. u odnosu na vaginalni porođaj, posle koga je zabeležena veća učestalost *E. coli* <sup>132</sup>. Antibiotiska terapija dovodi do veće stope kolonizacije enterobakterijama, pri čemu se uticaj antibiotičkih agenasa razlikuje (Gibson curr opin <sup>84</sup>). Stepenn zrelosti je obrnuto proporcionalan učestalošću kolonizacije, te je kod veoma nezrele novorođenčadi, šansa za kolonizaciju enterobakterijama veća <sup>133</sup>.

Prevremeno rođena deca <sup>134,135</sup>, zbog izloženosti bolničkoj sredini, nezrelog imunskog sistema, nerazvijenih barijera kože i sluzokože i potrebe za invazivnim procedurama imaju povećan rizik kolonizacije MDR enterobakterijama. Takođe, antibiotiska terapija, neophodna u terapiji, predstavlja važan faktor koji doprinosi selekciji i diseminaciji rezistentnih sojeva u ovoj populaciji <sup>136</sup>. Učestalost kolonizacije gastrointestinalnog trakta MDR bakterijama značajno varira kod prevremeno rođene dece, a više stope kolonizacije i infekcija su pokazane u nerazvijenim zemljama 328, 136,266, dok je u razvijenijim zemljama učestalost kolonizacije niža <sup>138,139</sup>. Moramo napomenuti da se kolonizacija MDR bakterijama javlja nekad i kod zdravih ljudi i dece. Meta analiza o kolonizaciji ESBL-E kod zdravih odraslih osoba <sup>123</sup> je pokazala da su najviše stope prisutne u Aziji (46%, IP 29-63) i Africi (15%, IP 4-31), a značajno niže u Evropi i Severnoj Americi (<5%). Takođe je procenjeno da je u svetu oko 16% zdravih ljudi kolonizovano sa ESBL-*E. coli*, a učestalost je u stalnom porastu <sup>123,137</sup>. Učestalost kolonizacije CRE je na globalnom nivou još uvek niska, ali studije pokazuju da je u nekim bolničkim sredinama uključujući i pedijatrijska odeljenja, učestalost zabrinjavajuće visoka <sup>140,141</sup>. Tokom porođaja, prenos ESBL-E sa majke i uspostavljanje kolonizacije novorođenčeta je dokazan način transmisije i uspostavljanja kliconoštva <sup>142,143</sup>. Ipak, jedan od najznačajnijih faktora rizika za kolonizaciju ESBL-E i CRE kod dece predstavlja hospitalizacija, a posebno boravak na odeljenjima intenzivne nege, invazivne procedure i dr. <sup>144,145</sup>.

Osobe koje su kolonizovane MDR bakterijama, iako su bez simptoma, predstavljaju izvor rezistentnih patogena, koji se mogu širiti na članove porodice i u zajednici. Pokazano je mnogo slučajeva neprimetne transmisije potencijalno vrlo opasnih bakterija <sup>147,148</sup>. Dužina trajanja kolonizacije je različita i verovatno zavisi od niza faktora. Kod novorođenčadi, posle izlaska iz bolnice utvrđeno je da kolonizacija ESBL-E može trajati i više godina <sup>149</sup>. Kod odraslih <sup>150</sup>, perzistiranje kolonizacije duže od godinu dana je primećeno kod trećine ispitanika iz domova za negu starih lica <sup>150</sup>. Praćenje dužine kolonizacije ESBL-E posle hospitalizacije može biti kratkotrajno <sup>151</sup>, a duže izlučivanje i perzistencija MDR bakterija su dokazani kod imunokompromitovanih populacija. O dužini trajanja kolonizacije CRE ima malo podataka koji ukazuju da do dekolonizacije dolazi brže, tokom tri meseca <sup>152</sup> do godinu dana <sup>153</sup>.

### 1.3. INFEKCIJE U NEONATALNOM DOBU

#### 1.3.1. Neonatalna sepsa

Neonatalna sepsa (NS) je glavni uzrok mortaliteta i morbiditeta u novorođenačkom periodu. Predstavlja patofiziološki odgovor na prisustvo mikroorganizama (bakterija, virusa, gljivica) ili njihovih toksina u krvi tokom prvih 28 dana života. Regstruje kod 2022 na 100.000 živorođene novorođenčadi. Godišnje, oko 3 miliona novorođene dece širom sveta razvije neonatalnu sepsu, pri čemu se kod 11 do 19% bolest završi smrtnim ishodom<sup>154</sup>. Zavisno od vremena pojave, deli se na ranu i kasnu, pri čemu se rana sepsa definiše pojavom u prvih 72h po rođenju, dok se kasna NS javlja nakon 72h, pa do 28. dana po rođenju<sup>155</sup>. Razlika između ova dva oblika sepse je i u vrsti mikroorganizama uzročnika infekcije, načinu ispoljavanja infekcije kao i prognozi bolesti (tabela 1.2)

Tabela 1.2: Osnovne karakteristike rane i kasne neonatalne sepse

	Rana sepsa	Kasna sepsa
Početak	≤ 72h	> 72h
Izvor infekcije	Majka	Okruženje
Mikroorganizam	Gram –, GBS*	Stafilokok, Gram –
Početak	Fulminantan	Sporiji, progresivan
Ispoljavanje	Multisistemsko	Fokalni znaci
Čest nalaz	Pneumonija	Meningitis
Smrtnost	15-50%	10-20%

\* GBS – *β hemolitički streptokok grupe B*

Uzrok rane sepse je bakterijski patogen vertikalno prenet sa majke na novorođenče, pre ili za vreme porođaja. Najznačajniji uzročnici rane neonatalne sepse su Gram negativne enterobakterija (*Escherichia coli*) i *Streptococcus agalactiae*. Značajno smanjenje učestalosti rane neonatalne sepse uzrokovane streptokokom grupe B je postignuto uvođenjem prenatalnog skrininga kod trudnica između 35. i 37. nedelje gestacije. Skrining se vrši uzimanjem vaginalnog, a zatim rektalnog brisa i ispitivanjem prisustva kolonizacije. Kod kolonizovanih trudnica sprovodi se intrapartalna profilaktička primena antibiotika. U zemljama gde se profilaksa sprovodi, *Escherichia coli* je zamenila streptokok i najčešći je uzrok rane sepse. Faktori rizika za nastanak rane neonatalne sepse su horioamnionitis, produžena ruptura plodovih ovojaka, kolonizacija majke GBS, kao i neadekvatno sprovedena intrapartalna profilaksa GBS infekcije, povišena temperatura majke tokom porođaja (ref). Kako je infekcija čest uzrok prevremenog rođenja, kod prevremeno rođene novorođenčadi sa faktorima rizika za nastanak sepse, započinje se inicijalna antimikrobna terapija<sup>156,157</sup>.

Kasna NS, u kojoj se izvor infekcije nalazi u okruženju novorođenčeta, češće nastaje u bolničkim nego u kućnim uslovima. Najčešće predstavlja komplikaciju lečenja prevremeno rođene dece u odeljenjima intenzivne nege, a rizik za nastanak kasne NS je obrnuto proporcionalan gestaciji i telesnoj masi na rođenju<sup>158</sup>. Faktori rizika za nastanak kasne NS se razlikuju u odnosu na ranu sepsu, a među njima najznačajniji su prisustvo centralnog venskog katetera, odložena peroralna ishrana novorođenčeta, sprovođenje parenteralne ishrane i mehaničke ventilacije<sup>159</sup>. Veliki značaj za nastanak kasne NS ima i prethodna primena antimikrobne terapije. Ispitivanja su pokazala da na jedno novorođenče koje se leči u OIN sa dokazanom infekcijom, između 11 i 23 novorođenčadi bez

infekcije dobija antimikrobnu terapiju <sup>159,160</sup>. Lečenje novorođenčadi empirijskom antimikrobnom terapijom (ampicilin i aminoglikozid) trostruko povećava rizik za nastanak infekcije rezistentnim bakterijskim sojevima za svaki dan primenjene terapije, dok davanje cefalosporina ovaj rizik uvećava više od 34 puta <sup>161</sup>. Uzročnici kasne NS se razlikuju među zemljama i centrima za negu novorođenčadi. Tako u razvijenim zemljama među najčešćim uzročnicima su Gram pozitivne bakterije, koagulaza-negativan stafilokok, *Staphylococcus aureus*, a zatim Gram negativne bakterije i gljivice <sup>162,163</sup>. Prema nedavno objavljenoj meta-analizi na globalnom nivou, *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella* spp. su najčešći izolovani agensi kod laboratorijski potvrđenih slučajeva kasne NS <sup>164</sup>. *Klebsiella* spp. je veoma čest uzročnik u manje razvijenim zemljama <sup>165</sup>, ali i u Kini gde je više od polovine slučajeva izazvano ovom bakterijom <sup>166</sup>. Smrtnost zavisi od izazivača sepse i od drugih parametara, a Gram negativne bakterije su povezane sa veoma visokim mortalitetom od 19% do 36% <sup>167,168</sup>. Nastanak sepse kod prevremeno rođene dece u oko 50% slučajeva dovodi do smrtnog ishoda. Međutim, i sam sistemski inflamatorni odgovor koji je pokrenut infekcijom, pogoduje nastanku ozbiljnih komplikacija poput bronhopulmonalne displazije i različitih neurorazvojnih poremećaja <sup>169,170</sup>. U slučaju infekcije izazvane rezistentnim bakterijama lečenje je otežano, a cena terapije je veća, dok je terapijski uspeh lošiji <sup>136</sup>. Bolnička sredina predstavlja mesto gde su selekcija i širenje antimikrobne rezistencije češće u odnosu na vanbolničku sredinu, zbog veće upotrebe antibiotika kao i vulnerabilnosti i predispozicije za nastanak infekcija kod hospitalizovanih. U svetu je poslednjih decenija zabeležen značajan porast morbiditeta i mortaliteta od bolničkih infekcija <sup>171</sup>. Izazivači bolničkih infekcija mogu biti različiti, a Gram negativne bakterije, posebno enterobakterije i to ESBL-E i CRE su jedne od najčešćih uzročnika <sup>119</sup>. Empirijska terapija u slučaju kad je infekcija izazvana sa ESBL-E je povezana sa češćim neuspehom terapije, što je pokazano i kod dece i u adultnoj populaciji <sup>172,173</sup>. U slučajevima da je CRE uzročnik infekcije, infekcije mogu imati nepovoljan ishod uprkos terapiji na koju je uzročni agens *in vitro* osetljiv <sup>174</sup>.

### 1.3.2. Dijagnostika neonatalne sepse

Postavljanje definitivne dijagnoze sepse u neonatalnom periodu je veliki izazov i za najiskusnije neonatologe, s obzirom da su klinički znaci nespecifični (tabela 1.3) i mnoge neinfektivne bolesti mogu imati istu prezentaciju. Zbog toga je, nekritički povećano korišćenje antibiotske terapije u cilju izbegavanja mogućeg nepovoljnog ishoda <sup>175,176</sup>.

Tabela 1.3. Kliničko ispoljavanje neonatalne sepse

#### Klinički znaci

Temperaturna nestabilnost (hipo ili hipertermija)

Kardiovaskularna nestabilnost

Respiratorni distres, apneje, povećana potreba za disajnom potporom

Poremećaj svesti (letargija) ili konvulzije

Distenzija abdomena

Odbijanje obroka / povraćanje / netolerisanje enteralnog unosa

Novonastale promene na koži

Neobjašnjiva žutica

Sklerem

Internacionalna konferencija o pedijatrijskoj sepsi (*International Pediatric Sepsis Consensus Conference*) održana 2004. godine donela je značajne i danas aktuelne definicije sepse kod novorođenčadi i dece. Kao veoma bitna, izdvojena je definicija i kriterijumi za dijagnozu sindroma sistemskog inflamatornog odgovora (engl. systemic inflammatory response syndrome - SIRS) kod novorođenčadi koji su prikazani u tabeli 1.4. U preciznom definisanju ovog sindroma napravljena je razlika u kriterijumima za novorođenčad uzrasta do sedam i preko sedam dana.<sup>177</sup>

Tabela 1.4. Kriterijumi za dijagnozu SIRS kod novorođenčeta

Poremećaj	Uzrast novorođenčeta (dani)	
	0 - 7	8 - 28
Febrilnost ( $^{\circ}\text{C}$ )	$> 38^{\circ}\text{C}$ ( $> 38,5^{\circ}\text{C}$ )*	
Hipotermija	$< 36^{\circ}\text{C}$	
Tahikardija	$> 180/\text{min}^{**}$	
Bradikardija	$< 100/\text{min}^{**}$	
Tahipneja	$> 40/\text{min}$	$> 50/\text{min}$
Sistolni pritisak (mmHg/kPa)	$< 65 / 8,7$	$< 75 / 10,0$
Leukocitoza ( $\text{Le} \times 10^9/\text{l}$ )	$> 30$	$> 17,5$
Leukopenija ( $\text{Le} \times 10^9/\text{l}$ )	$< 7,5$	$< 5,0$

\* *rektalno merenje; telesna temperatura  $> 38,50\text{ C}$  je pouzdaniji kriterijum*

\*\* *kontrinuirano se održavaju  $> 30$  minuta u odsustvu urođene srčane mane, bolnih stimulusa ili primene beta-blokatora*

S obzirom da precizna definicija neonatalne sepse i dalje je predmet stručnih polemika, danas se najčešće koristi definicija da potvrđena sepsa znaci SIRS-a sa pozitivnom hemokulturom (izolat mikroorganizma iz krvi). Ukoliko su prisutni znaci SIRS-a, a bez mikrobiološke potvrde, stanje se definiše kao klinička sepsa<sup>178,179</sup>. Već je istaknuto da je zlatni standard potvrde sepse pozitivna hemokultura uzeta pre primene antibiotika. Smatra se da mogućnost izolacije mikroorganizma u hemokulturi zavisi i od količine uzete krvi, pa se kao standrad za dijagnozu NS uzima 1 ml krvi. Međutim, za ekstremno nezrelu novorođenčad, čiji ukupni volumen cirkulišuće krvi iznosi 50 do 100 ml, navedena količina je prevelika, pa se u praktičnom radu uglavnom uzima uzorak od 0,5ml krvi, što utiče na smanjenje osetljivosti hemokulture za 10 do 40%<sup>180</sup>. Na lažno negativan rezultat utiče i intarpartalna primena antibiotika.

S obzirom na gore navedene teškoće u kliničkoj dijagnostici sepse, laboratorijska dijagnostika ima veliki značaj u otkrivanju NS. Nespecifična laboratorijska dijagnostika podrazumeva biohemijsku analizu krvi (određivanje reaktanata akutne faze zapaljenja) i analizu kompletne krvne slike. Idealan laboratorijski test koji sa velikom sigurnošću potvrđuje ili isključuje NS do sada nažalost nije otkriven. Ovim analizama se određuje broj leukocita i diferencijalna formula i koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) u serumu<sup>157</sup>. Među ostalim markerima koji imaju praktičnu primenu u dijagnostici NS su prokalcitonin i proinflamatorni citokini: interleukin-6, interleukin-8 i interleukin-10. Pored CRP-a i prokalcitonina, poslednjih godina navodi se veliki broj drugih reaktanata akutne faze zapaljenja kao što su serumski amiloid A, lipopolisaharid vezujući protein ili određeni podtipovi presepsina, ali ovi markeri za sada nisu u široj kliničkoj upotrebi. Smatra se da su parametri zapaljenja nedovoljni za postavljanje dijagnoze sepse bez potvrđene hemokulture<sup>179</sup>. U praktičnom radu, najčešće se koristi CRP, a njegova vrednost može biti povišena i fiziološki kod zdravog terminskog novorođenčeta u prvih 48h: nakon vaginalnog porođaja uočava se porast CRP-a i kod majke i kod novorođenčeta<sup>181</sup>.

### 1.3.3. Primena antibiotika u lečenju neonatalne sepsse

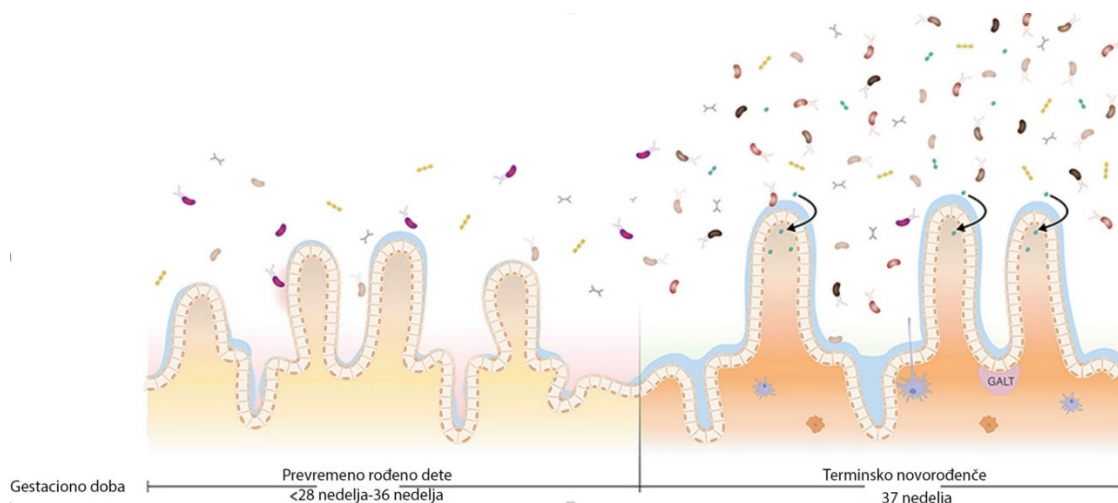
U jedinicama intenzivnih nega antibiotici su jedni od najčešće korišćenih lekova. Zbog sklonosti razvoju infekcija, prevremeno rođena deca često su izložena njihovoj, ponekad, neracionalnoj primeni. Antibiotici se mogu primenjivati kao inicijalna, empirijska terapija ili specifična nakon dobijanja rezultata hemokulture. Inicijalna terapija se daje odmah posle rođenja ili zbrinjavanja prevremeno rođenom novorođenčetu, a ima za cilj sprečavanje/lečenje infekcije koja je mogući uzrok prevremenog porođaja. Svetska zdravstvena organizacija preporučuje uporednu primenu ampicilina i gentamicina kao inicijalnu terapiju. Promptna primena antibiotika, je veoma važna za ishod lečenja i može da spreči nastanak teških oblika infekcije kod prevremeno rođene dece, kao što je razvoj septičnog šoka<sup>182</sup>. Ipak, zabrinjavajuća je činjenica da je pojava rezistencije na prvu liniju antibiotika danas sve češća kod bakterijskih uzročnika kasne NS, dok su uzročnici rane NS još uvek uglavnom osetljivi na pomenutu terapiju<sup>134</sup>. Pojava rezistencije je posebno izražena u zemljama u razvoju, u kojima se stoga preporučuje primena antibiotika druge linije, npr. cefalosporina treće generacije<sup>183</sup>. Studije su pokazale da je na inicijalnu terapiju u zemljama u razvoju rezistentno čak 70% *Klebsiella* spp. i 50% sojeva *E. coli* uzročnika kasne NS<sup>184</sup>. U jedinicama neonatalne intenzivne nege, na globalnom nivou najveći broj intrahospitalnih infekcija su uzrokovane Gram negativnim bakterijama i to enterobakterijama koje proizvode beta laktamaze proširenog spektra delovanja (ESBL-E), a sve učestalija je i pojava enterobakterija rezistentnih na karbapeneme (CRE)<sup>134</sup>.

U lečenju neonatalnih infekcija ne postoji konsenzus oko antimikrobne terapije već se obično prate lokalni klinički protokoli. Većina centara sprovodi lečenje od 10 dana do 2 nedelje za sepsu uzrokovanu Gram pozitivnim, a dve ili tri nedelje za sepsu uzrokovanu Gram negativnim bakterijama. Poseban problem predstavlja dugotrajno lečenje kliničke sepsse koja nije potvrđena hemokulturom, što je jedan od bitnih uzroka nastanka rezistentnih bakterijskih sojeva u odeljenjima neonatalne intenzivne terapije. Danas se ulažu značajni napor u cilju smanjenja primene antibiotika, pa se u Velikoj Britaniji npr., kod nedokazane sepsse na svakih 36 časova preispituje dalja primena antibiotika<sup>185</sup>.

### 1.3.4. Veza između kolonizacije gastrointestinalnog trakta i nastanka neonatalne sepsse

Kod prevremeno rođenog novorođenčeta, srazmerno stepenu nezrelosti, sluzokoža gastrointestinalnog trakta nije dovoljno formirana, a dolazi ubrzano do kontakta i kolonizacije sa brojnim mikroorganizmima iz okruženja, u ovom slučaju bolničkog. U tom okruženju se često nalaze potencijalno patogeni mikroorganizmi, kao npr. enterobakterije i druge Gram negativne bakterije<sup>186</sup>. Čelije sluzokože gastrointestinalnog trakta kod prevremeno rođene dece proizvode manje mukusa, peristaltika je slabija i lučenje enzima za varenje, što sve doprinosi vulnerabilnosti. S obzirom na nerazvijenost imunskog sistema i sluzokože koja treba da predstavlja barijeru za prodor mikroorganizama, često kolonizacija digestivnog trakta prethodi prodoru bakterija i nastanku kasne neonatalne sepsse<sup>187-189</sup>. U nerazvijenim zemljama, Gram negativne bakterije su jedne od najčešćih uzročnika kasne neonatalne sepsse<sup>134,186</sup>. Kolonizacija ESBL-E i CRE je predstavlja rizik za nastanak infekcije kod kolonizovanih<sup>190</sup>. Pored toga, kolonizovani postaju izvor i rezervoar rezistentnih bakterija koje se mogu preneti dalje na druge ljude ili u okruženje<sup>146</sup>. Mnoge studije su ispitivale i potvrdile vezu između kolonizacije gastrointestinalnog trakta prevremeno rođene dece i nastanka kasne neonatalne sepsse<sup>191,192</sup>. Praćenje tj. skrining kolonizovanih pacijenata je mera koja se sprovodi u cilju sprečavanja transmisije i predikcije nastanka infekcije<sup>182</sup>. U nekim zemljama je skrining kolonizacije Gram negativnim bakterijama i određenim Gram pozitivnim bakterijama uobičajena procedura koja se redovno sprovodi na svakih 48h, 72h ili najmanje jednom nedeljno kod sve

novorođenčadi veoma male telesne mase<sup>176,193,194</sup>. U nekim neonatološkim centrima skrining se radi ciljano u slučaju nastanka bolničke epidemije<sup>175</sup>.



Slika 1.4. Gastrointestinalni trakt prevremeno rođenog u odnosu na terminsko novorođenče  
Preuzeto iz Henderickx 2019 105

## 1.4. $\beta$ -LAKTAMSKI ANTIBIOTICI, MEHANIZMI REZISTENCIJE NA $\beta$ -LAKTAMSKE ANTIBIOTIKE

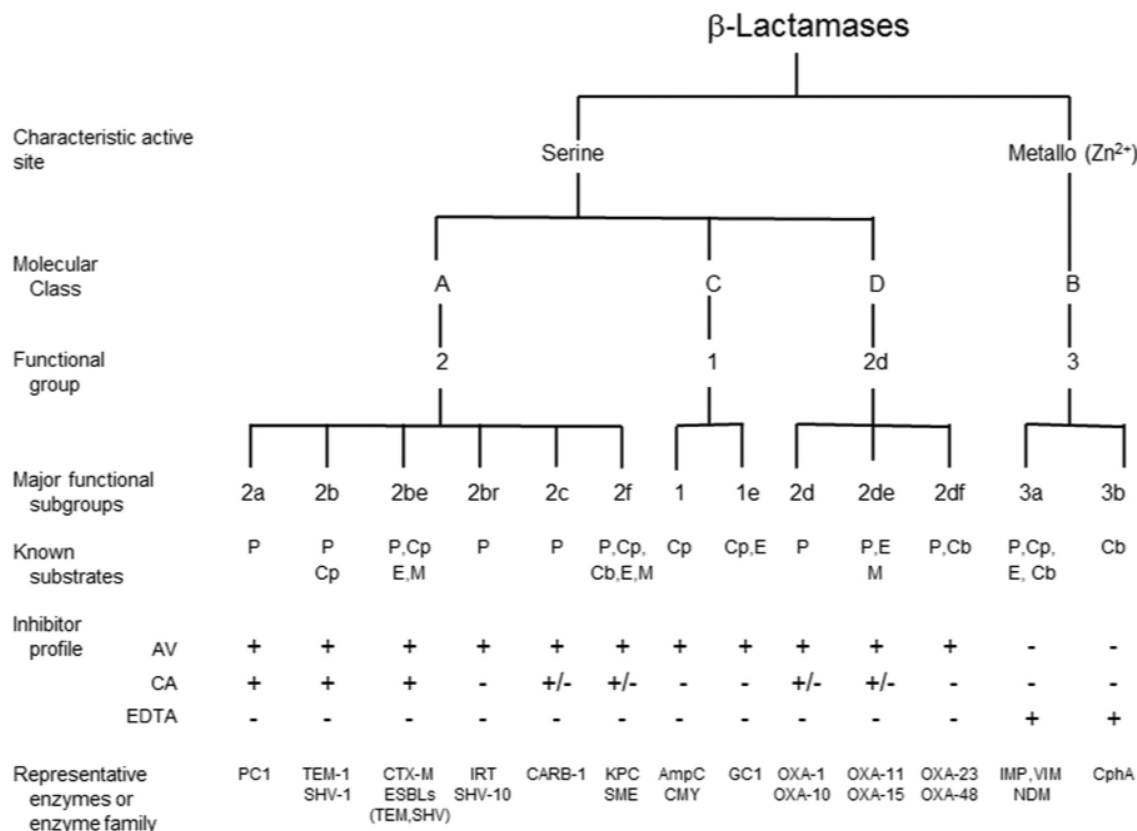
### 1.4.1. Beta laktamski antibiotici

Bakterije su jedne od prvih organizama na Zemlji, a u zavisnosti od sastava ćelijskog zida bakterija se dele na Gram pozitivne i Gram negativne. Beta laktamski antibiotici inhibiraju sintezu ćelijskog zida bakterija. U osnovi njihove građe je  $\beta$ -laktamski prsten koji je ključan za antibakterijsko delovanje. Beta laktami se vezuju za penicilin vezujuće proteine (PBP), tj. enzime transpeptidaze u ćelijskom zidu<sup>195</sup>, čija je funkcija povezivanje slojeva peptidoglikana. To dovodi do prekida sinteze peptidoglikana, što izaziva smrt bakterijskih ćelija, pa je efekat antibiotika baktericidan. Beta laktamski antibiotici predstavljaju veliku grupu antibiotika koja obuhvata peniciline, cefalosporine, karbapeneme i monobaktame. Ovi antibiotski agensi su jedni od najznačajnijih i najčešće korišćenih lekova u kliničkoj praksi<sup>196</sup>. Njihov spektar delovanja je širok (zavisno od vrste) i deluju na većinu medicinski značajnih vrsta bakterija. Mehanizmi rezistencije na ovu grupu antibiotika su brojni<sup>197</sup>. Enzimaska razgradnja  $\beta$ -laktama tj. hidroliza  $\beta$ -laktamskog prstena je posledica produkcije  $\beta$ -laktamaza. To je veoma rasprostranjen mehanizam rezistencije, a kod Gram negativnih bakterija je to najčešći mehanizam rezistencije na ovu grupu antibiotika<sup>198</sup>.

### 1.4.2. $\beta$ -laktamaze

Beta laktamaze su enzimi koji vrše hidrolizu  $\beta$ -laktamskog prstena i inaktiviraju antibiotik. Do sada su otkrivene i opisane brojne vrste  $\beta$ -laktamaza, a njihov broj se uvećava otkrićem novih vrsta<sup>198</sup>. Postoje dve najčešće korišćene klasifikacije  $\beta$ -laktamaza: Amblerova podela na osnovu građe tj. proteinske strukture<sup>199</sup> i Bušova (Bush) funkcionalna klasifikacija<sup>198,200</sup>. Prema Amblerovoj dopunjenoj klasifikaciji,  $\beta$ -laktamaze se dele na 4 klase, A, B, C i D<sup>199,201,202</sup>. Klasa A i B su prvobitno opisane, a C i D su naknadno otkrivene i po mehanizmu delovanja su slične klasi A. Klase A, C i D obuhvataju tzv. serin- $\beta$ -beta laktamaze koje u aktivnom delu enzima imaju aminokiselinu serin. Klasa B  $\beta$ -laktamaza uključuje tzv. metaloenzime, za čije delovanje su neophodni joni metala, najčešće

cinka. Funkcionalna klasifikacija  $\beta$ -laktamaza je zasnovana na spektru delovanja enzima na odgovarajuće  $\beta$ -laktame i osetljivosti prema inhibitorima  $\beta$ -laktamaza, a uzima u obzir i molekulsku građu enzima. Ova klasifikacija je kompleksna, ali je njen praktični značaj veliki jer je zasnovana na ključnim kliničkim aspektima, tj. spektru delovanja enzima. Prvobitna funkcionalna podela bila je zasnovana na delovanju enzima na supstrat i osetljivosti prema inhibitorima  $\beta$ -laktamaza<sup>200</sup>. S vremenom je došlo do otkrića brojnih enzima te se prema dopunjenoj Bušovoj klasifikaciji<sup>203</sup> beta laktamaze dele u tri osnovne funkcionalne grupe (1-3) u okviru kojih postoji najmanje 17 različitih funkcionalnih podgrupa (slika 1.5).



Slika 1.5. Molekularne i funkcionalne veze između  $\beta$ -laktamaza; AV-avibaktam, CA-klavulanska kiselina, Cb-karbapenem; Cp-cefalosporin; E-cefalosporin proširenog spektra; M-monobaktam; P-penicilin<sup>203</sup>

Beta laktamaze su često lokalizovane na plazmidima ili na drugim mobilnim genskim elementima, što je značajno za brzinu njihovog širenja u bolničkim okruženjima i u vanbolničkoj sredini. Uz to, na plazmidima su obično prisutni i geni za rezistenciju na druge, nesrodne klase antibiotika, te je uobičajena pojava udružene rezistencije na veći broj različitih klasa antibiotika:  $\beta$ -laktame, tetracikline, fluorohinolone, aminoglikozide, sulfametoksazol trimetoprim i druge antibiotike. Kod enterobakterija, beta laktamaze su najčešće lokalizovane na plazmidima.

### 1.4.3. $\beta$ -laktamaze proširenog spektra delovanja (ESBL)

U okviru beta laktamaza, poseban značaj imaju ESBL. Ova grupa enzima je veoma heterogena i u literaturi ne postoji potpuni konsenzus ni oko definicije pojma, ni oko njihove klasifikacije<sup>204</sup>. Ipak, termin ESBL se najčešće odnosi na  $\beta$ -laktamaze koje razlažu peniciline, cefalosporine i monobaktame, pri čemu su cefamicini i karbapenemi pošteđeni i inhibirane su inhibitorima  $\beta$ -laktamaza, kao što su klavulanska kiselina ili tazobaktam<sup>204</sup>. Pripadaju najčešće klasi A, a prema funkcionalnoj podeli su svrstane u drugu grupu i podgrupu be (Slika 1.5). Ove enzime

moгу proizvoditi različite bakterijske vrste, ali najveći praktični značaj ima njihovo prisustvo kod enterobakterija<sup>204</sup>. Sojevi bakterija *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *Serratia* spp. i dr. česti su produktori ESBL, pogotovo izolati koji potiču iz bolničkih sredina. Prvootkriven ESBL enzim je bio SHV-2 1983. godine nađen kod *Klebsiella* spp. izolata u Nemačkoj<sup>205</sup>. Ubrzo je usledila pojava TEM varijante enzima kod *K. pneumoniae* u Francuskoj 1987<sup>206</sup>. Kasnih osamdesetih na više mesta u svetu i kod različitih vrsta enterobakterija su opisani prvi CTX-M tipovi enzima, a nadalje su usledila otkrića niza CTX-M varijanti<sup>207</sup>. Među CTX-M porodicom, CTX-M-15 tip je globalno diseminovan i njegovim širenjem je došlo do potiskivanja prethodno dominantnih TEM i SHV tipova ESBL<sup>208</sup>. TEM, SHV i CTX-M su najznačajnije porodice ESBL enzima koje su sa različitom učestalošću rasprostranjene svuda u svetu<sup>209</sup>. Pored ovih, postoje brojni nesrodni tipovi β-laktamaza koji ispoljavaju ESBL fenotip, pa je ESBL veoma heterogena grupa enzima i stoga njihova klasifikacija nije jedinstvena<sup>196,210</sup>. Većina autora se slaže da ESBL obuhvataju veliki broj raznorodnih vrsta β-laktamaza koji dele zajedničke osobine: rezistenciju na oksiminu cefalosporine, osetljivost na karbapeneme i inhibiciju inhibitorima β-laktamaza. Ove osobine su osnova za identifikaciju ESBL produkujućih sojeva u svakodnevnom radu u mikrobiološkim laboratorijama<sup>211</sup>. Ipak, ovakva karakterizacija neki put dovodi do greške, jer sojevi sa dodatnim mehanizmima rezistencije imaju rezistotipove koji ne odgovaraju prethodno navedenom opisu<sup>212</sup>. Među ESBL enzimima daleko najveći klinički značaj imaju CTX-M, a zatim TEM i SHV tipovi, koji su široko rasprostranjeni u celom svetu. Ostali, manje učestali, ali klinički značajni tipovi ESBL enzima uključuju VEB, PER, GES, TLE, IBC, BES, BEL i druge tipove<sup>210</sup>.

## 1.5. KARBAPENEMAZE

Karbapenemi su antibiotici širokog spektra delovanja i koriste se kao poslednja terapijska linija za lečenje infekcija izazvanih Gram pozitivnim i Gram negativnim bakterijama. Pojava ESBL enzima i njihovo širenje je doprinelo prekomernoj upotrebi karbapenema, što je izazvalo selektivni pritisak i doprinelo razvoju i širenju karbapenemske rezistencije. Karbapenemska rezistencija može biti izazvana različitim mehanizmima kod Gram negativnih bakterija, ali je najznačajniji mehanizam produkcija karbapenemaza<sup>213</sup>. Do devedestih godina prošlog veka, hromozomski kodirane karbapenemaze su bile detektovane kod nekih vrsta bakterija, ali nije bilo opisa transfera gena koji ih kodiraju putem mobilnih genskih elemenata<sup>214,215</sup>. Prva plazmidski prenosiva karbapenemaza je opisana kod *Pseudomonas aeruginosa* IMP-1 u Japanu 1991, da bi usledio opis karbapenemaze kod *Enterobacter cloacae* 1993. godine<sup>215</sup>. Karbapenemaze pripadaju Amblerovim klasama A, B i D β-laktamazama<sup>216</sup>, pri čemu A i D grupa imaju aminokiselinu serin u aktivnom mestu enzima i spadaju u serin-β-laktamazame, dok su enzimi B grupe metalo β-laktamazame. Karbapenemaze vrše hidrolizu najvećeg broja β-laktama, uključujući i sve karbapeneme: meropenem, imipenem, ertapenem i doripenem<sup>216</sup>. Veliki broj karbapenemaza je otkriveno kod enterobakterija, a najznačajnije su KPC, NDM, OXA-48, a u manjoj meri IMP i VIM. I druge β-laktamazme mogu imati hidrolitičko dejstvo prema karbapenemima, ali je njihov značaj manji. Najveći klinički značaj ima KPC karbapenemaza. Ona je svrstana u A klasu po Amblerovoj podeli, a najčešće je prisutna kod izolata *K. pneumoniae*. Prvi put je KPC-2 tip opisan u SAD 1996. godine kod *K. pneumoniae*, a tačkastim mutacijama su od ovog enzima nastale druge varijante. Ipak, KPC-2 tip enzima je i dalje najučestaliji u svetu (ref). NDM enzimi su prvi put otkriveni kod Švedskog pacijenta koji je prethodno bio hospitalizovan u Nju Delhiju<sup>217</sup>. OXA-48 tip oksacilinaze je globalno treći najzastupljenija karbapenemaza, najčešće prisutna u severnoj Africi i Evropi. Prva put je identifikovana u Turskoj 2003. godine kod *K. pneumoniae*<sup>218</sup>. Mediteranske zemlje često prijavljuju prisustvo OXA-48 kod enterobakterije<sup>219</sup>. Iako su prisutne svuda u svetu, distribucija karbapenemaza u svetu je različita. KPC enzimi su endemski prisutni u Severnoj i Južnoj Americi, na jugu Evrope, Izraelu i Kini. NDM New Delhi metalo β-laktamaza prisutna u severnoj Evropi, Aziji i Indiji<sup>220,221</sup>.



## 1.6. PODACI O ESBL-E I CRE U SRBIJI

Među objavljenim radovima, malo je podataka o učestalosti ESBL-E infekcija u Srbiji. Podaci iz studije sprovedene u Kliničkom centru Srbije 2013. godine su pokazali da je učestalost rezistencije na cefalosporine treće generacije kod invazivnih izolata *K. pneumoniae* bila 80%, a ESBL fenotip je potvrđen kod 25% sojeva <sup>222</sup>. Prema izveštaju Centralno-azijske i evropske mreže za nadzor nad antimikrobnom rezistencijom od 2018 <sup>223</sup>, preko 80% invazivnih izolata *K. pneumoniae* i oko 25% izolata *E. coli* je bilo rezistentno na cefalosporine treće generacije, što je najvećim delom usled produkcije ESBL. Podaci o distribuciji gena koji kodiraju ESBL kod izolata u Srbiji, prema našem saznanju nedostaju. Više podataka međutim ima o karbapenemskoj rezistenciji i udruženoj rezistenciji na karbapeneme i kolistin kod izolata enterobakterija iz neše zemlje <sup>224,225</sup>. Prema rezultatima multinacionalnog projekta nadzora nad karbapenemaza produkujućim enterobakterijama <sup>226</sup>, u 2013. godini, Srbija je, uz Grčku, Crnu Goru, Italiju i Španiju svrstana u zemlje sa visokom prevalencijom CPE <sup>226</sup>. Tada je, kod sojeva *E. coli* iz Srbije nađena NDM karbapenemaza. Daljim praćenjem u okviru navedenog projekta je registrovano značajno povećanje učestalosti CPE u Srbiji <sup>227</sup>, što takođe pokazuju podaci CAESAR nadzora <sup>228</sup>. Kod nas je do sada opisano prisustvo OXA-48 <sup>225</sup>, NDM i KPC enzima <sup>224</sup>, kod sojeva *K. pneumoniae* rezistentnih na karbapeneme i na kolistin pre svega u bolničkoj sredini, ali i u vanbolničkoj sredini.

Sveukupno, ima malo podataka o distribuciji karbapenemaza i ESBL u bolničkim sredinama kod nas, a podaci iz pedijatrijske populacije su vrlo retki. Jedna studija o učestalosti bolničkih infekcija u OIN, rađena 2012. godine u Kragujevcu ukazala je na visoku učestalost bolničkih infekcija od 18,6% <sup>229</sup>.

---

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

---

**Na osnovu iznetih podataka postavljeni su sledeći ciljeni istraživanja:**

1. Određivanje učestalosti kolonizacije gastrointestinalnog trakta multirezistetnim enterobakterijama (ESBL-E i CRE) kod hospitalizovane prevremeno rođene dece
2. Određivanje faktora rizika za nastanak kolonizacije multirezistetnim enterobakterijama (ESBL-E i CRE) kod hospitalizovane prevremeno rođene dece, kao i faktora rizika za razvoj infekcija.
3. Istraživanje dinamike uspostavljanja kolonizacije gastrointestinalnog trakta multirezistetnim enterobakterijama (ESBL-E i CRE) tokom hospitalizacije i dužine njenog održavanja nakon otpusta iz bolnice
4. Ispitivanje antimikrobne osetljivosti izolovanih multirezistetnih enterobakterija (ESBL-E i CRE) i određivanje genske osnove rezistencije

---

## 3. MATERIJAL I METODE

---

### 3.1. ISPITANICI I METODE

#### 3.1.1. Ustanove u kojima je istraživanje sprovedeno

Ovo istraživanje je sprovedeno na Institutu za neonatologiju u Beogradu i na Institutu za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Na Institutu za neonatologiju je izvršen odabir pacijenata, uzimanje uzoraka od pacijenata i prikupljanje podataka o pacijentima. Na Institutu za mikrobiologiju i imunologiju su vršene mikrobiološke analize u okviru ovog istraživanja, gde su posle uzorkovanja, uzorci transportovani i dalje obrađivani.

Institut za neonatologiju je zdravstvena ustanova tercijarnog nivoa, koja obavlja visoko specijalizovanu zdravstvenu delatnost u oblasti zdravstvene zaštite prevremeno rođene dece, dece male telesne mase i ugrožene novorođenčadi. Specifičnost rada se ogleda u lečenju nezrele i ugrožene novorođenčadi transportovanih iz porodilišta širom zemlje, a ređe i iz okolnih zemalja.

U Institutu za neonatologiju se poštuju interni ili opšteprihvaćeni protokoli lečenja. Mere i procedure za prevenciju nastanka i širenja zaraznih bolesti sprovode se u skladu sa Zakonom o zaštiti stanovništva od zaraznih bolesti ("Sl. glasnik RS", br. 15/2016, 68/2020 i 136/2020) i Pravilnikom o sprečavanju, ranom otkrivanju i suzbijanju bolničkih infekcija ("Sl. glasnik RS", br. 1/2020). Ustanova ima ustanovljen program zaštite od zaraznih bolesti, komisiju za zarazne bolesti, epidemiološki nadzor nad bolničkim infekcijama i uspostavljene higijenske mere uključujući procedure pranja ruku, postupka antiseptike za osoblje, pacijente i čišćenje i dezinfekciju opreme i prostora. Zaposleno osoblje, shodno Pravilniku o obaveznim zdravstvenim pregledima određenih kategorija zaposlenih lica u objektima pod sanitarnim nadzorom ("Službeni glasnik RS", broj 3 od 18. januara 2017), podleže redovnim kontrolama radi detekcije kliconoštva *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* i enteropatogenih enterobakterija, čime nije obuhvaćeno ispitivanje kolonizacije multirezistentnim patogenima.

Ustanova ima pet funkcionalnih jedinica (odeljenja): prijemno odeljenje i odeljenje transporta, odeljenje intenzivne nege (OIN), odeljenje izolacije i dva odeljenja specijalizovane nege. Godišnje se u ustanovu primi oko 700 novorođenčadi. Prosečna dužina lečenja zavisi od telesne mase i pratećih oboljenja i iznosi oko 50 dana (od 10 do 220 dana).

U OIN se primaju vitalno ugrožena novorođenčad, i to u prijemni boks koji raspolaže sa devet kiseoničnih mesta, gde novorođenčad ostaju smeštana tokom prvih dana po transportu, a oni kojima je neophodan duži boravak na ovom odeljenju se premeštaju u boks koji raspolaže sa osam kiseoničnih mesta, gde osmoro novorođenčadi nastavlja lečenje. Na odeljenima poluintenzivne nege novorođenčad su odvojena po boksevima sa po četiri do sedam novorođenčadi, zavisno od veličine prostorije. Oko 90% primljene novorođenčadi su sa telesnom masom manjom od 2500g, 40% ispod 1500g, 20% su ekstremno male telesne mase, ispod 1000g.

U OIN može biti smešteno 20 pacijenta (maksimalno 22), pri čemu je odnos broja medicinskih sestara prema broju pacijenata 1:4. Na ostalim odeljenjima, broj pacijenata je između 16 i 30, a odnos broja medicinskih sestara prema broju pacijenata je od 1:9 do maksimalno 1:15. Kod sve novoprimiteljne novorođenčadi, uobičajena praksa prilikom prijema uključuje uzimanje krvi za hemokulturu. Ukoliko pacijent zahteva endotrahealnu intubaciju (ili je primljen intubiran), uzima se i trahealni aspirat. Kod sve novorođenčadi se započinje ili nastavlja inicijalna antimikrobna terapija koju čine ampicilin i aminoglikozid (amikacin ili gentamicin), koji se najčešće primenjuju do dobijanja nalaza negativne hemokulture, tj. u proseku oko 5-7 dana. U OIN se plasira venski umbilikalni kateter svoj novoprimiteljnoj novorođenčadi, a na odeljenju prijema novorođenčadi sa TM manjom od 1600 g. Svi uzorci za mikrobiološke (bakteriološke) analize koje se uzimaju tokom

hospitalizacije šalju se u Institut za javno zdravlje Srbije „Batut“, gde se vrši bakteriološka obrada. Dobijeni rezultati hemokultura dobijaju najčešće posle 5-7 dana (nalaze se u istorijama bolesti pacijenata). U slučaju negativnog nalaza i odsustva kliničkih simptoma infekcije, incijalna antimikrobna terapija se prekida. Ukoliko je hemokultura pozitivna dobija se telefonski izveštaj nakon 24 do 48 sati, uz podatak o senzitivnosti izolovane bakterije.

Za ishranu novorođenčadi, u prvim danima po rođenju koristi se humano mleko donora iz Banke mleka koja je formirana u okviru Instituta za neonatologiju, a čim postano dostupno daje se majčino mleko. Kod vitalno ugrožene i veoma nezrele novorođenčadi, započinje se minimalna enteralna ishrana (volumeni od 10-20 ml/kg za 24h), već u prvom danu po rođenju, osim u slučaju izražene hemodinamske nestabilnosti kada se ishrana započinje po korekciji cirkulatorne insuficijencije, obično u drugom ili trećem danu po rođenju. U slučajevima kada majčino mleko ne bude dostupno, a kapacitet Banke mleka za isporuku humanog mleka donora nedovoljan, daje se adaptirana mlečna formula za prevremeno rođenu decu. Kod sve prevremeno rođene novorođenčadi, u cilju prevencije nekrotizirajućeg enterokolitisa i kasne sepse, uporedo sa započinjanjem enteralne ishrane, započinje se i primena preparata probiotika. Koristi se probiotski preparat sa sojem *Lactobacillus rhamnosus* ili višekomponentni preparat koji takođe sadrži ovaj soj (u zavisnosti od dostupnosti). Kod novorođenčadi kod koje se ne može uspostaviti enteralna ishrana sprovodi se totalna parenteralna ishrana, odnosno u slučaju nedovoljnog enteralnog unosa daje se komplementarna parenteralna ishrana.

Prema godišnjem izveštaju ustanove iz 2017. godine, učestalost mikrobiološki potvrđenih infekcija krvi iznosi 9,22% a analiza rezultata mikrobiološke laboratorije pokazuje da su ESBL-E među najčešćim izolatima iz pozitivnih hemokultura. U kliničkoj praksi ustanove se ne sprovodi skrining kolonizacije gastrointestinalnog trakta rezistentnim bakterijama uzimanjem rektalnih uzoraka.

### 3.2. ISPITANICI I PERIOD ISTRAŽIVANJA

Ovo ispitivanje je obuhvatilo prevremeno rođenu novorođenčad (rođeni pre 37. nedelje gestacije, odnosno do 36 nedjelja i 6 dana, računano od prvog dana poslednje menstruacije majke) hospitalizovanu na Institutu za neonatologiju u Beogradu. Ispitanici su odabrani metodom slučajnog izbora i uključeni su u dve kohorte. Prva kohorta je obuhvatila 350 ispitanika kojima je na otpustu iz Instituta za neonatologiju ispitivana kolonizacija ESBL-E i CRE, radi određivanja učestalosti kolonizacije pomenutim bakterijama, faktora rizika za kolonizaciju. U drugu kohortu je uključeno 88 ispitanika kojima je praćena dinamika uspostavljanja kolonizacije ESBL-E i CRE, održavanje kolonizacije ESBL-E i CRE za vreme perioda hospitalizacije, kao i dužina trajanja kolonizacije ESBL-E i CRE posle otpusta iz ustanove na redovnim kontrolnim pregledima. Ispitivanje je trajalo od 8. januara 2018. do 30. maja 2020. godine.

Studija je odobrena od strane Etičkog odbora Instituta za neonatologiju (broj odluke 3817/3-2017) i Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu (broj odluke 1322/II/82-2020). Roditelj (roditelji) svakog od ispitanika je obavešten o cilju studije i uzorcima koji su uzimani i svojim potpisom je dao dobrovoljno pristanak za učestvovanje u istraživanju.

### 3.3. TIP STUDIJE

Ova studije se sastoji iz dva dela. Prvi deo studije određivanja učestalosti kolonizacije i faktora rizika za kolonizaciju je rađen po tipu prospektivne kohortne studije. Drugi deo studije praćenja dinamike uspostavljanja i održavanja kolonizacije je takođe rađen po tipu prospektivne kohortne studije.

### 3.4. PODACI IZ ISTORIJA BOLESTI ISPITANIKA

Za sve ispitanike su iz istorija bolesti prikupljene informacije od značaja za studiju. Među prikupljenim podacima o ispitanicima su bili demografski podaci, podaci o majkama ispitanika i toku trudnoće, podaci o ispitanicima na rođenju i podaci o toku hospitalizacije i bolestima prematuriteta.

#### 3.4.1. Demografski podaci o ispitanicima

Prikupljeni demografski podaci ispitanika su bili prezime i ime majke, pol, mesto rođenja, veličina porodilišta i starost na prijemu (u danima). Po opšteprihvaćenom stavu, pod pojmom malog porodilišta smatra se porodilište sa manje od 500 porođaja godišnje, pod srednjim od 500 do 3000, dok veliko porodilište ima preko 3000 porođaja godišnje. Za potrebe ove studije, mala i srednja porodilišta su objedinjena u kategoriju „malo porodilište“. Značaj veličine porodilišta je u činjenici da je u velikim porodilištima obezbeđena prenatalna negu trudnica, kao i da se u takvim centrima primenjuju mere intenzivne neonatalne terapije i nege, stoga je i mogućnost kolonizacije patogenim sojevima bakterija veća.

#### 3.4.2. Podaci o majkama ispitanika

Podaci o majkama ispitanika su bili godine starosti i podatak o primenjenoj antibiotskoj i ostalim terapijama tokom trudnoće, uključujući antihipertenzivnu, tokolitičnu i kortikosteroidnu terapiju. Podaci o trudnoći su uključili informacije o načinu začeća (spontano ili *in vitro* fertilizacija), tipu porođaja (vaginalni ili carski rez), da li je trudnoća jednoplodna ili višeplodna i razlog prevremenog porođaja (pre-eklampsija, eklampsija, prevremeno prsnuće plodovih ovojaka i dr.).

#### 3.4.3. Podaci o ispitanicima na rođenju

Podaci o novorođenčetu na rođenju su dobijeni iz porođajnih listova i to su bili nedelja gestacije, telesna masa na rođenju (PTM), Apgar skor (AS) u prvom minutu i dijagnoza mali za gestacijsko doba.

Nedelja gestacije je računata u odnosu na prvi dan poslednje menstruacije majke. Prema gestacijskoj zrelosti, ispitanici su podeljeni na ekstremno nezrele (rođene pre 28. nedelje gestacije), veoma nezrele (rođene u periodu od 28. do 32. nedelje gestacije), umereno nezrele (rođene u 32. ili 33. nedelji gestacije) i kasno pretermijske (rođene od 34. do 37. nedelje gestacije).

Prema telesnoj masi na rođenju, novorođenčad su podeljena na kategorije: novorođenčad male telesne mase (MTM) sa PTM manje od 2500 g, novorođenčad veoma male telesne mase (VMTM) sa PTM manje od 1500 g i novorođenčad ekstremno male telesne mase (EMTM) sa PTM manje od 1000g.

Vrednost Apgar skora (AS) na rođenju, dobijena je iz porođajnog lista. Parametri koji su procenjivani obuhvataju: prebojenost kože, respiracije, srčanu frekvenciju, tonus i refleksnu aktivnost, a svaki parameter se ocenjuje sa 0, 1 ili 2 poena. Ocena koja se daje na kraju prvog minuta odražava vitalnost novorođenčeta po rođenju. Na osnovu vrednosti AS, formirane su tri kategorije: nizak AS (vrednosti 0-3); umereno nizak AS (vrednost 4-7) i zadovoljavajući AS (vrednosti 8-10).

Dijagnoza malog za gestacijsko doba odnosila se na novorođenčad čija PTM je bila ispod 10. percentila za pol i uzrast, prema važećim lokalnim antropometrijskim parametrima novorođenčadi

### 3.4.4. Podaci o toku hospitalizacije

Podaci o toku hospitalizacije su uključili sledeće:

- a. lečenje u odeljenju intezivne nege (OIN) i broj dana proveden u OIN
- b. boravak na odeljenju otpusta
- c. primena invazivnih procedura kao što su plasiranje venskog umbilikalnog katetera, mehanička ventilacija ili drugi vidovi respiratorne potpore, totalna parenteralna ishrana i dr.
- d. mikrobiološki potvrđene infekcije tokom hospitalizacije tj. pozitivan nalaz hemokulture
- e. klinička potvrda infekcije kod novorođenčeta, bez izolata u hemokulturi
- f. podaci o administriranoj antibiotskoj terapiji (vrsta antibiotika, kombinacije, dužina primene)
- g. prisustvo oboljenja specifičnih za prevremeno rođenu novorođenčad: nekrotičnog enterokolitisa (NEK), retinopatije prematuriteta (ROP), bronhopulmonalne displazije (BPD), perzistentnog duktusa arteriozusa (DAP) i intraventrikularne hemoragije (IVH) koja je za potrebe ove studije podeljena u dva oblika: blaga – stadijum I i II IVH i teška – stadijumi III i IV prema Papile <sup>231</sup>

Klinički potvrđena infekcija, podrazumevala je udruženo postojanje kliničkih znakova sepse i laboratorijskih parametara koji su ukazivali na infekciju kod novorođenčeta. Kao laboratorijski parametri uzimani su: leukocitoza ( $> 30.000 \times 10^9 / l$  u prvih 7 dana, odnosno  $> 17500 \times 10^9 / l$  kasnije), leukopenija ( $< 7.000 \times 10^9 / l$  u prvih 7 dana, odnosno  $< 5.000 \times 10^9 / l$  kasnije), trombocitopenija  $< 150.000 / \mu l$ , povišena koncentracija C-reaktivnog proteina  $> 10 \text{ mg/l}$ .

## 3.5. DETEKCIJA KOLONIZACIJE ESBL-E I CRE

### 3.5.1. Uzorkovanje rektalnog brisa

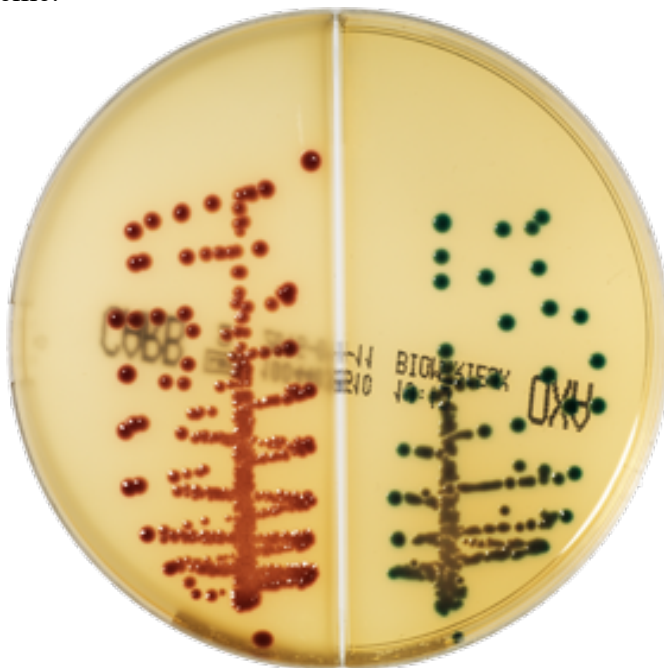
Radi određivanja intestinalne kolonizacije ESBL-E i CRE svim pacijentima uključenim u istraživanje je uzet rektalni bris. Procedura uzorkovanje je bila sledeća: sterilan bris od pamučne vate je navlažen sterilnim fiziološkim rastvorom, a zatim je plasiran u rektum ispitanika do 1cm dubine, rotiran tokom 10 sekundi i nakon vađenja stavljen u Amies transportni medijum (Copan, Italija). Uzeti rektalni brisevi su u periodu do 12 h nakon uzorkovanja transportovani na Institut za mikrobiologiju i imunologiju, gde je vršena dalja obrada. U prvoj kohorti ispitanika, rektalni bris je uziman prilikom otpusta iz bolnice. U drugoj kohorti ispitanika kojima je prospektivno praćeno uspostavljanje i održavanje kolonizacije ESBL-E i CRE, rektalni brisevi su uzorkovani na prijemu u ustanovu, četvrtog i sedmog dana hospitalizacije i nadalje jednom mesečno (tokom poslednje nedelje u mesecu) do kraja hospitalizacije. Posle otpusta iz ustanove, rektalni brisevi su uzorkovani na redovnim kontrolnim pregledima krajem prvog, drugog i šestog meseca i posle jedne godine od dana otpusta.

### 3.5.2. Kultivisanje i identifikacija sojeva

Brisevi su iz transportnog medijuma zasejavani na CHROMID-ESBL (bioMerieux, France) i CROMID CARBA Smart podlogu (bioMerieux, France). Podloge su inkubirane tokom 24 h na temperaturi  $37^\circ\text{C}$  u aerobnim uslovima, posle čega je detektovan porast kolonija, a u slučaju da porasta nije bilo, inkubacija je produžavana tokom narednih 24 h. Preliminarna identifikacija kolonija je vršena na osnovu boje i izgleda kolonija prema preporukama proizvođača podloga. Naime, na CHROMID-ESBL podlozi sa cefpodoksimom, *E. coli* stvara bordo-crvene kolonije zbog produkcije  $\beta$ -glukuronidaze, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* i *Citrobacter* daju zelenkaste kolonije zbog produkcije  $\beta$ -glukozidaze, dok vrste *Proteae* rastu kao svetlo braon kolonije usled stvaranja dezaminaze. Na CHROMID CARBA Smart podlozi, princip identifikacije je isti kao i na CHROMID



ESBL podlozi, samo je kombinacija antibiotika drugačija radi selekcije porasta bakterija koje su rezistentne na karbapeneme.



Slika 3.1. Levo kolonije *Escherichia coli*, desno kolonije *Klebsiella pneumoniae* (preuzeto sa <https://www.biomerieux-diagnostics.com/chromid-carba-smart-agar>)<sup>232</sup>

Definitivna identifikacija je izvršena korišćenjem biohemijskih testova API 20E (bioMerieux, France) i/ili *in house* testova (Kliglerov dvostruki šećer, razgradnja manita, citrata i uree i produkcija indola i dr).

Potvrda ESBL fenotipa i potvrda karbapenemske rezistencije je izvršena prema preporukama EUCAST standarda<sup>233</sup>, za svaku bakterijsku vrstu poraslu na CHROMID-ESBL i/ili CARBA-SMART podlozi. Testom dvostruke disk sinergije sa diskovima ceftazidima (10 µg), cefotaksima (30 µg) i ceftriaksona (30 µg) postavljenim na razdaljini od 20 mm, 15 mm i 20 mm prema disku amoksisicilin-klavulanska kiselina (20-10 µg). U slučaju proširenja zone inhibicije rasta oko diskova cefalosporina prema disku sa klavulanskom kiselinom, radilo se o pozitivnom rezultati čime je potvrđivan ESBL fenotip. Karbapenemska rezistencija je potvrđena dokazivanjem rezistencije izolata na meropenem (10 µg) i imipenem (10 µg) disk difuzionom metodom antibiograma.

### 3.5.3. Ispitivanje antimikrobne osetljivosti ESBL-E i CRE izolata iz uzoraka rektalnih briseva

Antimikrobna osetljivost primoizolata ESBL-E i CRE od prospektivno praćenih ispitanika je testirana metodom disk difuzije prema preporukama EUCAST standarda. Testirani antibiotici su bili amoksisicilin-klavulanska kiselina (20-10 µg), piperacilin-tazobaktam (30-6 µg), cefotaksim (5 µg), ceftazidim (10 µg), ceftriakson (30 µg), cefepim (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), gentamicin (10 µg), amikacin (30 µg), trimetoprim-sulfametoksazol (1,25-23,75 µg), ciprofloksacin (5 µg), hloramfenikol (30 µg) i kolistin. Osetljivost na kolistin je određena bujon-mikrodilucionim testom (SensiTest Colistin, Liofilchem, Italy), a rezultat je interpretiran prema preporukama EUCAST standarda.

### 3.5.4. Čuvanje ESBL-E i CRE sojeva

Svi sojevi su čuvani na kosom hranjivom agaru (HiMedia, India) na temperaturi od 4-8°C tokom mesec dana, dok je za duže čuvanje korišćen bujon sa obranim mlekom (Skim Milk, HiMedia, Indija) u koji je suspendovano par kolonija sveže prekonocne kulture, a dobijena suspenzija je čuvana na -70°C.

### 3.6. DETEKCIJA ESBL GENA I GENA ZA PRODUKCIJU KARBAPENEMAZA

#### 3.6.1. Ekstrakcija bakterijske DNK

Metoda termalne ekstrakcije je korišćena za izolaciju DNK. Ukratko, u sterilnu plastičnu tubicu (1ml, Eppendorf, Nemačka) sa 100µl sterilne destilovane vode, je pomoću eze suspendovana jedna kolonija ispitivanog izolata, koja je kratkotrajno vorteksirana radi dobijanja homogene suspenzije. Suspenzija je stavljena u prethodno zagrejan termoblok (Eppendorf, Nemačka) i tokom 10 minuta je izlagana temperaturi od 95°C. Tubice su nakon vađenja iz termobloka, kratkotrajno centrifugirane (tokom 3 minuta) u Minispin centrifugi (Eppendorf, Nemačka). Iz svake tubice supernatant koji je sadržavao DNK je pažljivo pipetom prebačen u sterilnu novu tubicu obeleženu brojem izolata. Suspenzija DNK je čuvana u frižideru i korišćena tokom narednih 10 dana. Procedura ekstrakcije DNK je rađena za svaki primoizolat ESBL-E i CRE od kolonizovanih pacijenata iz kohorte prospektivno praćenih ispitanika.

#### 3.6.2. Multipleks PCR za detekciju ESBL gena i gena za produkciju karbapenemaza

Detekcija *bla*TEM, *bla*SHV i *bla*CTX-M (*bla*CTX-M-1,3,15 *bla*CTX-M-2, i *bla*CTX-M-9,14) porodica ESBL gena je rađena multiplex PCR metodom prema modifikovanom protokolu Dallenne et al (ref). Detekcija gena rezistencije na karbapeneme je uključila detekciju najvažnijih karbapenemaza: *bla*KPC, *bla*NDM, *bla*OXA-48, *bla*IMP i *bla*VIM. Pri čemu je korišćena multiplex PCR metoda, prema modifikovanim protokolima<sup>234,235</sup>. Parovi prajmera koji su korišćeni za detekciju odgovarajućih gena rezistencije su prikazani u Tabeli 3.1.

Tabela 3.1. Setovi prajmera korišćeni za detekciju gena koji kodiraju ESBL i gena koji kodiraju karbapenemaze

Prajmeri	Sekvenca nukleotida	Referenca	Veličina (bp)
<i>bla</i> TEM Fw	CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC	Dallenne et al. <sup>235</sup>	800 bp
<i>bla</i> TEM Rev	CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC		
<i>bla</i> SHV Fw	AGCCGCTTGAGCAAATTAAC	Dallenne et al.	713 bp
<i>bla</i> SHV Rev	ATCCCGCAGATAAATCACCAC		
<i>bla</i> CTX M1,3,15 Fw	TTAGGAARTGTGCCGCTGYA	Dallenne et al.	688 bp
<i>bla</i> CTX M 1,3,15 Rev	CGATATCGTTGGTGGTRCCAT		
<i>bla</i> CTX M2 Fw	CGTTAACGGCACGATGAC	Dallenne et al.	404 bp
<i>bla</i> CTX M2 Rev	CGATATCGTTGGTGGTRCCAT		
<i>bla</i> CTX M9,14 Fw	TCAAGCCTGCCGATCTGGT	Dallenne et al.	561 bp
<i>bla</i> CTX M9,14 Rev	TGATTCTCGCCGCTGAAG		
<i>bla</i> KPC Fw	CATTCAAGGGCTTTCTTGCTGC	Dallenne et al.	538 bp
<i>bla</i> KPC Rev	ACGACGGCATAGTCATTTGC		
<i>bla</i> NDM Fw	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	Poirel et al. <sup>234</sup>	621bp
<i>bla</i> NDM Rev	CGGAATGGCTCATCACGATC		
<i>bla</i> IMP Fw	TTGACACTCCATTTACDG	Dallenne et al.	139 bp
<i>bla</i> IMP Rev	GATYGAGAATTAAGCCACYCT		
<i>bla</i> VIM Fw	GATGGTGTGGTTCGCATA	Poirel et al.	390bp
<i>bla</i> VIM Rev	CGAATGCGCAGCACCAG		
<i>bla</i> OXA-48 Fw	GCTTGATCGCCCTCGATT	Dallenne et al.	438 bp
<i>bla</i> OXA-48 Rev	GATTTGCTCCGTGGCCGAAA		

Detekcija ESBL gena multiplex PCR metodom, korišćenjem prajmera (Tabela 3.1) je vršena u reakcionoj smeši zapremine 25 µl, koju su činili: 12,5 µl Thermo Scientific Phusion U Multiplex

PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, USA), po 0,5  $\mu$ l svakog prajmera koncentracije 20  $\mu$ mol/l (Thermo Fisher Scientific, USA), 3,5  $\mu$ l vode i 4  $\mu$ l prethodno pripremljene suspenzije bakterijske DNK. Uslovi pod kojima se odvijala amplifikacija su prikazani u Tabeli 3.2:

Tabela 3.2. Parametri multipleks PCR reakcije za detekciju ESBL gena

	Temperatura	Vreme	Broj ciklusa
Inicijalna denaturacija	98°C	30 sekundi	/
Denaturacija	98°C	10 sekundi	
Vezivanje prajmera	61°C	30 sekundi	
Elongacija	72°C	40 sekundi	35
Finalna elongacija	72°C	10 minuta	/

Multipleks PCR za umnožavanje gena za produkciju karbapenemaza je rađen u sledećim uslovima: reakcione smeše zapremine 25  $\mu$ l je korišćena, a nu su činili: 12,5  $\mu$ l Thermo Scientific Phusion U Multiplex PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, USA), po 0,5  $\mu$ l svakog prajmera koncentracije 20  $\mu$ mol/l (Thermo Fisher Scientific, USA), 3,5  $\mu$ l vode i 4  $\mu$ l suspenzije bakterijske DNK. Uslovi pod kojima se odvijala amplifikacija su prikazani u Tabeli 3.3.

Tabela 3.3 Parametri multipleks PCR reakcije za detekciju gena koji kodiraju karbapenemaze

	Temperatura	Vreme	Broj ciklusa
Inicijalna denaturacija	98°C	30 sekundi	/
Denaturacija	98°C	10 sekundi	
Vezivanje prajmera	58°C	30 sekundi	
Elongacija	72°C	40 sekundi	35
Finalna elongacija	72°C	10 minuta	/

### 3.6.3. Vizualizacija produkata multipleks PCR elektroforezom u gelu

Produkti PCR reakcija za utvrđivanje prisustva ESBL gena i gena za produkciju karbapenemaza su vizualizovani metodom horizontalne elektroforeze u 2% agaroznom gelu. Elektroforeza je vršena pri jačini strujnog polja od 175 V i trajala je 2,5 h za detekciju ESBL gena, a 45 minuta za detekciju karbapenemaza. U oba slučaja korišćen pufer je bio Tris acetat EDTA (TAE). U bunarčiće napravljene u gelu je stavljano po 7  $\mu$ l reakcione smeše posle izvedene PCR reakcije. Veličina PCR produkata je određivana korišćenjem DNK markera (100-1000 bp).

## 3.7. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

U statističkoj obradi podataka korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. Od metoda deskriptivne statistike korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana) i mere varijabiliteta (standardna devijacija i opseg), apsolutni i relativni brojevi. Za poređenje statistički značajne razlike između grupa korišćen je T test za numeričke podatke i Hi kvadrat test za nominalne podatke, a ukoliko su vrednosti učestalosti bile manje od 5 korišćen je Fisher-ov test tačne verovatnoće. Mann-Witney U test je korišćen u slučaju da su varijable bile kontinuirane, a raspodela nije bila normalna. Za analizu ponovljenih merenja nominalnih varijabli korišćen je Cochranov Q test. Rezultati su smatrani statistički značajnim u slučaju ako su vrednosti  $p$  bile niže od 0,05, odnosno veoma značajne pri vrednostima nižim od 0,001.

Univarijantna i multivarijantna logistička regresija su primenjene kako bi se identifikovali prediktori kolonizacije ESBL-E i CRE, kao i prediktori nastanka sepse potvrđene nalazom pozitivne hemokulture ikliničke sepse koja nije laboratorijski potvrđena. Univarijantnom regresijom su analizirane nezavisne varijable tj. osobine ispitanika, status na rođenju, podaci o toku i ishodima hospitalizacije. Multivarijantni model logističke regresije je uključio statistički značajne prediktore ( $p < 0.05$ ) iz univarijantne analize. Statistička značajnost je prihvaćena na nivou 0.05. Za obradu podataka je korišćen softver SPSS verzija 21.

---

## 4. REZULTATI

---

#### 4.1. PODACI O ISPITANICIMA UKLJUČENIM U STUDIJU KOJIMA JE NA OTPUSTU IZ INSTITUTA ZA NEONATOLOGIJU ODREĐIVANA KOLONIZACIJA ESBL-E I CRE: DEMOGRAFSKI PODACI, PODACI O TRUDNOĆI, STANJU NA POROĐAJU I TOKU HOSPITALIZACIJE

##### 4.1.1. Demografski podaci o ispitanicima

U ispitivanje kolonizacije ESBL-E i CRE na otpustu iz ustanove je uključeno 350 prevremeno rođene dece. Među ispitanicima je 183 bilo muškog pola, dok je 167 bilo ženskog pola. Većina pacijenata (210) je primljena na Institut za neonatologiju u prvom danu života, pri čemu je 176 (38,3%) primljeno u prvih 5 časova po rođenju, dok je 76 (21,7%) primljeno u periodu od 5 do 24 h posle rođenja. Najveći broj ispitanika je upućen iz porodilišta u Beogradu (~ 70%), dok je iz uže Srbije primljeno 22% ispitanika, a 8% je upućeno iz Vojvodine. Većina ispitanika je rođena u velikim ginekološko-akušerskim centrima u zemlji i to u Beogradu u Ginekološko-akušerskoj klinici „Narodni front“ (176, tj. 72,4%), Institutu za ginekologiju i akušerstvo Univerzitetskog kliničkog centra Srbije (31, tj. 12,8%), u Kliničkom centru Niš (20, tj. 8,2%), u Kliničkom centru u Novom Sadu (9, tj. 3,7%) i Kliničkom centru Kragujevac (7, tj. 2,9%). Demografske osobine ispitanika su prikazane u Tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Demografske osobine ispitanika

Demografske osobine	Broj	%
<u>Pol</u>		
Muško	183	52
Žensko	167	48
<u>Uzrast na prijemu</u>		
≤ 24h	210	60
24-72 h	81	23,1
≤ 7 dana	35	10,0
> 7 dana	24	6,9
<u>Mesto rođenja</u>		
Beograd	244	69,7
Vojvodina	28	8,0
Uža Srbija	77	22,0
Republika Srpska	1	0,3
<u>Veličina porodilišta</u>		
Veliko	243	69,4
Malo	106	30,3
Van porodilišta	1	0,3

##### 4.1.2. Podaci o majkama ispitanika, trudnoći i porođaju

Prosečna starost majki ispitanika je bila 31 godina. U većini trudnoća do začeća je došlo spontano (79,4%), trudnoće su bile jednoplodne (65,7%) i majke su prethodno rađale (66%). Dve trećine ispitanika (66,3%) je rođeno carskim rezom. U više od četvrtine trudnoća (26,9%) došlo je do prevremenog prsnuća plodovih ovojaka, dok su preeklampsija i eklampsija bile ređe (10,3%). Podaci

o starosti majki, načinu začeća, antibiotskoj terapiji ili drugim lekovima administriranim tokom trudnoće (kortikosteroidi, antihipertenzivni lekovi, hormoni štitaste žlezde i dr.), tipu porođaja (vaginalni/carski rez), blizanačkoj trudnoći i razlogu prevremenog rođenja (eklampsija, pre-eklampsija, prevremeno prsnuće plodovih ovojaka i dr.) su prikazani u Tabeli 4.2.

Tabela 4.2. Podaci o majci ispitanika, načinu začeća, tipu porođaja, terapiji i bolestima tokom trudnoće

Karakteristika	Broj	%
<u>Porođaj</u>		
Vaginalni	118	33,7
Carski rez	232	66,3
<u>Vantelesna oplodnja</u>		
Da	72	20,6
Ne	278	79,4
<u>Porođaj po redu</u>		
Prvorotka	119	34
Višerotka	231	66
<u>Blizanačka trudnoća</u>		
Da	120	34,3
Ne	230	65,7
<u>Godine majke (sv±sd)</u>	31±1,05	
<u>Prevremeno prsnuće plodovih ovojaka</u>		
Da	94	26,9
Ne	256	73,1
<u>Gestoze</u>		
Ne	314	89,7
Preeklampsija	29	8,3
Ekslampsija	7	2
<u>Metroragija</u>		
Da	56	16
Ne	294	84
<u>Terapija tokom trudnoće</u>		
Antibiotici	141	40,3
Antihipertenzivi	34	9,7
Hormoni štitnjače	16	4,6
Kortikosteroidi pred porođaj	208	59,4

#### 4.1.3. Podaci o ispitanicima na rođenju

Ispitanici uključeni u studiju su bili najčešće umereno nezreli, tj. rođeni posle 32. nedelje gestacije (50%), telesne mase > 1500g (51,4%). Nizak Apgar skor u prvom minutu, od 0 do 3 je imalo 10,6% pacijenata, najveći broj (63,1%) je imao umereno nizak, dok je normalan Apgar skor, od 8 do 10, imalo 26,3% ispitanika. Skoro petina ispitanika (19,1%) su bili mali za gestacionu starost. Raspodela ispitanika prema gestacijskoj starosti, telesnoj masi, i Apgar skor u prvom minutu je prikazana u Tabeli 4.3.

Tabela 4.3. Podaci o ispitanicima na rođenju

Karakteristika	Broj	%
<u>Gestaciona starost (nedelje) (sv±sd)</u>		31,4±3,0
Ekstremno nezreli ≤ 28GN	52	14,8
Veoma nezreli ≤ 32 GN	123	35,2
Umereno nezreli >32GN	175	50
<u>Apgar skor 1. minut (sv±sd)</u>		6,0 ±1 ,9
0-3	37	10,6
4-7	221	63,1
8-10	92	26,3
<u>Telesna masa na rođenju (g)</u>		
Ekstremno mala < 1000g	63	18
Vrlo mala < 1500 g	170	48,6
Umereno mala > 1500 g	180	51,4
Mali za gestacionu starost	67	19,1

#### 4.1.4. Podaci o hospitalizaciji, odeljenjima i invazivnim i drugim procedurama tokom hospitalizacije

Dužina hospitalizacije je kod skoro polovine ispitanika bila između jedan i dva meseca (Tabela 4.4). U odeljenju intenzivne nege (OIN) je boravilo više od polovine ispitanika (56,6%). Venski umbilikalni kateter je plasiran kod 59,4% prevremeno rođene dece. Invazivna mehanička ventilacija je sprovedena kod 39,7% ispitanika, dok je većina (56,6%) zahtevala neinvazivnu respiratornu potporu. Raspodela ispitanika po odeljenjima je bila relativno ravnomerna, sa izuzetkom prijemnog odeljenja na kom je boravilo najmanje dece.

Tabela 4.4. Podaci o hospitalizaciji ispitanika, odeljenjima i invazivnim i drugim procedurama tokom hospitalizacije

Podaci o hospitalizaciji	Broj	%
<u>Dani hospitalizacije (sv±sd)</u>		
≤14 dana	13	3,7
15-29 dana	69	19,7
30-59 dana	171	48,9
60-90 dana	50	14,3
≥90 dana	47	13,4
<u>Boravak na odeljenju intenzivne nege</u>		
Da	198	56,6
Ne	152	43,4
<u>Dani na odeljenju intenzivne nege (sv±sd)</u>		16,984 ± 16,6



Tabela 4.4. Podaci o hospitalizaciji ispitanika, odeljenjima i invazivnim i drugim procedurama tokom hospitalizacije (nastavak)

Podaci o hospitalizaciji	Broj	%
<u>Procedure tokom hospitalizacije</u>		
Endotrahealna intubacija	135	38,6
Invazivna mehanička ventilacija	139	39,7
<u>Trajanje MV (dani) (sv±sd)</u>	9,3±13,7	
<3 dana	43	30,9
3-7 dana	49	35,2
7-30 dana	37	26,6
>30 dana	10	7,2
<u>Neinvazivna respiratorna potpora</u>	198	56,6
<u>Totalna parenteralna ishrana</u>	86	24,6
<u>Venski umbilikalni kateter</u>	208	59,4
<u>Odeljenje otpusta</u>		
Prijemno	42	12,0
Odeljenje izolacije	93	26,6
Odeljenje specijalizovane nege I	99	28,3
Odeljenje specijalizovane nege II	116	33,1

#### 4.1.5. Podaci o infekcijama tokom hospitalizacije i primenjenoj antimikrobnoj terapiji

Tokom hospitalizacije, od 350 ispitanika, 60 (17,14%) je imalo klinički i/ili laboratorijski potvrđenu sistemsku infekciju (pozitivan nalaz hemokulture), a 80 (22,8%) ispitanika je imalo kliničke znake sepse bez laboratorijske potvrde. Od 60 pacijenata sa potvrđenom sepsom, šestoro je imalo dve epizode sepse izazvane različitim mikroorganizmima, tako da je broj epizoda sistemskih infekcija koje su laboratorijski potvrđene bio 66. Vrste izolovanih mikroorganizama su prikazani u Tabeli 4.5.

Tabela 4.5. Infekcije tokom hospitalizacije i vrste mikroorganizama izolovanih iz uzoraka krvi

Ispitanici sa infekcijom tokom hospitalizacije	Broj	%
<u>Klinički znaci sepse, sa sterilnom hemokulturom</u>	80	100,0
<u>Sepsa potvrđena pozitivnom hemokulturom</u>	60	100,0
ESBL-KP	16	26,6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	11	18,3
Koagulaza negativni stafilokok	15	25,0
<i>Burkholderia cepacia</i>	6	10,0
<i>Candida</i> spp.	3	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1,6
<i>Serratia marcescens</i>	1	1,6
<i>Ewingella americana</i>	1	1,6
<i>Streptococcus agalactiae</i> (I) ESBL-KP (II)	1	1,6
ESBL-KP (I) <i>Escherichia coli</i> (II)	1	1,6
Koagulaza negativni stafilokok (1) <i>Candida</i> spp. (II)	1	1,6

Tabela 4.5. Infekcije tokom hospitalizacije i vrste mikroorganizama izolovanih iz uzoraka krvi (nastavak)

Ispitanici sa infekcijom tokom hospitalizacije	Broj	%
<i>Acinetobacter baumannii</i> (I) <i>Candida</i> spp. (II)	1	1,6
<i>Acinetobacter baumannii</i> (I) koagulaza negativni stafilokok (II)	1	1,6
<i>Burkholderia cepacia</i> (I) <i>Escherichia coli</i> (II)	1	1,6

Svi ispitanici su po protokolu ustanove primali od prvog dana hospitalizacije inicijalnu antibiotsku terapiju (ampicilin i amikacin) u trajanju od 5-7 dana. Pored ove terapije, 196 ispitanika (56%) je primalo dodatnu antibiotsku terapiju. Najčešći antibiotik koji je administriran kod 173 ispitanika (49,4%) je bio meropenem koji je primenjivan sam ili u češće u kombinaciji sa drugim antibiotskim agensom. Oko jedna trećina ispitanika (109), je primala inicijalnu terapiju u trajanju > 7 dana. Dužina antibiotske terapije je varirala (5-80 dana), a najčešći režim davanja je bio dvonedeljni, primenjen kod 71 (36,2%) ispitanika. Većina ispitanika je primala jednu terapijsku kombinaciju meropenem i ampicillin-sulbactam (25,4%), zatim kombinacija meropenem i vankomicin (12,3%) odnosno meropenem i kolistin (10%), ali je bilo ispitanika kojima je tokom lečenja jedna antibiotska terapija menjana drugom, najčešće posle dobijanja pozitivnog nalaza hemokulture ili je zbog kliničkog pogoršavanja uprkos terapiji uveden treći antibiotik. Distribucija ispitanika prema vrsti primenjene antibiotske terapije i dužini primene je prikazana u Tabeli 4.6.

Tabela 4.6. Podaci o antibiotskoj terapiji administriranoj tokom hospitalizacije (vrste antibiotika i dužina terapije)

Antibiotska terapija	Broj	% od ukupnog broja	% od ispitanika koji su primali 2. liniju antibiotika
<u>Inicijalna antibiotska terapija</u>	350	100	
<u>Druga linija antibiotika</u>	196	56	100
<u>Inicijalna antibiotska terapija &gt;7dana</u>	109	31,1	55,6
<u>Meropenem (sam ili u kombinaciji)</u>	173	49,4	88,3
<u>Monoterapija</u>			
Meropenem	54	15,4	27,5
Cefalosporini III generacije	2	0,6	1
<u>Kombinovana terapija</u>			
Meropenem i ampicillin-sulbaktam	89	25,4	45,4
Meropenem i vankomicin	43	12,3	21,9
Ampicilin-sulbaktam i kolistin	35	10	17,8
Meropenem i kolistin	35	10	17,8
Meropenem i ceftazidim	19	6,3	9,7
<u>Trajanje terapije (dani)</u>			
≤ 20	111	31,7	56,7
>20	85	24,3	43,3

#### 4.1.6. Podaci o učestalosti bolesti i stanja povezanih sa prevremenim rođenjem u ispitivanoj populaciji

Od bolesti i stanja često prisutnih u populaciji prevremeno rođenih, kod najvećeg broja ispitanika je bio prisutan respiratorni distress sindrom (80%). Retinopatija prematuriteta je nađena kod 34,6% ispitanika, zatim blaža intraventrikularna hemoragija (26,8%) i perzistentni duktus arteriozus (18,6%). Nekrotizirajući enterokolitis, bronhopulmonalna displazija i teža intraventrikularna hemoragija su bile zastupljene znatno ređe među našim ispitanicima (Tabela 4.7).

Tabela 4.7. Učestalost bolesti i stanja povezanih sa prevremenim rođenjem u ispitivanoj populaciji

Bolest/stanje	Broj	%
Retinopatija prematuriteta	121	34,6
Bronhopulmonalna displazija	18	5,1
Perzistentni ductus arteriosus	65	18,6
Nekrotizirajući enterokolitis	16	4,6
Respiratorni distress sindrom	282	80
Blaža intraventrikularna hemoragija	94	26,8
Teška intraventrikularna hemoragija	14	4

## 4.2. KOLONIZACIJA GASTROINTESTINALNOG TRAKTA ISPITANIKA ESBL-E I CRE NA OTPUSTU

### 4.2.1. Učestalost kolonizacije gastrointestinalnog trakta novorođenčadi i vrste i distribucija kolonizujućih bakterija

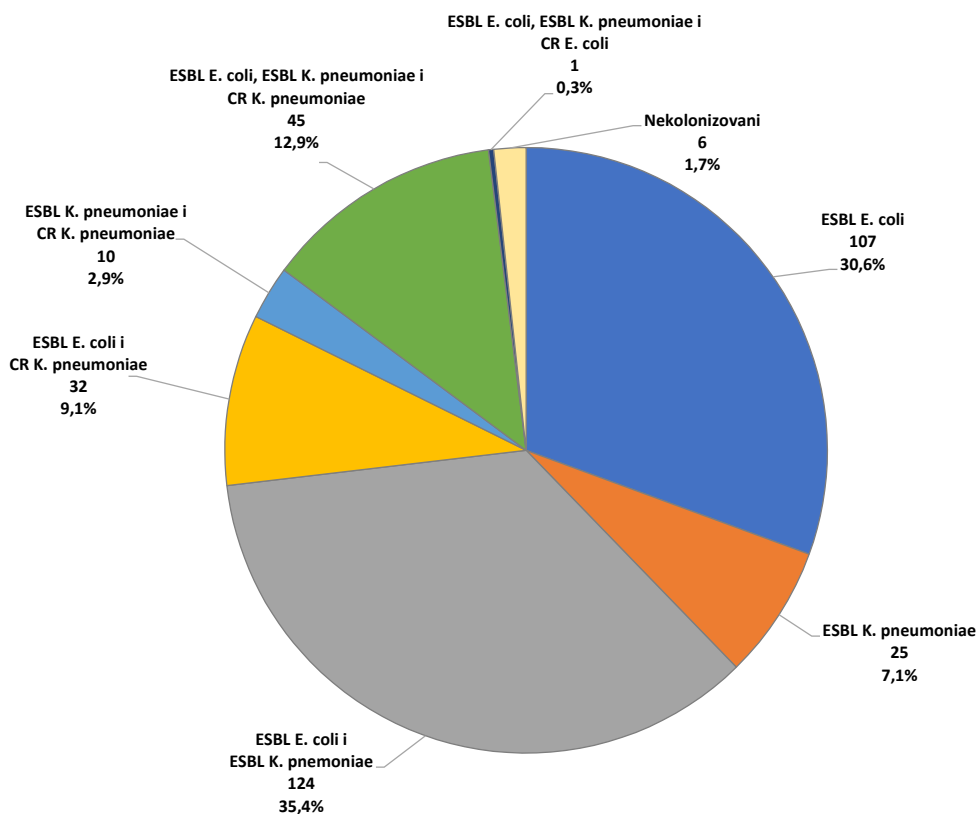
U našoj studiji, učestalost kolonizacije prevremeno rođene dece na otpustu iz Instituta za neonatologiju je bila veoma visoka (344/350, 98,2%). Kod svih kolonizovanih ispitanika su nađene ESBL-E, dok je četvrtina ispitanika (25,1%) bila kolonizovana i sa CRE. Među ESBL-E najčešća izolovana vrsta je bila *E. coli* (88,3%), a zatim *K. pneumoniae* (58,6%), dok druge vrste ESBL-E nisu detektovane u ispitivanoj populaciji. Kod ispitanika kolonizovanih sa CRE je nađena *K. pneumoniae*, izuzev kod jednog pacijenta kod koga je izolovana *E. coli*. Ukupna učestalost ispitanika kolonizovanih sa navedenim vrstama ESBL-E i CRE je prikazana u Tabeli 4.8.

Tabela 4.8. Učestalost ESBL-E i CRE vrsta u ispitivanoj populaciji (N=350)

Vrste ESBL-E i CRE	ESBL-E		CRE	
	N	%	N	%
<i>Escherichia coli</i>	309	88,3	1	0,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	205	58,6	87	24,8
Ukupno kolonizovanih	344	98,2	88	25,1

Među kolonizovanim (244), kod najvećeg broja ispitanika (166, tj. 68%) su istovremeno bile prisutne dve multirezistentne vrste bakterija. Kolonizacija jednom bakterijskom vrstom je nađena kod 132 (54,1%) ispitanika, dok su tri vrste bile prisutne kod 46 (18,9%) ispitanika. Najčešći obrasci kolonizacije su bili istovremeno prisustvo ESBL-EC i ESBL-KP (35,4%), samo ESBL-EC (30,6%) i kolonizacija sa tri vrste i to CP- KP, ESBL- EC i ESBL- KP (12,9%) (Grafikon 4.1). Nešto ređe su

detektovane CP-KP i ESBL- EC (9,1%) i ESBL- KP (7,1%). Retki obrasci kolonizacije su bili CP-KP i ESBL-KP nađena kod 2,9% ispitanika i CP-EC sa ESBL-EC i ESBL-KP nađene kod samo jednog ispitanika (0,3%).



Grafikon 4.1. Distribucija ESBL-E i CRE vrsta u ispitivanoj populaciji (N=350)

#### 4.2.2. Osobine ispitanika u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Escherichia coli*

Od 350 ispitanika, 309 (88,2%) je bilo kolonizovano sa ESBL-EC. Demografske karakteristike ispitanika i podaci o ispitanicima na rođenju u odnosu na kolonizaciju ESBL-E su prikazani u Tabeli 4.9. Kolonizovani ispitanici su češće bili rođeni pre 32. nedelje gestacije ( $p=0,005$ ) i imali su nižu telesnu masu ( $< 1500g$ ) i niži Apgar skor u prvom minutu ( $p=0,006$ ) u odnosu na nekolonizovane.

Tabela 4.9. Demografske osobine i osobine ispitanika na rođenju u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Escherichia coli* (ESBL-EC)

Karakteristike	ESBL-EC				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=309	%	N=41	%	
<u>Pol</u>					
Muško	163	52,8	20	48,8	0,63
Žensko	146	47,2	21	51,2	
<u>Gestaciona starost (nedelje)</u>					
≤ 32	163	52,7	12	29,3	<b>0,005</b>
> 32	146	47,2	29	70,7	

Tabela 4.9. Demografske osobine i osobine ispitanika na rođenju u odnosu na kolonizaciju ESBL-produgujućom *Escherichia coli* (ESBL-EC) (nastavak)

Karakteristike	ESBL-EC				p vrednost
	Kolonizovani N=309		Nekolonizovani N=41		
		%		%	
<u>APGAR skor u 1. minutu</u>	6,01±1,91		6,83±1,91		0,025
<u>Telesna masa na rođenju</u>					
≤ 1500 g	158	51,1	12	29,2	<b>0,008</b>
> 1500 g	151	48,9	29	70,7	
<u>Porodaj</u>					
Vaginalni	112	36,2	6	14,6	<b>0,006</b>
Carski rez	197	63,8	35	85,4	
<u>Mali za gestacionu starost</u>	60	17,1	7	17,1	0,719

Podaci o hospitalizaciji su prikazani u Tabeli 4.10. Iako su kolonizovani ispitanici duže boravili u bolnici i u OIN, i češće bili podvrgnuti invazivnim procedurama kao što su primena mehaničke ventilacije, insercija venskog umbilikalnog katetera i primena totalne parenteralne ishrane, razlika nije bila statistički značajna. Međutim, kolonizovani ispitanici su značajno češće primali meropenem i ampicilin-sulbaktam ( $p=0,038$ ) i boravili na prijemnom odeljenju ( $p=0,001$ ).

 Tabela 4.10. Podaci o toku hospitalizacije, infekcijama i antimikrobnoj terapiji u odnosu na kolonizaciju ESBL-produgujućom *Escherichia coli* (ESBL-EC)

Karakteristike	ESBL-EC				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=309	%	N=41	%	
<u>Dani hospitalizacije</u>	54,2± 34,9		51,53± 32,9		<b>0,0002</b>
<u>Boravak na odeljenju intenzivne nege (OIN)</u>	176	56,9	22	53,7	0,688
<u>Dani na OIN</u>	16,56 ± 16,6		11,68 ± 14,8		0,0278
<u>Mehanička ventilacija</u>	126	40,8	13	31,7	0,265
<u>Venski umbilikalni kateter (VUK)</u>	186	60,2	22	53,6	0,423
<u>Totalna parenteralna ishrana (TPI)</u>	79	25,6	7	17,1	0,234
<u>Odeljenje</u>					
Prijemno odeljenje	30	9,7	11	2,7	<b>0,001</b>
Odeljenje izolacije	81	26,2	13	31,7	0,455
Prvo odeljenje specijalizovane nege	99	32	0	0	/
Drugo odeljenje specijalizovane nege	99	32	17	41,5	0,228
<u>Klinički znaci sepse, nisu potvrđeni pozitivnom hemokulturom</u>	71	22,9	9	21,9	0,883
<u>Sepsa, potvrđena pozitivnom hemokulturom</u>	53	17,2	7	29,3	0,989
<u>Inicijalna terapija &gt;7dana</u>	95	30,7	14	34,1	0,658
<u>Karbapenemi</u>	153	49,5	22	53,7	0,618
<u>Ampicilin-sulbaktam i kolistin</u>	33	10,7	2	4,8	0,244
<u>Meropenem i ampicillin-sulbaktam</u>	84	27,2	5	12,2	<b>0,038</b>

Tabela 4.10. Podaci o toku hospitalizacije, infekcijama i antimikrobnoj terapiji u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Escherichia coli* (ESBL-EC) (nastavak)

Karakteristike	ESBL-EC				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=309	%	N=41	%	
<u>Meropenem i vankomicin</u>	40	12,9	3	7,3	0,302
<u>Meropenem i kolistin</u>	33	10,7	2	4,8	0,244
<u>Meropenem i ceftazidim</u>	14	4,5	5	12,2	0,062

Učestalost ROP je bila značajno viša u grupi kolonizovanih u odnosu na nekolonizovane (Tabela 4.11)

Tabela 4.11. Podaci o bolestima specifičnim za prevremeno rođene u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Escherichia coli* (ESBL-EC)

Bolest/stanje	ESBL-EC				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=309	%	N=41	%	
Retinopatija prematuriteta	115	37,2	6	14,6	<b>0,004</b>
Bronhopulmonalna displazija	16	5,2	2	4,9	0,86
Perzistentni duktus arteriozus	60	1,4	5	12,2	0,263
Nekrotizirajući enterokolitis	14	4,5	2	4,8	0,92
Respiratorni distress sindrom	252	81,5	30	73,2	0,202
Blaža intraventrikularna hemoragija	83	26,8	11	26,8	0,996
Teška intraventrikularna hemoragija	12	3,9	2	4,8	0,76

#### 4.2.3. Osobine ispitanika u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae*

Od 350 ispitanika ESBL-KP je izolovana na otpustu kod 205 ispitanika. Karakteristike ispitanika u odnosu na kolonizaciju ESBL-KP su prikazani u Tabeli 4.12. Kolonizovani ispitanici su češće bili ženskog pola, dok po ostalim osobinama, nije bilo značajne razlike među kolonizovanim i nekolonizovanim ispitanicima.

Tabela 4.12. Demografske osobine i osobine ispitanika na rođenju u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-KP)

Karakteristike	ESBL-KP				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=205	%	N=145	%	
<u>Pol</u>					
Muško	97	47,3	86	59,3	<b>0,026</b>
Žensko	108	52,7	59	40,7	
<u>Gestaciona starost (nedelje)</u>					
≤ 32	97	47,3	78	53,8	0,232
> 32	108	52,6	67	46,2	

Tabela 4.12. Demografske osobine i osobine ispitanika na rođenju u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-KP)(nastavak)

Karakteristike	ESBL-KP				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=205	%	N=145	%	
<u>APGAR skor u 1. minutu</u>	6,26±1,89		6,23±1,92		0,711
<u>Telesna masa na rođenju</u>					
≤ 1500 g	95	46,3	75	51,2	0,321
> 1500 g	110	53,6	70	48,3	
<u>Porodaj</u>					
Vaginalni	67	32,7	51	35,9	0,536
Carskim rezom	138	67,3	94	64,1	
<u>Mali za gestacionu starost</u>	35	17,1	32	22,1	0,241

Ispitanici kolonizovani ESBL-KP su u odnosu na nekolonizovane češće boravili na prijemnom odeljenju ( $p=0,002$ ), i značajno ređe su imali plasiran VUK ( $p=0,016$ ). Klinički znaci sepse su bili u prisutni kod obe grupe ispitanika u približnim učestalostima. Iako je laboratorijski potvrđena sepsa bila češća u grupi kolonizovanih, ova razlika nije bila statistički značajna ( $p=0,09$ ). Kolonizovani ispitanici su primali meropenem i ampicilin-sulbaktam češće u odnosu na nekolonizovane ( $p=0,04$ ).

Tabela 4.13. Podaci o toku hospitalizacije, infekcijama i antimikrobnoj terapiji u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-KP)

Karakteristike	ESBL-KP				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=205	%	N=145	%	
<u>Dani hospitalizacije</u>	53,9 ± 35,1		55,1 ± 34,2		<b>0,001</b>
<u>Boravak na odeljenju intenzivne nege (OIN)</u>	108	52,7	90	62,1	0,081
<u>Dani na OIN</u>	18,11 ± 16,67		13,71 ± 16,46		0,096
<u>Mehanička ventilacija</u>	74	36,1	65	44,8	0,100
<u>Venski umbilikalni kateter (VUK)</u>	111	54,1	97	66,9	<b>0,016</b>
<u>Totalna parenteralna ishrana (TPI)</u>	52	25,4	34	23,4	0,681
<u>Odeljenje</u>					
Prijemno odeljenje	33	16,1	8	5,5	<b>0,002</b>
Odeljenje izolacije	54	26,3	40	27,8	0,795
Prvo odeljenje specijalizovane nege	50	24,4	49	33,8	0,054
Drugo odeljenje specijalizovane nege	68	33,2	48	33,1	0,989
<u>Klinički znaci sepse, nisu potvrđeni pozitivnom hemokulturom</u>	41	20	39	26,9	0,13
<u>Sepsa, potvrđena pozitivnom hemokulturom</u>	41	20	19	13,1	0,091
<u>Sepsa izazvana ESBL-KP</u>	13	6,3	5	3,4	0,227
<u>Inicijalna terapija &gt;7dana</u>	69	33,7	40	27,6	0,226
<u>Karbapenemi</u>	96	46,8	77	53,1	0,247

Tabela 4.13. Podaci o toku hospitalizacije, infekcijama i antimikrobnoj terapiji u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-KP) (nastavak)

Karakteristike	ESBL-KP				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=205	%	N=145	%	
<u>Ampicilin sulbaktam i kolistin</u>	20	9,8	15	10,3	0,856
<u>Meropenem i ampicilin sulbaktam</u>	44	21,5	45	31	<b>0,042</b>
<u>Meropenem i vankomicin</u>	28	13,6	15	10,3	0,352
<u>Meropenem i kolistin</u>	21	10,2	14	9,6	0,856
<u>Meropenem i ceftazidim</u>	7	3,4	12	8,2	0,058

Bolesti i stanja udružena sa prematuritetom u odnosu na kolonizaciju ESBL-KP su prikazani u Tabeli 4.14.

 Tabela 4.14. Podaci o bolestima/stanjima prematuriteta u odnosu na kolonizaciju ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-KP)

Bolest/stanje	ESBL-KP				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=205	%	N=145	%	
Retinopatija prematuriteta	64	31,2	57	39,3	0,116
Bronhopulmonalna displazija	12	5,8	6	4,1	0,474
Perzistentni ductus arteriosus	35	17,1	30	20,7	0,391
Nekrotizirajući enterokolitis	12	5,8	4	2,8	0,172
Respiratorni distress sindrom	164	80	118	81,4	0,748
Blaža intraventrikularna hemoragija	52	25,4	42	28,9	0,454
Teška intraventrikularna hemoragija	9	3,9	5	4,8	0,657

#### 4.2.4. Osobine ispitanika u odnosu na kolonizaciju CRE

Kolonizacije CRE je bila prisutna kod 88 (25,1%) ispitanika. Kolonizovani ispitanici su značajno češće imali manju telesnu masu na rođenju, niži Apgar skor, bili manje gestacijske zrelosti i rođeni iz blizanačke trudnoće (Tabela 4.15).

Tabela 4.15. Demografske osobine i osobine ispitanika na rođenju u odnosu na kolonizaciju CRE

Karakteristike	CRE				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=88	%	N=262	%	
<u>Pol</u>					
Muško	46	52,2	137	52,2	1,000
Žensko	42	47,8	125	47,8	
<u>Gestaciona starost (nedelje)</u>					
<28	16	18,2	33	12,6	0,191
≤ 32	53	60,2	122	46,5	<b>0,026</b>



Tabela 4.15. Demografske osobine i osobine ispitanika na rođenju u odnosu na kolonizaciju CRE (nastavak)

Karakteristike	CRE				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=88	%	N=262	%	
> 32	35	39,8	140	53,5	
<u>APGAR skor u 1. minutu</u>	5,63±2,01		6,42± 1,8		<b>&lt;0,01</b>
<u>Telesna masa na rođenju</u>					
<1000 g	23	26,1	32	12,2	<b>0,001</b>
≤ 1500 g	52	59,1	118	45,4	<b>0,026</b>
> 1500 g	36	40,9	144	54,6	
<u>Porođaj</u>					
Vaginalni	34	38,6	84	32,1	0,259
Carskim rezom	54	61,4	178	67,9	
<u>Blizanačka trudnoća</u>	20	22,7	100	38,1	<b>0,008</b>
<u>Mali za gestacionu starost</u>	20	22,7	47	17,9	0,348

Ispitanici kolonizovani sa CRE su bili značajno duže hospitalizovani ( $p<0,001$ ), duže boravili na OIN ( $p<0,001$ ) i imali značajno češće plasiran VUK ( $p<0,001$ ). Nijedan od kolonizovanih ispitanika nije boravio na prijemnom odeljenju, dok je boravak na odeljenju izolacije i drugom odeljenju specijalizovane nege bio značajno češći među kolonizovanim u odnosu na nekolonizovane koji su češće boravili na prvom odeljenju specijalizovane nege (Tabela 4.16). Kolonizovani ispitanici su značajno češće primali karbapeneme u kombinaciji sa drugim antibiotskim agensima (tabela 4.16), vankomicin ( $p=0,001$ ), ampicilin sulbaktam i kolistin ( $p=0,01$ ).

Tabela 4.16. Podaci o toku hospitalizacije, infekcijama i antimikrobnoj terapiji u odnosu na kolonizaciju CRE

Karakteristike	CRE				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=88	%	N=262	%	
<u>Dani hospitalizacije</u>	66,28	±36,23	50,14	±33,63	<b>&lt;0,0001</b>
<u>Boravak na odeljenju intenzivne nege (OIN)</u>	66	75	132	50,3	<b>&lt; 0,0001</b>
<u>Dani na OIN</u>	17,32	±17,11	15,86	±17,12	0,403
<u>Mehanička ventilacija</u>	40	45,5	99	37,8	0,203
<u>Venski umbilikalni kateter</u>	68	77,2	140	53,3	<b>&lt;0,0001</b>
<u>Totalna parenteralna ishrana</u>	27	30,6	59	22,5	0,152
<u>Odeljenje</u>					
Prijemno odeljenje	0	0	41	15,6	/
Odeljenje izolacije	37	42	57	21,7	<b>0,000</b>

Tabela 4.16. Podaci o toku hospitalizacije, infekcijama i antimikrobnoj terapiji u odnosu na kolonizaciju CRE (nastavak)

Karakteristike	CRE				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=88	%	N=262	%	
Prvo odeljenje specijalizovane nege	34	38,6	65	24,8	<b>0,036</b>
Drugo odeljenje specijalizovane nege	17	19,3	99	37,8	<b>0,001</b>
<u>Klinički znaci sepse, nisu potvrđeni pozitivnom hemokulturom</u>	25	28,4	53	20,2	0,110
<u>Sepsa, potvrđena pozitivnom hemokulturom</u>	27	30,6	26	29,3	<b>0,000027</b>
<u>Inicijalna terapija &gt; 7dana</u>	25	28,4	55	20,1	0,59
<u>Karbapenemi</u>	63	71,6	110	42	<b>&lt; 0,0001</b>
<u>Vankomicin</u>	26	30	32	12,2	<b>0,001</b>
<u>Ampicilin sulbaktam i kolistin</u>	16	18,2	19	7,2	<b>0,003</b>
<u>Meropenem i ampicilin-sulbaktam</u>	32	36,4	57	21,7	<b>0,01</b>
<u>Meropenem i vankomicin</u>	17	19,3	26	9,9	<b>0,025</b>
<u>Meropenem i kolistin</u>	16	18,1	19	7,2	<b>0,006</b>
<u>Meropenem i ceftazidim</u>	12	13,6	7	2,7	<b>&lt; 0,0001</b>

Bolesti i patološka stanja specifični za prevremeno rođene i njihova povezanost sa kolonizacijom CRE su prikazani u Tabeli 4.17. U grupi kolonizovanih sa CRE, učestalost nekrotizirajućeg enterokolitisa je bila značajno veća u odnosu na nekolonizovanu grupu ispitanika ( $p=0,001$ ). Blaža intraventrikularna hemoragija je bila takođe učestalija među kolonizovanim ispitanicima ( $p=0,002$ )

Tabela 4.17. Podaci o bolestima/stanjima prematuriteta u odnosu na kolonizaciju CRE

Bolest/stanje	CRE				p vrednost
	Kolonizovani		Nekolonizovani		
	N=88	%	N=262	%	
Retinopatija prematuriteta	32	36,4	89	34	0,699
Bronhopulmonalna displazija	5	5,6	13	5	0,78
Perzistentni ductus arteriosus	19	21,6	46	17,5	0,432
Nekrotizirajući enterokolitis	10	11,3	6	2,3	<b>0,001</b>
Respiratorni distres sindrom	77	87,5	205	78,2	0,06
Blaža intraventrikularna hemoragija	35	39,8	59	22,5	<b>0,002</b>
Teška intraventrikularna hemoragija	3	3,4	11	4,1	1,0

#### 4.2.5. Osobine ispitanika koji nisu bili kolonizovani sa ESBL-E i CRE

Kod šest ispitanika na otpustu nije detektovana kolonizacija sa ESBL-E ili CRE. Među nekolonizovanim ispitanicima svi su bili veće telesne mase i veće gestacijske zrelosti, sa višim Apgar skorom na rođenju. Karakteristike ovih ispitanika su prikazane na Tabeli 4.18.

Tabela 4.18. Osobine ispitanika koji nisu bili kolonizovani sa ESBL-E ili CRE

Karakteristika nekolonizovanih ispitanika	N=6	%
<u>Pol</u>		
Muški pol	4	66,6
Ženski pol	2	33,3
<u>Gestaciona starost (nedelje gestacije) &gt; 32</u>	6	100
<u>Telesna masa na rođenju &gt;1500 g</u>	6	100
<u>APGAR skor u 1. minutu (sv±sd)</u>	7,3 ± 1,8	
<u>Porodaj</u>		
Vaginalni porodaj	1	16,6
Carski rez	5	83,3
<u>Dani hospitalizacije (sv±sd)</u>	24,5±13,9	
<u>Boravak na odeljenju intenzivne nege (OIN)</u>	6	100
<u>Dani u OIN</u>	4,5	1,9
<u>Mehanička ventilacija</u>	3	50
<u>Venski umbilikalni kateter (VUK)</u>	6	100
<u>Totalna parenteralna ishrana (TPI)</u>	2	33,3
<u>Odeljenje</u>		
Odeljenje izolacije	1	16,6
Drugo odeljenje specijalizovane nege	5	83,3
Inicijalna terapija >7dana	3	50
Terapija karbapenemima	1	16,6
Respiratorni distres sindrom	4	66,6
Blaža intraventrikularna hemoragija	1	16,6

#### 4.2.6. Kolonizacija ispitanika koji su imali infekcije tokom hospitalizacije

Kolonizacija ispitanika kod kojih je došlo do razvoja laboratorijski potvrđene sepse tokom hospitalizacije je prikazana na Tabeli 4.19. Svi ispitanici su bili kolonizovani ili sa ESBL-E ili sa CRE, a većina je imala više vrsta rezistentnih bakterija u kolonizaciji.

Tabela 4.19. Status kolonizacije ESBL-E i CRE kod ispitanika koji su tokom hospitalizacije razvili sistemsku infekciju

	Ukupno		<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		CRE	
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	Broj	%
Klinička sepsa bez laboratorijske potvrde	80	100	71	88,8	41	51,3	25	31,3
Laboratorijski potvrđena sepsa	60	100,0	53	88,3	41	88,3	27	45,0
ESBL-KP	16	26,7	15	93,8	11	93,8	4	25,0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	11	18,3	10	90,9	6	90,9	5	45,5
Koagulaza negativni stafilocok	15	25,0	14	93,4	11	93,4	7	46,7
<i>Burkholderia cepacia</i>	6	10,0	6	100,0	2	100,0	4	66,7
<i>Candida</i> spp.	3	5,0	2	66,7	3	66,7	2	66,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1,7	1	100,0	1	100,0	0	0,0
<i>Serratia marcescens</i>	1	1,7	1	100,0	0	100,0	0	0,0
<i>Ewingella americana</i>	1	1,7	0	0,0	1	0,0	1	100,0
<i>Streptococcus agalactiae</i> (I) ESBL-KP (II)	1	1,7	1	100,0	1	100,0	1	100,0
ESBL-KP (I) <i>E. coli</i> (II)	1	1,7	1	100,0	1	100,0	1	100,0
Koagulaza negativni stafilocok (I) <i>Candida</i> spp. (II)	1	1,7	0	0,0	1	100,0	1	100,0
<i>Acinetobacter baumannii</i> (I) <i>Candida</i> spp. (II)	1	1,7	1	100,0	0	0,0	0	0,0
<i>Acinetobacter baumannii</i> (I) Koagulaza negativni stafilocok (II)	1	1,7	1	100,0	1	100,0	0	0,0
<i>Burkholderia cepacia</i> (I) <i>E. coli</i> (II)	1	1,7	0	0,0	1	100,0	1	100,0
ESBL-KP (ukupno)	18	100,0	17	94,4	13	72,2	6	33,3

Procenti prikazani u tabeli se odnose na ukupan broj dijagnostikovanih infekcija; N=80, za kliničke sepsa bez potvrde nalazom hemokulture; N=60 za sepsa potvrđene nalazom hemokulture; Odnos učestalosti kolonizacije odgovarajućim vrstama kod ispitanika sa kliničkim znacima infekcije (bez potvrde nalazom hemokulture) u odnosu na ispitanike koji nisu razvili infekciju je prikazana u Tabeli 4.20.

Tabela 4.20. Kolonizacija vrstama ESBL-E i CRE u odnosu na infekciju tokom hospitalizacije koja nije potvrđena nalazom hemokulture

Kolonizacija	Klinička sepsa		Odsustvo sistemske infekcije		p
	Da (N=80)		Ne (N=210)		
	Broj	%	Broj	%	
ESBL-EC	71	88,8	185	88,1	0,8769
ESBL-KP	41	51,3	123	58,6	0,2609
CRE	25	31,3	36	17,1	0,008

Kolonizacije CRE je bila značajno učestalija ( $p=0,008$ ) kod ispitanika koji su imali kliničke simptome sepse bez potvrde nalazom hemokulture, u odnosu na ispitanike koji nisu razvili infekciju tokom hospitalizacije.

Odnos učestalosti ESBL-E i CRE u grupi ispitanika koji su razvili sepsu potvrđenu nalazom hemokulture u odnosu na ispitanike koji uopšte nisu razvili infekciju je prikazana u Tabeli 4.21.

Tabela 4.21. Kolonizacija vrstama ESBL-E i CRE u odnosu na infekciju tokom hospitalizacije koja je potvrđena nalazom hemokulture

Kolonizacija	Laboratorijski potvrđena (ukupno)		Odsustvo sistemske infekcije		p
	Da (N=60)		Ne (N=210)		
	Broj	%	Broj	%	
ESBL-EC	53	88,3	185	88,1	0,9598
ESBL-KP	41	68,3	123	58,6	0,172
CRE	27	45,0	36	17,1	0,00001

Kod ispitanika sa mikrobiološki potvrđenom sepsom, kolonizacije CRE je bila značajno češća u odnosu na ispitanike koji nisu imali infekciju tokom hospitalizacije ( $p<0,0001$ ).

Odnosu učestalosti kolonizacije ESBL-E i CRE u grupi ispitanika sa dijagnostikovanom sepsom izazvanom ESBL *K. pneumoniae* je prikazan u Tabeli 4.22.

Tabela 4.22. Kolonizacija vrstama ESBL-E i CRE u kod ispitanika sa sepsom izazvanom ESBL-*Klebsiella pneumoniae* tokom hospitalizacije u odnosu na ispitanike koji nisu imali sepsu

Kolonizacija	Laboratorijski potvrđena sepsa ESBL-KP		Odsustvo sistemske infekcije		p
	Da (N=18)		Ne (N=210)		
	Broj	%	Broj	%	
ESBL-EC	17	94,4	185	88,1	0,416
ESBL-KP	13	72,2	123	58,6	0,2572
CRE	6	33,3	36	17,1	0,089

Među ispitanicima sa sepsom izazvanom ESBL-KP nije bilo značajne razlike u učestalosti kolonizacije ESBL-E i CRE u odnosu na ispitanike koji nisu imali infekciju.

### 4.3. DINAMIKA USPOSTAVLJANJA KOLONIZACIJE ESBL-E TOKOM HOSPITALIZACIJE I DUŽINA TRAJANJA KOLONIZACIJE POSLE OTPUSTA IZ INSTITUTA ZA NEONATOLOGIJU

Uspostavljanja kolonizacije ESBL-E i CRE i njeno održavanje tokom hospitalizacije je praćeno u kohorti koja je uključila 88 prevremeno rođene dece. Na prijemu u Institut za neonatologiju, i u definisanim vremenskim intervalima tokom hospitalizacije (u prvoj nedelji, četvrtog i sedmog dana, krajem četvrte, krajem osme i krajem dvanaeste nedelje) su uzorkovani rektalni brisevi od pacijenata koji su prospektivno praćeni.

#### 4.3.1. Demografske osobine ispitanika kod kojih je kolonizacije ESBL-E i CRE prospektivno praćena, podaci o trudnoći i porođaju i podaci o ispitanicima na rođenju

Ispitanici kod kojih je praćena kolonizacija od prijema u ustanovu su bili nešto češće muškog pola (56,8%), primljeni u ustanovu najčešće prvog dana posle rođenja i uglavnom su rođeni u velikim ginekološko-akušerskim centrima u zemlji. Demografske osobine ispitanika su prikazane u Tabeli 4.23.

Tabela 4.23. Demografske osobine ispitanika kod kojih je kolonizacije ESBL-E i CRE prospektivno praćena

Demografske osobine	Broj	%
<u>Pol</u>		
Muško	50	56,8
Žensko	38	43,2
<u>Uzrast na prijemu</u>		
≤ 24h	57	64,7
24-72 h	15	17
≤ 7 dana	9	10,3
> 7 dana	7	8
<u>Mesto rođenja</u>		
Beograd	56	63,6
Vojvodina	15	17
Uža Srbija	16	18,2
Republika Srpska	1	1,2
<u>Veličina porodilišta</u>		
Veliko	65	73,9
Malo	23	26,1
Van porodilišta	0	0

Podaci o majkama ispitanika, trudnoći i porođaju su prikazani u Tabeli 4.24. Većina ispitanika je rođena carskim rezom (62,5%). Porođaj je kod 34,1% ispitanika nastao usled prevremenog prsnuća plodovih ovojaka.

Tabela 4.24. Podaci o majkama, načinu začeća, tipu porođaja, terapiji i bolestima tokom trudnoće kod ispitanika kod kojih je kolonizacije ESBL-E i CRE prospektivno praćena

Karakteristika	Broj	%
<u>Porodaj</u>		
Vaginalni	33	37,5
Carski rez	55	62,5
<u>Vantelesna oplodnja</u>		
Da	27	30,7
Ne	61	69,3
<u>Porodaj po redu</u>		
Prvi	41	46,6
Drugi ili naredni	47	53,4
<u>Blizanaćka trudnoća</u>		
Da	38	43,2
Ne	50	56,8
<u>Godine majke (sv±sd)</u>	31±6,78	
<u>Prevrmeno prsnuće plodovih ovojaka</u>		
Da	30	34,1
Ne	58	65,9
<u>Preeklampsija</u>		
Ne	76	86,4
Da	12	13,6
<u>Metroragija</u>		
Da	20	22,7
Ne	68	77,3
<u>Terapija tokom trudnoće</u>		
Antibiotici	24	27,3
Antihipertenzivi	27	30,7
Hormoni štitnjače	4	4,5
Kortikosteroidi pred porodaj	48	54,5

Osobina ispitanika na rođenju su prikazane u Tabeli 4.25. Većina njih su bili umereno nezreli (51,1%), imali umerenu asfiksiju na rođenju i bili male telesne mase (64,8%).

Tabela 4.25. Osobine ispitanika na rođenju kod kojih je kolonizacije ESBL-E i CRE prospektivno praćena

Karakteristika	Broj	%
<u>Gestaciona starost (nedelje), sv±sd</u>	31.97±3.05	
<u>Zrelost novorođenčeta (nedelje gestacije)</u>		
Ekstremno nezreli ≤ 28 GN	11	12,5
Vrlo nezreli ≤ 32 GN	43	48,9
Umereno nezreli > 32GN	45	51,1
<u>Apgar skor u 1. minutu, sv±sd</u>	6.32 ± 1.951	

Tabela 4.25. Osobine ispitanika na rođenju kod kojih je kolonizacije ESBL-E i CRE prospektivno praćena (nastavak)

Karakteristika	Broj	%
<u>Apgar skor u 1. minutu</u>		
0-3	10	11,4
4-7	51	58
8-10	27	30,6
<u>Telesna masa na rođenju (g), sv±sd</u>	1611.28±451.833	
<u>Telesna masa na rođenju (g)</u>		
Ekstremno mala < 1000	12	13,6
Vrlo mala < 1500	31	35,2
Mala > 1500	57	64,8
<u>Mali za gestacionu starost</u>	15	17

Hospitalizacija je kod najvećeg broja ispitanika (39,8%) trajala jedan do dva meseca. Na odeljenju intenzivne nege je lećeno 45,5% ispitanika, dok je kod 37,5% njih primenjena mehanićka ventilacija i venski umbilikalni kateter (44,3%). Podaci o toku hospitalizacije su prikazani u Tabeli 4.26.

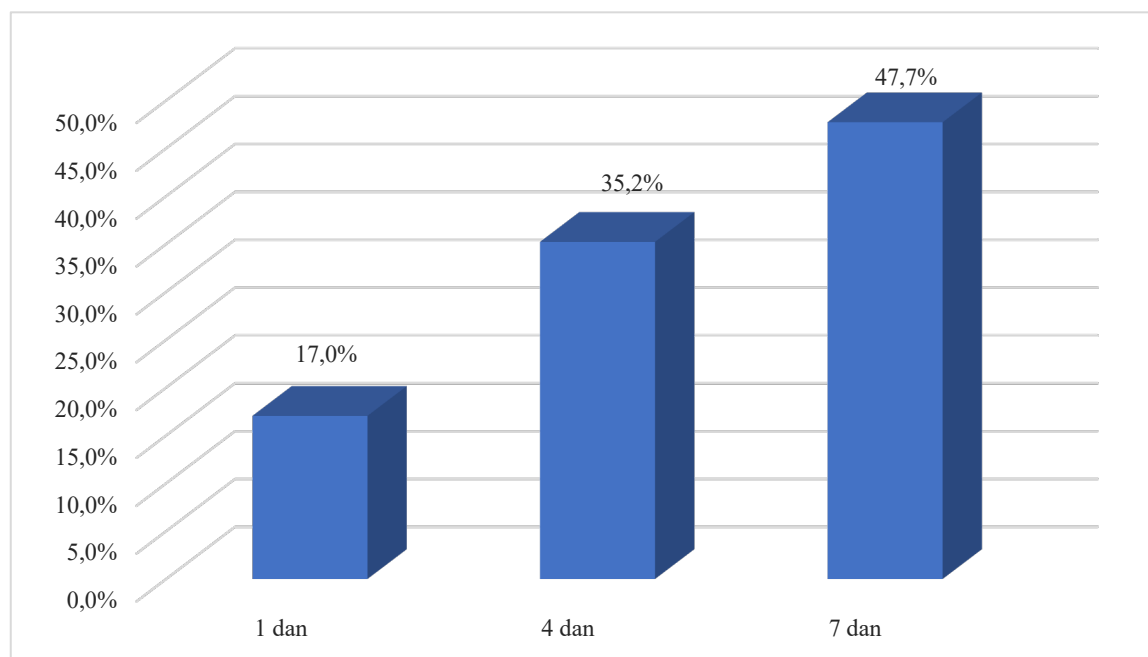
Tabela 4.26. Podaci o toku hospitalizacije kod kojih je kolonizacije ESBL-E i CRE prospektivno praćena

Podaci o hospitalizaciji	Broj	%
<u>Dani hospitalizacije (sv±sd)</u>		
≤14	0	0
15-30	28	31.8
31-60	35	39.8
≥ 60	18	20.5
≥ 90	7	7.9
<u>Hospitalizacija u odeljenju intenzivne nege</u>		
Da	40	45.5
Ne	48	54.5
<u>Procedure tokom hospitalizacije</u>		
Invazivna mehanićka ventilacija	33	37.5
Neinvazivna respiratorna potpora	6	6.8
Totalna parenteralna ishrana		
Venski umbilikalni kateter	39	44.3
<u>Odeljenje otpusta</u>		
Prijemno	16	18.2
Odeljenje izolacije	24	27.3
Odeljenje specijalizovane nege I	24	27.3
Odeljenje specijalizovane nege II	23	26.1



### 4.3.2. Upostavljanje kolonizacije ESBL-E i CRE kod ispitanika tokom hospitalizacije

Kolonizacija sa ESBL-E na prijemu je nađena kod 15 ispitanika (17%) (Grafikon 4.2). Tokom prve nedelje hospitalizacije u Institutu za neonatologiju (tj. četvrtog i sedmog dana), do kolonizacije ESBL-E je došlo kod još 27 ispitanika (30,7%), tako da je posle 7 dana boravka u ustanovi ukupno oko polovine ispitanika (47,7%) bilo kolonizovano. Trend kolonizacije ESBL-E u prvoj nedelji hospitalizacije je prikazan na Grafikonu 4.2.

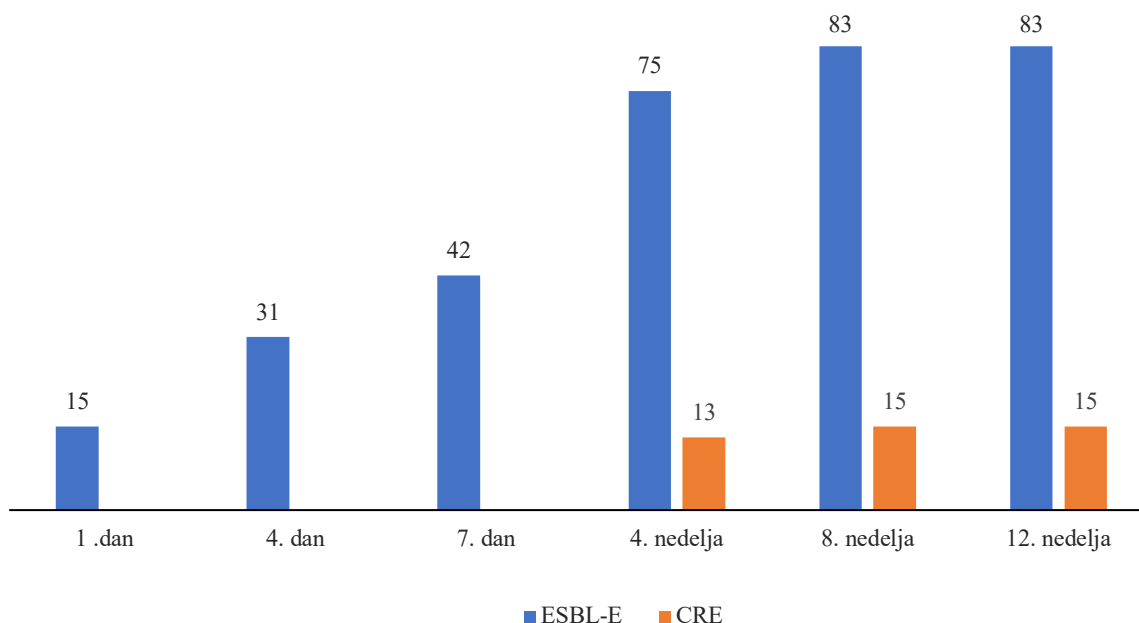


Grafikon 4.2. Učestalost kolonizovanih ESBL-E tokom prve nedelje hospitalizacije predstavljena po danima uzorkovanja

Post-hoc analizom je pokazano da je učestalost kolonizovanih sa ESBL-E bila značajno veća četvrtog u odnosu na prvi dan ( $p < 0,001$ ), i sedmog dana u odnosu na četvrti dan ( $p = 0,001$ ). Cochran-ovim Q testom je utvrđeno da je tokom sedam dana hospitalizacije došlo do značajnog povećanja učestalosti kolonizacije ESBL-E kod prospektivno praćenih ispitanika ( $p < 0,001$ ).

Krajem prvog meseca kolonizacija je uspostavljena kod još 33 ispitanika (37,5%) koji prethodno nisu bili kolonizovani, a krajem drugog meseca, kod još 8 ispitanika (9,1%). Ukupna učestalost kolonizacije sa ESBL-E u kohorti od 88 ispitanika (u poslednjoj vremenskoj tački tokom hospitalizacije) iznosila je 94,3%.

Kolonizacija CRE nije zapažena ni kod jednog ispitanika na prijemu ili tokom prve nedelje hospitalizacije. Međutim, krajem prvog meseca hospitalizacije do kolonizacije CRE je došlo kod 13 (14,8%) ispitanika, a krajem drugog meseca 15 (17,1%) ispitanika je bilo kolonizovano sa CRE. Ukupan broj ispitanika kod kojih je detektovana kolonizacije ESBL-E i/ili CRE do odgovarajuće vremenske tačke (uključujući i tu vremensku tačku) je prikazan na Grafikonu 4.3.

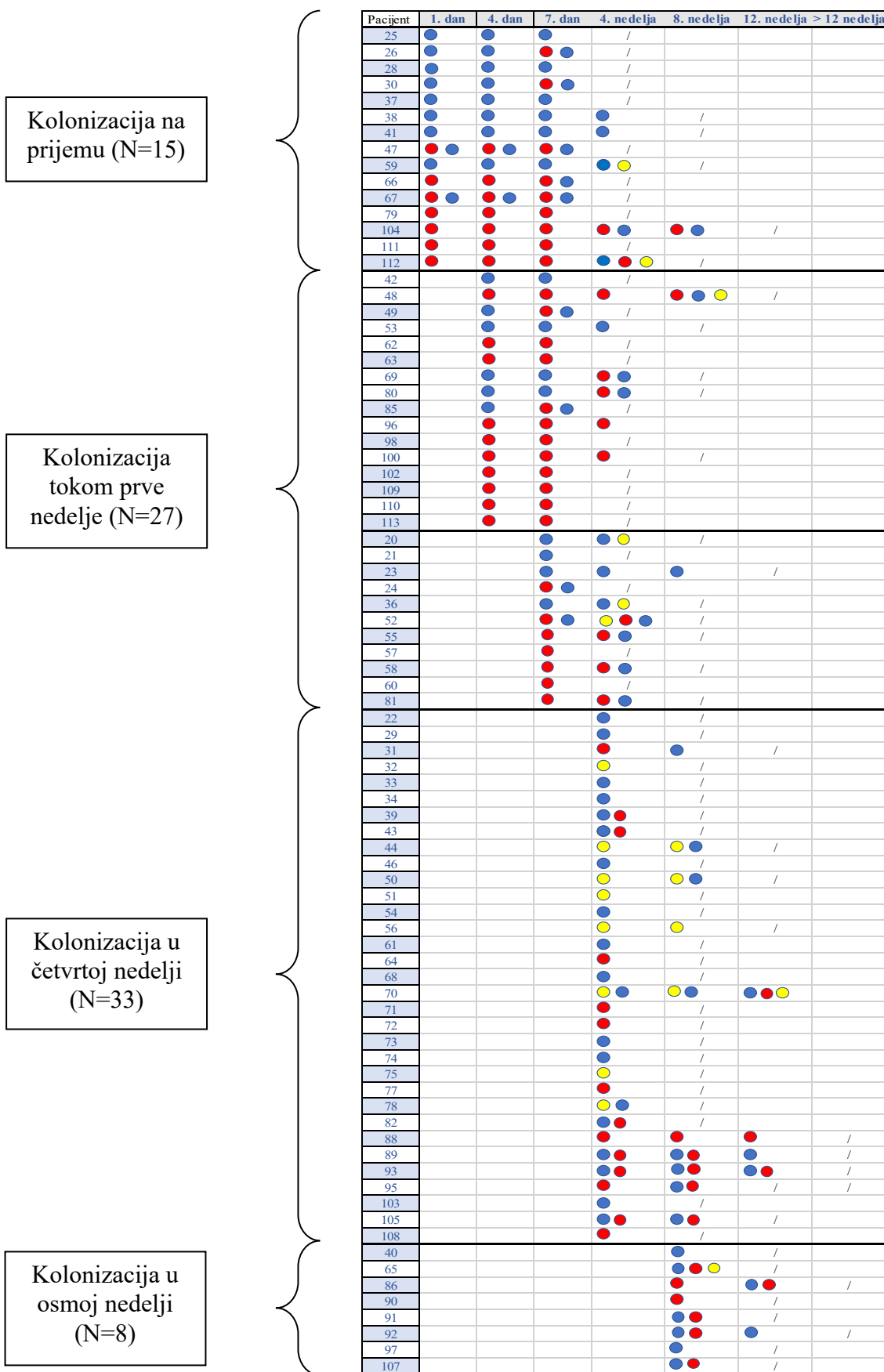


Grafikon 4.3. Ukupan broj ispitanika kod kojih je detektovana kolonizacija sa ESBL-E i CRE do odgovarajuće vremenske tačke

#### 4.3.3. Upostavljanje kolonizacije po vrstama ESBL-E i CRE kod ispitanika tokom hospitalizacije

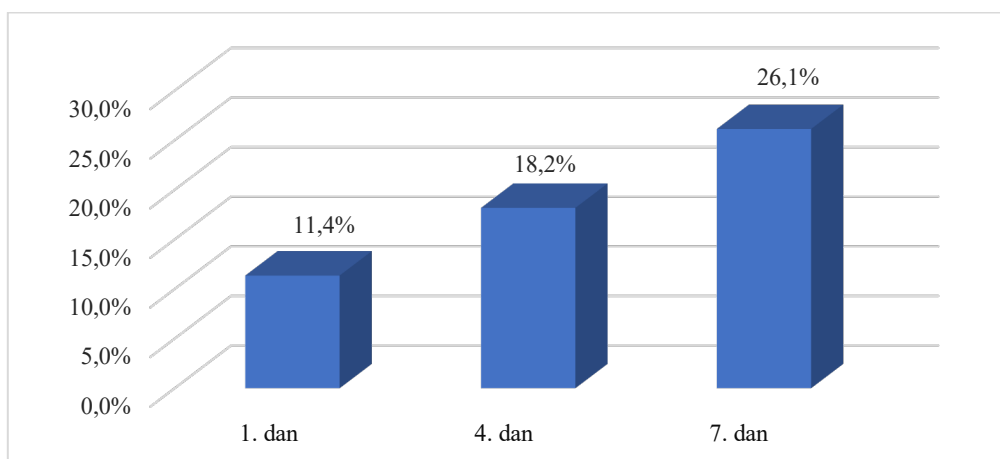
Vrste ESBL-E detektovane kod prospektivno praćenih ispitanika su bile *E. coli* i *K. pneumoniae*, dok su svi CRE sojevi bili *K. pneumoniae*. Upostavljanje kolonizacije kod ispitanika po vremenskim tačkama praćenja kolonizacije je prikazano na grafikonu 4.4. Kod većine ispitanika, nakon uspostavljanja kolonizacije detektovana vrsta bakterija je bila prisutna i prilikom narednih uzorkovanja. Ipak, status kolonizacije se često menjao tokom hospitalizacije u smislu akvizicije novih vrsta. Sumirano, najveći broj ispitanika (N=32) je bio kolonizovan sa dve vrste bakterija, a najčešća kombinacija je bila ESBL-EC i ESBL-KP koja je nađena kod 24 ispitanika. Dvadeset dva ispitanika su bili kolonizovani samo sa ESBL-EC, dok je samo ESBL-KP nađena kod osamnaestoro dece.

Zbog činjenice da je dužina boravka u bolnici bila različita kod ispitanika i da nije bilo moguće svim ispitanicima u svim definisanim vremenskim tačkama uzeti uzorke, trend kolonizacije po vrstama ESBL-E je analiziran u prvoj nedelji hospitalizacije (tokom koje je svih 88 ispitanika bilo uzorkovano).



Grafikon 4.4. Dinamika uspostavljanja i održavanja kolonizacije ESBL-E i CRE tokom hospitalizacije kod (N=83) kolonizovana ispitanika prikazana prema vremenu uspostavljanja kolonizacije; ESBL-EC (plavi kružić), ESBL-KP (crveni kružić), CP-KP (žuti kružić), otpust (/)

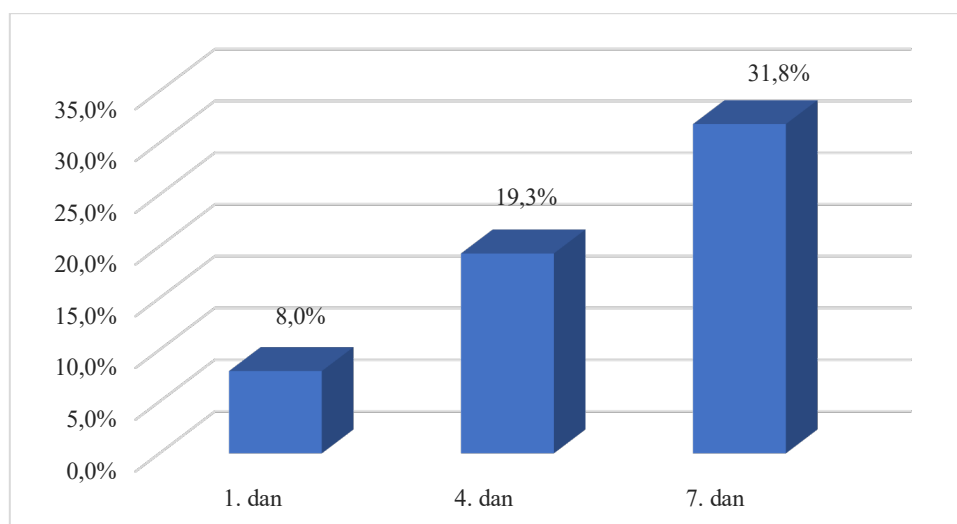
Posmatrajući kolonizaciju ESBL-EC, njena učestalost tokom prve nedelje hospitalizacije je bila u konstantnom porastu (Grafikon 4.5)



Grafikon 4.5. Učestalost kolonizovanih sa ESBL-produkujućom *Escherichia coli* po danima uzorkovanja tokom prve nedelje hospitalizacije

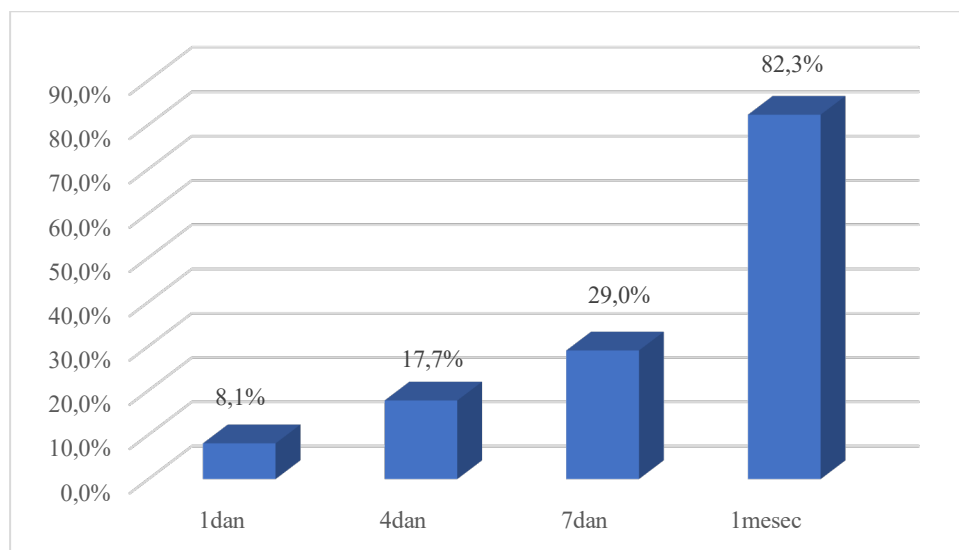
Post-hoc analizom je pokazano da je kolonizacija ESBL-EC bila značajno učestalija četvrtog u odnosu na prvi dan ( $p=0,03$ ) i sedmog u odnosu na četvrti dan ( $p=0,016$ ). Cochranovim Q testom je pokazano da je povećanje broja kolonizovanih u prvoj nedelji hospitalizacije bilo statistički značajno ( $p<0,001$ ).

Nešto veći porast učestalosti kolonizacije tokom prve nedelje hospitalizacije je primećen za ESBL-KP (Grafikon 4.6). Post-hoc analizom je pokazano da je kolonizacija ESBL-KP je bila značajno učestalija četvrtog u odnosu na prvi dan ( $p=0,002$ ), kao i sedmog u odnosu na četvrti dan ( $p=0,001$ ). Cochran-ovim Q testom je pokazano da porast učestalosti kolonizovanih tokom prve nedelje hospitalizacije bio statistički značajan ( $p<0,001$ ).



Grafikon 4.6. Učestalost kolonizovanih ESBL-produkujućom *K. pneumoniae* po danima uzorkovanja tokom prve nedelje hospitalizacije

Na kraju četvrte nedelje hospitalizacije u ustanovi je ostalo 62 ispitanika. Analiza trenda uspostavljanja kolonizacije ESBL-E i CRE u ovoj subpopulaciji je prikazana na grafikonu 4.7.



Grafikon 4.7. Učestalost kolonizovanih sa ESBL-E i CRE po danima uzorkovanja u subpopulaciji ispitanika (N=62) tokom prvog meseca hospitalizacije

Post-hoc analizom je pokazano da je kolonizacija ESBL-EC je bila značajno učestalija četvrtog u odnosu na prvi dan ( $p=0,031$ ), sedmog u odnosu na četvrti dan ( $p=0,016$ ) i krajem četvrte nedelje hospitalizacije u odnosu na 7. dan ( $p<0,001$ ). Cochran-ovim Q testom je pokazan značajan porast učestalosti kolonizacije tokom prvog meseca hospitalizacije kod subpopulacije od 62 ispitanika ( $p<0,001$ ).

Kolonizacije CP-KP je nađena kod ukupno 15 ispitanika, od čega kod trinaest ispitanika krajem četvrte nedelje hospitalizacije i kod dva krajem osme nedelje. Zbog malog broja kolonizovanih, analiza trenda uspostavljanja kolonizacije CRE nije bila moguća.

#### 4.3.4. Podaci o ispitanicima koji su na prijemu u Institutu za neonatologiju bili kolonizovani sa ESBL-E

Imajući u vidu da je 15 ispitanika (17,1%) bilo već kolonizovano na prijemu u ustanovu, ovu grupu ispitanika i njihove osobine smo posebno analizirali. Među njima, većina je bila muškog pola i prethodno provela prosečno 6 dana na neonatološkim odeljenjima u porodilištu (tabela 4.27). Najveći broj kolonizovanih ispitanika je rođeno u Kliničkom centru u Novom Sadu (N=9), a zatim u Beogradu u Ginekološko-akušerskoj klinici „Narodni front“ (N=4), dok je po jedan pacijent primljen iz Kliničkog centra u Nišu i iz Opšte bolnice u Valjevu. Četrnaest od petnaest kolonizovanih ispitanika, rođeno je u velikim porodilištima, koja su tercijarni nivoi neonatalne intenzivne nege. Svi kolonizovani ispitanici su boravili tokom više dana na neonatološkim odeljenjima ginekološko-akušerskih centara sa izuzetkog jednog ispitanika koji je transportovan odmah posle rođenja iz Ginekološko-akušerskoj klinici „Narodni Front“. Demografske osobine ispitanika kolonizovanih ESBL-E na prijemu su prikazani u Tabeli 4.27.

Tabela 4.27. Demografske osobine ispitanika kolonizovanih na prijemu u Institut za neonatologiju

Karakteristike	Kolonizovani		Nekolonizovani	
	N=15	%	N=73	%
<u>Pol</u>				
Muško	10	66,7	40	54,8
Žensko	5	33,3	33	45,2
<u>Uzrast na prijemu, sv±sd</u>				
≤ 24h	1	6,7	60	82,2
>24 h	14	93,3	13	17,8
<u>Porodilište</u>				
Beograd	4	26,7	52	71,2
GAK "Narodni Front"	4	26,7	37	50,7
Ostala porodilišta u Beogradu	0	0,0	15	20,5
Vojvodina	9	60,0	6	8,2
Novi Sad	9	60,0	1	1,4
Ostala porodilišta u Vojvodini	0	0,0	5	6,8
Uža Srbija	2	13,3	14	19,2
Niš	1	6,7	4	5,5
Valjevo	1	6,7	2	2,7
Ostala porodilišta	0	0,0	9	12,4
<u>Ostali</u>	6	40,0	72	98,6

Tokom trudnoća, kod majki ovih ispitanika je značajno češće detektovano prevremeno prsnuće plodovih ovojaka ( $p=0,02$ ) kao i primena serklaža (granična značajnost 0,0593) (Tabela 4.28.).

Tabela 4.28. Podaci o majci ispitanika, načinu začeća, tipu porođaja, terapiji i bolestima tokom trudnoće

Karakteristika	Kolonizovani		Nekolonizovani		p vrednost
	N=15	%	N=73	%	
<u>Način porođaja</u>					
Vaginalni	4	26,7	29	39,7	0,3954
Carski rez	11	73,3	44	60,3	
<u>Godine majke</u>					
	30,2 ± 5,5		31,1 ± 7,0		0,4472
<u>Trudnoća po redu</u>					
prva	7	46,7	34	46,6	0,9948
> jedne	8	53,3	39	53,4	
<u>Blizanacka trudnoća</u>					
	6	40,0	32	43,8	0,7847
<u>Vantelesna oplodnja</u>					
	7	46,7	20	27,4	0,217
<u>PROM</u>					
	9	60,0	21	28,8	<b>0,0201</b>
<u>Patološka plodova voda</u>					
	2	13,3	25	34,2	0,1346
<u>Serklaž</u>					
	3	20,0	3	4,1	0,0593
<u>Antibiotici u trudnoći</u>					
	2	13,3	22	30,1	0,2218
<u>Urinarna infekcija u trudnoći</u>					
	7	46,7	22	30,1	0,2384
<u>Kortikosteroidi pred porođaj</u>					
	10	66,7	38	52,1	0,397

Ispitanici iz ove grupe, na rođenju su imali su veću telesnu masu ( $p=0,01$ ) i nešto veću prosečnu vrednost Apgar skora u prvom minutu ( $p=0,01$ ) u odnosu na nekolonizovane. Navedeni podaci kao i podaci o toku hospitalizacije su prikazani u Tabeli 4.29. Ispitanici kolonizovani na prijemu su ređe zahtevali smeštaj na OIN ( $p=0,008$ ), invazivne procedure kao što je mehanička ventilacija ( $p=0,02$ ) i plasiranje venskog umbilikalnog katetera ( $p=0,008$ ) i kraće su boravili u bolnici u odnosu na nekolonizovane ispitanike ( $p=0,004$ ).

Tabela 4.29. Podaci o ispitanicima kolonizovanim na prijemu u Institutu za neonatologiju

Karakteristike na rođenju	Kolonizovani		Nekolonizovani		p vrednost
	N=15	%	N=73	%	
<u>Gestaciona starost (nedelje)</u>	33,2 ± 1,1		31,6 ± 3,3		
≤32	4	26,7	39	53,4	0,0881
>32	11	73,3	34	46,6	
<u>Telesna masa (g)</u>	1790,7±242,3		1574,4±476,6		
≤1500	1	6,7	30	41,1	0,0153
>1500	14	93,3	43	58,9	
<u>Apgar skor u 1. minutu</u>	7,4±2,0		6,07±1,97		0,0117
<u>Carski rez</u>	11	73,3	44	60,3	0,341
OIN	2	13,3	38	52,1	0,0089
Mehanička ventilacija	2	13,3	33	45,2	0,0232
Neinvazivna respiratorna potpora	1	6,7	6	8,3	1
VUK	2	13,3	38	52,1	0,0089
Duzina hospitalizacije	32,86±28,486		54,37±28,00		0,00466

Tokom prve nedelje hospitalizacije do uspostavljanja kolonizacije je došlo kod 27 ispitanika, a podaci o karakteristikama ovih ispitanika je prikazana u Tabeli 4.30.

Tabela 4.30. Podaci o ispitanicima kolonizovanim tokom prve nedelje hospitalizacije

Karakteristike na rođenju	Kolonizovani		Nekolonizovani		p vrednost
	N=27	%	N=46	%	
<u>Gestaciona starost (nedelje)</u>	33,2 ± 3,051		30,8 ± 3,141		
≤32	9	33,3	30	65,2	0,00804
>32	18	66,7	16	34,8	
<u>Telesna masa (g)</u>	1785,7±451,8		1450,4±468,6		0,0067
≤1500	5	18,5	25	54,3	0,0027
>1500	22	81,5	21	45,7	
<u>Apgar skor u 1. minutu</u>	7,2±1,9		5,47±2,011		0,0011
<u>Carski rez</u>	16	59,3	28	60,1	0,428
OIN	7	25,9	31	67,4	0,000618
Prijemno odeljenje	20	74,1	15	32,6	
Mehanička ventilacija	5	18,5	24	52,2	0,00455

Tabela 4.30. Podaci o ispitanicima kolonizovanim na prijemu tokom hospitalizacije (nastavak)

Karakteristike na rođenju	Kolonizovani		Nekolonizovani		p vrednost
	N=27	%	N=46	%	
Neinvazivna respiratorna potpora	3	11,1	3	6,5	0,6635
VUK	7	25,9	31	67,4	0,000618
Dužina hospitalizacije	42,2±28,000		61,5±28,800		0,00138

#### 4.3.5. Infekcije kod prospektivno praćene prevremeno rođene novorođenčadi

Od 88 prospektivno praćene novorođenčadi, hemokulturom je potvrđena sepsa kod sedam ispitanika. Kod tri ispitanika uzročnik je bila ESBL-KP. Infekcije izazvane ESBL-EC ili CP-KP nisu zabeležene ni u jednom slučaju. Zbog malog broja ispitanika sa sepsom nije bilo moguće uraditi statističku analizu, ali se sepsa izazvana ESBL-KP u sva tri slučaja javila nakon kolonizacije. U hemokulturama je kod ostalih ispitanika nađen *Acinetobacter baumannii* kod dva novorođenčeta, *Pseudomonas aeruginosa* kod jednog i koagulaza negativan stafilokok kod jednog ispitanika .

Tabela 4.31. Dan nastanka sepse u odnosu na kolonizaciju tokom prve nedelje

Kolonizovani prve nedelje			
Sepsa	Broj ispitanika	Kolonizacija	Dan nastanka sepse
ESBL-KP	1	ESBL-KP 1. dan kolonizovan	11.
ESBL-KP	1	ESBL-KP 4.dan kolonizovan	8.

Tabela 4.32. Dan nastanka sepse u odnosu na kolonizaciju nakon prve nedelje

Kolonizovani u četvrtoj nedelji			
Sepsa	Broj ispitanika	Kolonizacija	Dan nastanka sepse
ESBL-KP	1	ESBL-KP ESBL-EC	30.
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	ne	11. i 20.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	ne	50.
Koagulaza negativni stafilokok	1	ESBL-EC	5.



#### **4.3.6. Dužina održavanja kolonizacije ESBL-E i CRE posle otpusta iz Instituta za neonatologiju**

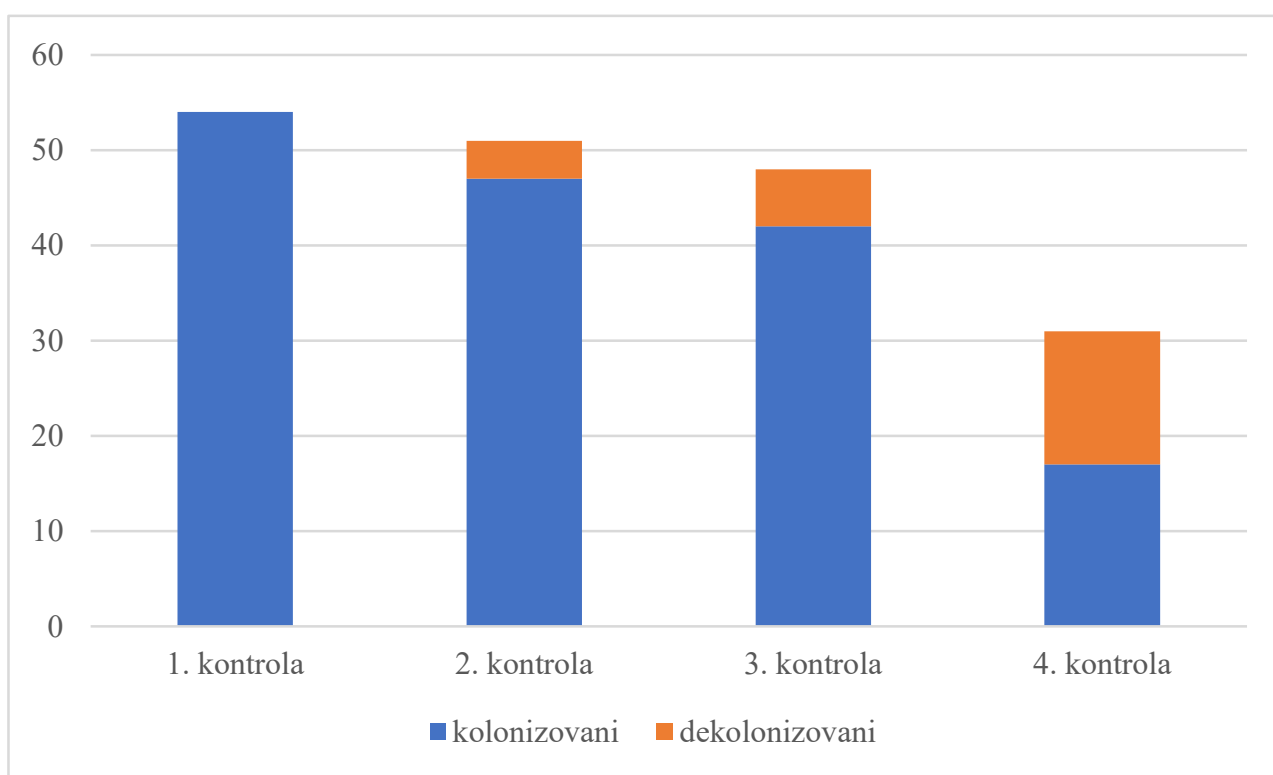
Dužina održavanja ESBL-E i CRE kolonizacije je ispitivana na kontrolnim pregledima po otpustu iz Instituta za neonatologiju i to posle mesec dana, tri meseca, šest meseci i godinu dana. Sedamdeset pet od 83 kolonizovana ispitanika (90,4%) je došlo na jedan ili više kontrolnih pregleda. Nalaz kolonizacije na poslednjem uzorkovanju tokom hospitalizacije i praćenje kolonizacije posle otpusta je prikazano na Grafikonu 4.8.

Pacijent	nalaz	1. kontrola	2. kontrola	3. kontrola	4. kontrola
25	●	●	●	●	●
26	●●	●●	●●	●●	●●
28	●	●	●	●	●
30	●●	●●	●●	●	✕
37	●	●	●	●	●
38	●	●	●	✕	●
41	●	●	●	●	●
47	●●	●●	●●	✕	✕
59	●●●	●●	●●	●	●
66	●●●	●	✕	●	●
67	●●●	●	●●	●	●
79	●●●	●	●●	●	✕
104	●●●	●●	●●	●	●
111	●●	●●	●	●	●
112	●●●	nije dolazio			
42	●	●	●	●	●
48	●●●	●	✕	●	●
49	●●	●	●	●	●
53	●	●	●	●	●
62	●	●	●	●●	✕
63	●	●	●	●	✕
69	●●●	nije dolazio			
80	●●●	nije dolazio			
85	●●●	nije dolazio			
96	●	●	●	●	●
98	●	●	●	●	●
100	●	●	●	●	✕
102	●	●●	●●	●	●
109	●	nije dolazio			
110	●	●	●	●	●
113	●	●	●	●	●
20	●●	●	●	●	●
21	●	●	●	●	●
23	●	●	●	●	✕
24	●●●	●●	●●	●	✕
36	●●●	●●	●●	●●	✕
52	●●●	●	●	●	●
55	●●●	●	●	●	✕
57	●●●	●●	●●	●	✕
58	●●	●●	●	●	●
60	●	●	✕	●	●
81	●●	●	●	●	●
22	●	●	●	●	●
29	●	●	●	●	●
31	●	●	●	●	✕
32	●	●●	●	●	●
33	●	●	●	●	●
34	●	●	●	●	●
39	●●●	●●	●	●	●
43	●●●	●●	●	●	●
44	●●●	●●	●●	●●	●●
46	●●	nije dolazio			
50	●●	●	●	●	✕
51	●	●	●	●	●
54	●	●	●	●	●
56	●	●	●	●	●
61	●	●	●	●	●
64	●	●	●	●	✕
68	●●	●	●	●●	●●
70	●●●	●	●	●	●
71	●	●	●	●	✕
72	●	●	●	●●	●●
73	●	●	✕	●	●
74	●	●	●	●	●
75	●	nije dolazio			
77	●●	●●	●	●●	●
78	●●	●●	●	●●	●
82	●	●	●	●	●
88	●	●	●	●	●
89	●	●	●	●	●
93	●●	●	●	●●	●●
95	●●	●	●	●	●
103	●	nije dolazio			
105	●	●	●	●	●
108	●	✕	✕	●	●
40	●	●	●	●	●
65	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
86	●●●	●●	●●	●●	●●
90	●	●	●	●	●
91	●	●	●	●	●
92	●	●	●	●	●
97	●	●	●	●	●
107	●●	●	●	●	●

Grafikon 4.8: Nalaz na kontrolnim pregledima posle otpusta iz Instituta za neonatologiju (1. kontrola – nakon mesec dana; 2. kontrola – nakon 3 meseca; 3. kontrola – nakon 6 meseci; 4. kontrola nakon 12 meseci); druga kolona predstavlja status kolonizacije na poslednjem uzorkovanju tokom hospitalizacije; ESBL-EC (plavi kružić), ESBL-KP (crveni kružić), CP-KP (žuti kružić), dekolonizacija (x)

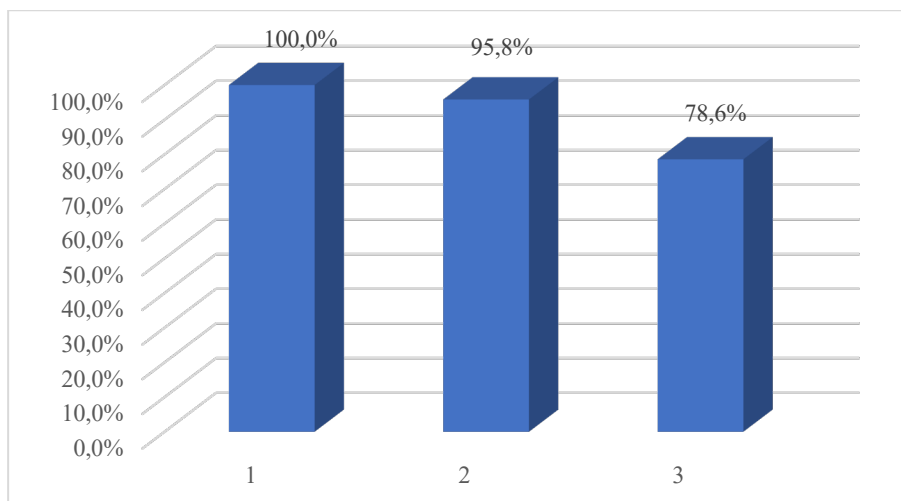
Tokom perioda praćenja, na nekom od kontrolnih pregleda, dekolonizacija ESBL-E je registrovana kod 21 od 75 praćenih ispitanika (28%). Perzistiranje kolonizacije sa ESBL-E godinu dana posle otpusta je zabeleženo kod 20 ispitanika (26,6%), a kod 34 ispitanika (45,3%) status kolonizacije nije bio poznat, pošto nisu došli na godišnji kontrolni pregled. Kod 9 ispitanika kolonizovanih sa ESBL-KP ili CP-KP u ustanovi, nakon otpusta je detektovana ESBL-EC sa ili bez *K. pneumoniae*. Postoji više mogućih objašnjenja za ovu pojavu, a najverovatnije je da je ESBL-EC bila prisutna i tokom hospitalizacije, ali u malom broju u odnosu na *K. pneumoniae*, zbog čega nije detektovana.

Među ispitanicima kolonizovanim sa ESBL-EC koji su dolazili na neki od kontrolnih pregleda (N=54), do dekolonizacije je došlo kod 13 ispitanika (24,1%), kod 18 je kolonizacija perzistirala (33,3%), a status kolonizacije je bio nepoznat za 23 ispitanika (42,6%) (Grafikon 4.9). Kod dvoje ispitanika kod kojih kolonizacija ESBL-EC nije detektovana tokom hospitalizacije (gore napomenuto), perzistencija je registrovana na godišnjem kontrolnom pregledu, pa je ukupno 20 ispitanika ostalo kolonizovano sa ESBL-EC.



Grafikon 4.9. Status kolonizacije ESBL-produkujućom *Escherichia coli* na kontrolnim pregledima posle otpusta iz Instituta za neonatologiju (1. kontrola – nakon mesec dana; 2. kontrola – nakon 3 meseca; 3. kontrola – nakon 6 meseci; 4. kontrola nakon 12 meseci) (u slučaju propuštenog pregleda, smatrano je da je status kolonizacije bio kao na narednom kontrolnom pregledu)

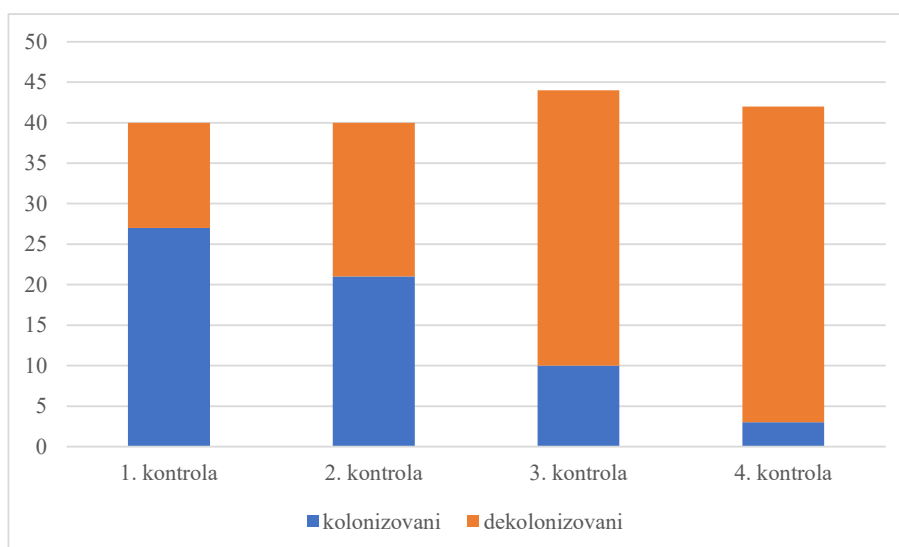
S obzirom na mali broj praćenih ispitanika, trend dekolonizacije je mogao biti analiziran samo za ESBL-EC, na prva tri kontrolna pregleda (Grafikon 4.10).



Grafikon 4.10. Učestalost kolonizovanih ESBL-produkujućom *Escherichia coli* na prva tri kontrolna pregleda posle otpusta iz Instituta za neonatologiju (1. kontrola – nakon mesec dana; 2. kontrola – nakon 3 meseca; 3. kontrola – nakon 6 meseci)

Post-hoc analizom je pokazano da učestalost kolonizacije ESBL-EC nije značajno opadala na drugom u odnosu na prvi kontrolni pregled ( $p=1,0$ ), kao ni na trećem u odnosu na drugi pregled ( $p=0,063$ ). Cochran-ovim Q testom je ustanovljeno da smanjenje učestalosti kolonizacije tokom šestomesečnog perioda nije bilo statistički značajno ( $p=0,292$ ).

Svi ispitanici kolonizovani sa ESBL-KP ( $N=44$ ) su dolazili na neki od kontrolnih pregleda. Na prvoj mesečnoj kontroli 27 ispitanika je ostalo kolonizovano (61,4%), dok je do dekolonizacije došlo kod 13 ispitanika (29,5%), a za četvoto status nije bio poznat (9%) (Grafikon 4.11). Na drugom kontrolnom pregledu posle tri meseca od otpusta, dekolonizacija je registrovana kod još šest ispitanika, dok je posle šest meseci ostalo samo 10 kolonizovanih ispitanika (22,7%), dok je kod 34 došlo do dekolonizacije (77,3%). Posle godinu dana, kod najvećeg broja ispitanika (39, tj. 88,6%) kolonizacija više nije bila prisutna, kod 5 je i dalje perzistirala (11,3%), a za dva ispitanika status nije bio poznat.



Grafikon 4.11. Status kolonizacije ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae* na kontrolnim pregledima posle otpusta iz Instituta za neonatologiju (1. kontrola – nakon mesec dana; 2. kontrola – nakon 3 meseca; 3. kontrola – nakon 6 meseci; 4. kontrola nakon 12 meseci)

Od 15 ispitanika kolonizovanih tokom hospitalizacije sa CP-KP, 13 je dolazilo na kontrolne preglede, a među njima je samo jedan (7,7%) ostao kolonizovan posle godinu dana, dok kod ostalih već na prvoj kontroli CRE kolonizacija nije više detektovana.

#### 4.4. ANTIMIKROBNA OSETLJIVOST I GENSKA OSNOVA REZISTENCIJE ESBL-E I CRE IZOLATA

##### 4.4.1. Antimikrobna osetljivost ESBL-E i CRE izolata

Antimikrobna osetljivost je testirana kod ispitanika kod kojih je kolonizacija prospektivno praćena (N=88), za svaki prvi izolat ESBL-E i/ili CRE. Ukupno je ispitano 59 sojeva ESBL-EC, 44 soja ESBL-KP i 13 sojeva CRE. Svi testirani izolati su bili multirezistentni i rezistencija je bila česta na različite klase antibiotika. Antimikrobna osetljivost izolata ESBL-EC je prikazana na Tabeli 4.33.

Tabela 4.33. Antimikrobna osetljivost izolata ESBL-produkujuće *Escherichia coli* (N=59)

Antimikrobni agens	S/I		R	
	Broj	%	Broj	%
AMC	24	40,7	35	59,3
TZP	36	61,0	23	39,0
CTR	7	11,9	52	88,1
CTX	7	11,9	52	88,1
CZD	24	40,7	35	59,3
CP	14	23,7	45	76,3
G	9	15,3	50	84,7
A	52	88,1	7	11,9
CIP	21	35,6	38	64,4
SXT	21	35,6	38	64,4
CHL	17	28,8	42	71,2
MEM	47	79,7	0	0,0

(AMC – amoksisilin klavulanska kiselina; TZP – piperacilin tazobaktam; CTR – ceftriakson; CTX – cefotaksim; CZD – ceftazidim; CP – cefepim; G – gentamicin; A – amikacin; CIP – ciprofloksacin; SXT – sulfametoksazol trimetoprim; CHL – hloramfenikol; MEM – meropenem)

Testirani sojevi su bili u visokom procentu rezistentni na cefalosporine III i IV generacije, gentamicin, fluorohinolone, sulfametoksazol-trimetoprim i hloramfenikol. Rezistencija je bila retka na amikacin (11,9%), dok su svi sojevi bili osetljivi na meropenem. Najčešći obrasci rezistencije su prikazani na Tabeli 4.34.

Tabela 4.34. Obrasci rezistencije na antimikrobne agense sojeva ESBL-produkujuće *Escherichia coli* (N=59)

Obrasci rezistencije, ESBL-EC	Broj izolata	%
A(S), CIP(R), CHL(R), SXT(R)	20	33,8
A(S), CIP(S), CHL(R), SXT(R)	11	18,6
A(S/R), CIP(R), CHL(S), SXT(S)	15	25,4
ostali	13	22,0

(A – amikacin; CIP – ciprofloksacin; SXT – sulfametoksazol trimetoprim; CHL – hloramfenikol)

Za razliku od ESBL-EC, sojevi ESBL-KP su bili u većoj meri rezistentni na aminoglikozide i sulfametoksazol-trimetoprim, dok je osetljivost na fluorohinolone i hloramfenikol bila prisutna kod većine izolata. Učestalost rezistencije na aminoglikozide je bila izuzetno visoka (90,9% na gentamicin i 77,3% na amikacin) i na sulfametoksazol trimetoprim (77,3%), dok je 27,3% sojeva bilo osetljivo na hloramfenikol. Antimikrobna osetljivost sojeva ESBL-KP je prikazana na Tabeli 4.35.

Tabela 4.35. Antimikrobna osetljivost izolata ESBL-produkujuće *Klebsiella pneumoniae* (N=44)

Antimikrobni agens	Broj (S/I)	%	Broj (R)	%
AMC	18	40.9	26	59.1
TZP	20	45.5	24	54.5
CTR	4	9.1	40	90.9
CTX	3	6.8	41	93.2
CZD	19	43.2	25	56.8
CP	13	29.5	31	70.5
G	4	9.1	40	90.9
A	10	22.7	34	77.3
CIP	32	72.7	12	27.3
SXT	10	22.7	34	77.3
CHL	32	72.7	12	27.3
MEM	44	100.0	0	0.0

(AMC – amoksicilin klavulanska kiselina; TZP – piperacilin tazobaktam; CTR – ceftriakson; CTX – cefotaksim; CZD – ceftazidim; CP – cefepim; G – gentamicin; A – amikacin; CIP – ciprofloksacin; SXT – sulfametoksazol trimetoprim; CHL – hloramfenikol; MEM – meropenem)

Najčešći obrasci rezistencije su prikazani na tabeli 4.36.

Tabela 4.36. Obrasci rezistencije na antimikrobne agense sojeva ESBL-produkujuće *Klebsiella pneumoniae* (N=44)

Obrasci rezistencije, ESBL-KP	Broj	%
CHL(S), CIP(S), G(R), A(R), SXT(R)	20	45.5
CIP(R), CHL(R), SXT(R), G(R)	7	15.9
CIP(S), CHL(S), SXT(S), G(R)	6	13.6
ostali	11	25

(G – gentamicin; A – amikacin; CIP – ciprofloksacin; SXT – sulfametoksazol trimetoprim; CHL – hloramfenikol)

Antimikrobna osetljivost petnaest izolata *K. pneumoniae* rezistentnih na karbapeneme je prikazana u Tabeli 4.37. Sojevi su najčešće bili rezistentni na gentamicin i fluorohinolone, a uglavnom osetljivi hloramfenikol i sulfametoksazol trimetoprim dok je osetljivost na amikacin bila varijabilna.

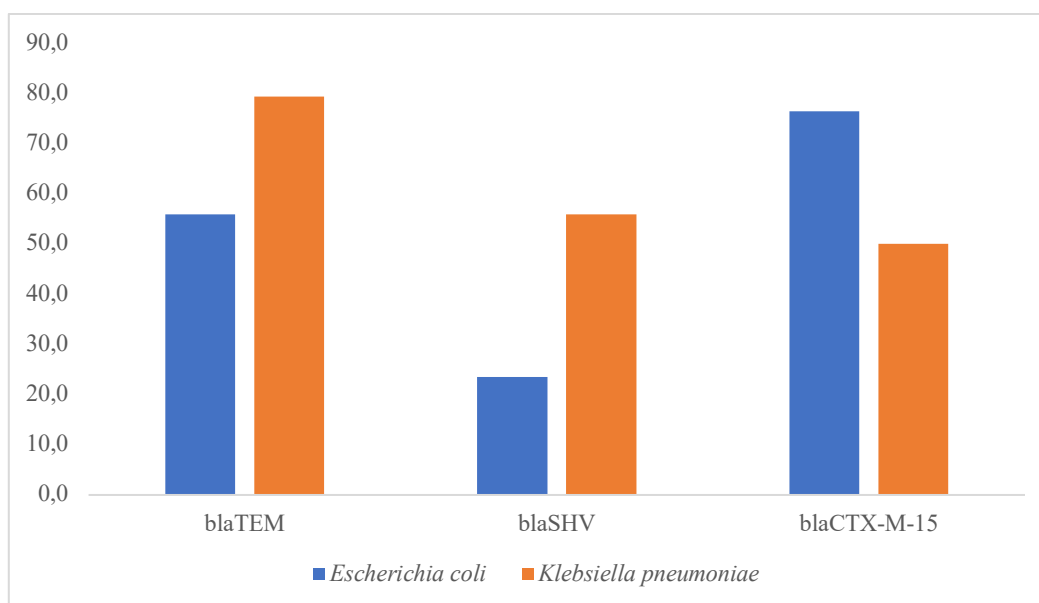
Tabela 4.37. Antimikrobna osetljivost sojeva karbapenemaza-producujuće *Klebsiella pneumoniae* (N=15)

Antimikrobni agens	S/I	%	R	%
G	1	6,7	14	93,3
A	9	60,0	6	40,0
CIP	0	0,0	15	100,0
SXT	12	80,0	3	20,0
CHL	11	73,3	4	26,7
MEM	0	0,0	15	100,0
COL	15	100,0	0	0,0

(G – gentamicin; A – amikacin; CIP – ciprofloksacin; SXT – sulfametoksazol trimetoprim; CHL – hloramfenikol; MEM – meropenem; COL – kolistin )

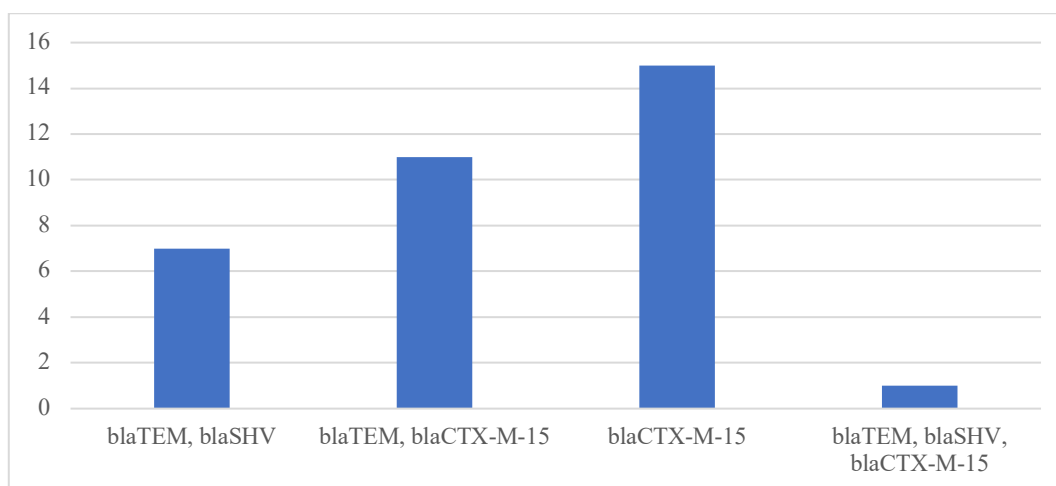
#### 4.4.2. Genska osnova rezistencije ESBL-E i CRE izolata

Molekularna detekcija najčešćih ESBL gena je urađena za 34 izolata ESBL-EC i 34 izolata ESBL-KP. Kod svih ispitanih sojeva detektovani su *blaTEM*, *blaSHV* ili *blaCTX-M-15*, sami ili u kombinaciji, dok *blaCTX-M-2*, *blaCTX-M-9* i *blaCTX-M-14* nisu nađeni ni kod jednog testiranog izolata. Učestalost gena koje kodiraju ESBL po vrstama ESBL-E je prikazana na Grafikonu 4.12.



Grafikon 4.12. Učestalost *blaTEM*, *blaSHV* i *blaCTX-M-15* kod ESBL-producujuće *Escherichia coli* i ESBL-producujuće *Klebsiella pneumoniae*

Kod oko polovine izolata ESBL-EC (44,1%) nađen je *blaCTX-M-15* samo, dok je kod ostalih izolata bilo prisutno najčešće dva različita gena (52,9%), a kod jednog soja su detektovana sva tri testirana gena rezistencije (Grafikon 4.13).



Grafikon 4.13. Distribucija ESBL gena kod izolata ESBL-produkujuće *Escherichia coli* (N=34)

Antimikrobna osetljivost izolata koji su nosili određen gen/kombinaciju gena je uglavnom bila uniformna. Najčešći obrasci rezistencije u odnosu na prisustvo gena rezistencije su prikazani u Tabeli 4.38.

Tabela 4.38. Obrasci rezistencije izolata ESBL-produkujuće *Escherichia coli* u odnosu na distribuciju gena koji kodiraju ESBL

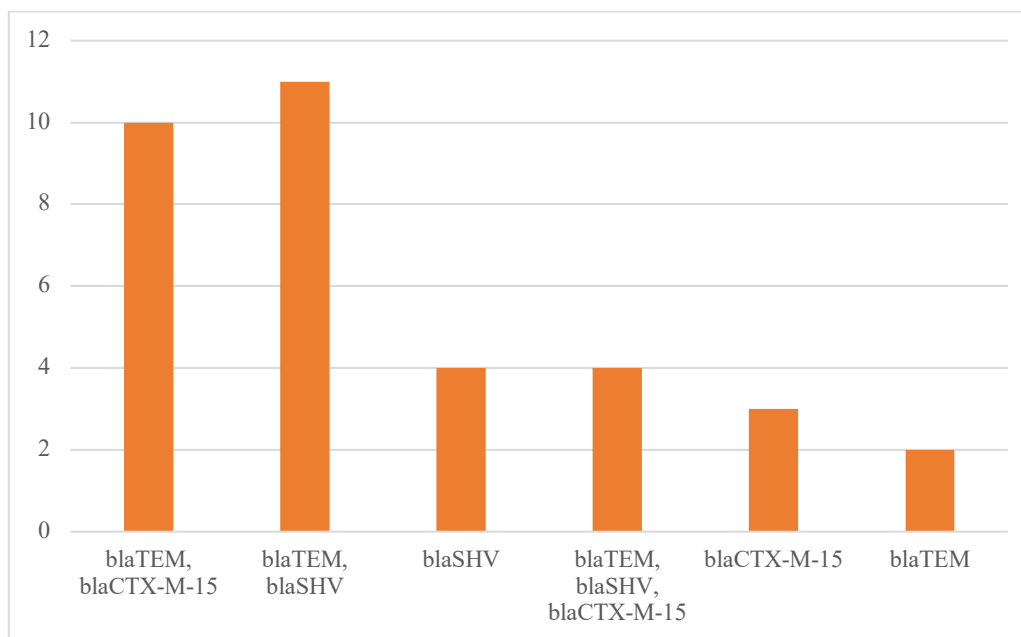
Obrazac rezistencije	Geni	Broj*
AMC (S-R), TZP (S-R), CZD, CTX, CTR, CP, G, CIP, CHF, SXT	<i>blaTEM, blaSHV</i>	5/7
AMC (S-R), TZP (S-R), CZD(S-R), CTX, CTR (S-R), CP, G, CHF, SXT, CIP	<i>blaTEM, blaCTX-M-15</i>	8/11
AMC (S-R), CZD(S-R), CTX(S-R), CTR(S-R), CP(S-R), G, A(S/R)	<i>blaCTX-M-15</i>	11/15

(AMC – amoksicilin klavulanska kiselina; TZP – piperacilin tazobaktam; CTR – ceftriakson; CTX – cefotaksim; CZD – ceftazidim; CP – cefepim; G – gentamicin; A – amikacin; CIP – ciprofloksacin; SXT – sulfametoksazol trimetoprim; CHL – hloramfenikol; MEM – meropenem)

\*broj sojeva koji ima dati rezistotip od ukupnog broja sojeva sa odgovarajućom kombinacijom ESBL gena

Kod ispitanih sojeva ESBL-KP, distribucija ESBL gena je bila vrlo heterogena. Kod najvećeg broja izolata je nađen *blaTEM* i *blaSHV* (32,3%), zatim *blaTEM* i *blaCTX-M-15* (29,4%), a kod preostalih sojeva je detektovan po jedan od ispitivanih gena ili sva tri zajedno. Distribucija ESBL gena kod izolata je prikazana na Grafikonu 4.14.





Grafikon 4.14. Distribucija ESBL gena kod izolata ESBL-produkujuće *Klebsiella pneumoniae* (N=34)

Antimikrobna osetljivost izolata koji su nosili određen gen/kombinaciju gena je uglavnom bila uniformna. Najčešći obrasci rezistencije u odnosu na prisustvo gena rezistencije su prikazani u Tabeli 4.37.

Tabela 4.39. Obrasci rezistencije izolata ESBL-produkujuće *Klebsiella pneumoniae* u odnosu na distribuciju gena koji kodiraju ESBL

Obrazac rezistencije	Geni	Broj*
AMC (S-R), TZP (S-R), CZD, CTX, CTR, CP(S-R), G, A, SXT	<i>blaTEM, blaCTX-M-15</i>	9/10
AMC (S-R), TZP (S-R), CZD, CTX, CTR, CP, G, CHF, CIP	<i>blaTEM, blaSHV</i>	4/15
AMC (S-R), CZD, CTX, CTR, CP(S-R), G, A, SXT	<i>blaTEM, blaSHV</i>	5/15

(AMC – amoksisilin klavulanska kiselina; TZP – piperacilin tazobaktam; CTR – ceftriakson; CTX – cefotaksim; CZD – ceftazidim; CP – cefepim; G – gentamicin; A – amikacin; CIP – ciprofloksacin; SXT – sulfametoksazol trimetoprim; CHL – hloramfenikol; MEM – meropenem)

\*broj sojeva koji ima dati rezistotip od ukupnog broja sojeva sa odgovarajućom kombinacijom ESBL gena

Kod sojeva *K. pneumoniae* koji su bili rezistentni na karbapeneme, ispitivano je prisustvo najčešćih tipova karbapenemaza i prisustvo gena koji kodiraju ESBL. Kod osam izolata je detektovan *blaOXA-48*, dok je kod preostalih sedam nađen *blaKPC*. Kod svih sojeva koji su nosili *blaOXA-48* nađen je *blaCTX-M-15*, dok je kod sojeva sa *blaKPC* detektovano prisustvo i *blaTEM* i *blaSHV* gena.

Svi sojevi sa *blaOXA-48* su bili osetljivi na amikacin, sulfametoksazol trimetoprim i hloramfenikom i rezistentni na gentamicin i fluorohinolone. Sojevi sa *blaKPC* su bili rezistentni na fluorohinolone, većinom rezistentni na gentamicin i amikacin, dok je osetljivost na sulfametoksazol trimetoprim bila prisutna kod tri, a na hloramfenikol kod četiri soja.

#### **4.5. ODREĐIVANJE FAKTORA RIZIKA ZA NASTANAK KOLONIZACIJE MULTIREZISTENTNIM ENTEROBAKTERIJAMA ESBL-E I CRE KOD HOSPITALIZOVANE PREVREMENO ROĐENE DECE, KAO I FAKTORA RIZIKA ZA RAZVOJ INFEKCIJA**

Učestalost kolonizacije ESBL-E i/ili CRE kod prevremeno rođene dece (N=350) na otpustu iz Instituta za neonatologiju je bila veoma visoka (344/350, 98,2%). Kolonizacija ESBL-EC je nađena kod 88,3% ispitanika, sa ESBL-KP je bila prisutna kod 58,6% ispitanika, a kolonizacija sa CRE je detektovana kod 24,1% ispitanika.

Univarijantna i multivarijantna logistička regresija su primenjene kako bi se identifikovali prediktori kolonizacije multirezistentnim enterobakterijama. S obzirom da je učestalost nalaza ESBL-EC bila izuzetno visoka, nije bilo moguće prediktore za kolonizaciju ovom bakterijom. Prediktori kolonizacije su određivani za kolonizaciju sa ESBL-KP i za kolonizaciju sa CRE.

##### **4.5.1. Prediktori za kolonizaciju ESBL- produkujućom *Klebsiella pneumoniae*, univarijantna logistička regresija**

Ishodna (zavisna) variabla u univarijantnoj logističkoj regisiji je bila kolonizacija ESBL-KP, a ostale karakteristike su smatrane nezavisnim varijablama. Analiza je pokazala da su prediktori kolonizacije bili ženski pol i boravak na prijemnom odeljenju. Ispitanici koji su bili hospitalizovani na prijemnom odeljenju su imali 3,3 puta veći odnos šansi da budu kolonizovani u odnosu na ispitanike koji su boravili na drugim odeljenjima. Primena VUK-a je bila protektivan faktor za kolonizaciju ESBL-KP. Rezultati univarijantne regresione analize su prikazani u Tabeli 4.40.

Tabela 4.40. Prediktori kolonizacije ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae*, univarijantna logistička regresija

	p	OR	Interval poverenja IP (95%)
<u>Demografske osobine i osobine na rođenju</u>			
Ženski pol	0.036	1.581	1-2.429
Gestaciona starost, GN ≤ 28	0.925	0.972	0.535-1.764
Apgar skor u 1. minutu ≤ 7	0.475	1.194	0.735-1.939
Telesna masa ≤ 1000g	0.828	0.943	0.555-1.602
Vaginalni porođaj	0.589	0.884	0.565-1.383
<u>Dužina hospitalizacije, odeljenja, procedure</u>			
Dani hospitalizacije (>30 dana)	0.124	0.663	0.393-1.119
Lečenje u odeljenju intenzivne nege (OIN)	0.106	0.7	0.454-1.079
Dani u OIN (>7 dana)	0.555	1.147	0.727-1.809
Mehanička ventilacija	0.206	0.755	0.488-1.167
Venski umbilikalni kateter (VUK)	0.014	0.573	0.369-0.891
Totalna parenteralna ishrana (TPI)	0.637	1.127	0.686-1.851
<u>Odeljenje</u>			
Prijemno odeljenje	0.003	3.329	1.489-7.441
Odeljenje izolacije	0.847	0.954	0.591-1,57
Prvo odeljenje specijalizovane nege	0.037	0.607	0.38-0.97
Drugo odeljenje specijalizovane nege	0.929	1.021	0.65-1.604
<u>Infekcije</u>			
Klinički znaci sepse, nisu potvrđeni pozitivnom hemokulturom	0,147	0,69	0,418-1,14
Sepsa, izazvana ESBL-KP	0,225	1,919	0,669-5,507
<u>Antimikrobna terapija</u>			
Inicijalna terapija primenjena duže od 7dana	0.201	1.354	0.851-2.157
Karbapenemi	0.295	0.797	0.52-1.219
Ampicilin sulbaktam i kolistin	0.41	0.53	0.117-2.404
Meropenem i ampicilin sulbaktam	0.051	0.617	0.38-1.002
Meropenem i vankomicin	0.334	1.389	0.713-2.706
Meropenem i kolistin	0.828	1.082	0.531-2.206
Meropenem i ceftazidim	0.059	0.397	0.152-1.034
Meropenem >20 dana	0,847	1,063	0,569-1,998
<u>Bolesti/stanja povezana sa prematuritetom</u>			
Retinopatija prematuriteta	0.138	0.714	0.457-1.114
Bronhopulmonalna displazija	0,461	1,458	0,534- 3,980
<i>Ductus arteriosus persistens</i>	0,429	0,803	0,467-1,382
Nekrotizirajući enterokolitis	0.175	2.219	0.701-7.023
Respiratorni distress sindrom	0.708	0.902	0.526-1.548
Intraventrikularna hemoragija	0.648	0.899	0.568-1.421

#### 4.5.2. Prediktori za kolonizaciju CRE, univarijantna i multivarijantna logistička regresija

Univarijantnom regresionom analizom je pokazano da su prediktori kolonizacije sa CRE bili dužina boravka u bolnici, boravak na OIN, primena VUK i boravak na odeljenju izolacije i Prvom odeljenju

specijalizovane nege. Ispitanici koji su proveli duže od mesec dana u bolnici su imali preko pet puta veći odnos šansi da postanu kolonizovani sa CRE ( $p < 0,001$ , OR 5,279, IP 2.208-12.622). Ispitanici koji su boravili na OIN, kao i oni koji su preko sedam dana boravili na OIN su imali 2-3 puta veći odnos šansi da budu kolonizovani sa CRE (Tabela 4.41). Takođe, odnos šansi da budu kolonizovani je bio 2,6 puta veći kod ispitanika koji su boravili na odeljenju izolacije i 1,9 puta veća kod onih koji su boravili na Prvom odeljenju specijalizovane nege. Primena VUK-a je takođe bila prediktor kolonizacije. Sa druge strane, boravak na Drugom odeljenju specijalizovane nege je bio protektivan faktor, tj. ispitanici koji su tu boravili su imali 61,6% manju šansu da postanu kolonizovani sa CRE, a takođe i na prijemnom odeljenju, gde nije zabeležen ni jedan kolonizovan ispitanik.

Tabela 4.41. Prediktori kolonizacije CRE, univarijantna logistička regresija

	<i>p</i>	OR	Interval poverenja (95%)
<u>Demografske osobine i osobine na rođenju</u>			
Muški pol	0.998	1.001	0.617-1,623
Gestaciona starost, GN $\leq$ 28	0.091	1.724	0.917-3.241
Apgar skor u 1. minutu $\leq$ 7	0.002	2.967	1,496-5.887
Telesna masa, $\leq$ 1000g	0.004	2.254	1,289-3.941
Vaginalni porođaj	0.289	1.311	0.794-2.164
<u>Dužina hospitalizacije, odeljenja, procedure</u>			
Dani hospitalizacije (>30 dana)	<0.001	5.279	2.208-12.622
Boravak na odeljenju intenzivne nege (OIN)	<0.001	2.955	1.722-5.069
Dani na OIN (>7 dana)	0.001	2.259	1,372-3.718
Mehanička ventilacija	0.305	1.293	0.791-2.112
Venski umbilikalni kateter	<0.001	2.963	1,702-5.159
Totalna parenteralna ishrana	0.125	1.523	0.889-2.608
<u>Odeljenje</u>			
Prijemno odeljenje	0.997	0.000	0.000-0.000
Odeljenje izolacije	<0.001	2.609	1,559-4.367
Prvo odeljenje specijalizovane nege	0.013	1.908	1,143-3.186
Drugo odeljenje specijalizovane nege	0.002	0.394	0.220-0.708
<u>Infekcije</u>			
Klinički znaci sepse, nisu potvrđeni pozitivnom hemokulturom	0,153	1.494	0,861- 2,59
Sepsa, potvrđena hemokulturom	<0.001	1.439	1,178-1,756
Sepsa, izazvana ESBL-KP	0,414	1.524	0,555-4,191
<u>Antimikrobna terapija</u>			
Inicijalna terapija primenjena duže od 7dana	0.522	0.841	0.494-1.430
Karbapenemi	<0.001	3.482	2,061-5.882
Vankomicin	<0.001	3.125	1,729-5.648
Ampicilin sulbaktam i kolistin	0.512	0.490	0.058-4.131
Meropenem i ampicilin sulbaktam	0.007	2.055	1,217-3.471
Meropenem i vankomicin	0.022	2.173	1,116-4.232
Meropenem i kolistin	0.004	2.842	1,390-5.811

Tabela 4.41. Prediktori kolonizacije CRE, univarijantna logistička regresija (nastavak)

	p	OR	Interval poverenja (95%)
Meropenem i ceftazidim	<0.001	5.752	2,188-15.123
Meropenem > 20 dana	<0.001	6,663	3,476- 12,805
<u>Bolesti/stanja povezana sa prematuritetom</u>			
Retinopatija prematuriteta	0.683	1.111	0.671-1.839
Bronhopulmonalna displazija	0,791	1,154	0,399-3,333
<i>Ductus arteriosus persistens</i>	0,427	1,125	0,700- 2,322
Nekrotizirajući enterokolitis	0.001	5.470	1,927-15.528
Respiratorni distres sindrom	0.061	1.946	0.970-3.906
Intraventrikularna hemoragija	0.004	2.085	1,261-3.447

Primena antibiotika je bila značajan prediktor kolonizacije. Izuzev duže primene inicijalne terapije (> 7 dana) i primene ampicilin sulbaktama sa kolistinom, sve ostali antibiotski agensi i/ili kombinacije agenasa su bili prediktori CRE kolonizacije. To su bili primena karbapenema, vankomicina, meropenema i ampicilin sulbaktama, meropenema i kolistina, meropenema i ceftazidima i meropenema i vankomicina. Ispitanici koji su primali karbapeneme bilo u monoterapiji ili kombinaciji sa drugim agensom su imali 3,6 puta veći odnos šansi da budu kolonizovani. Odnos šansi je bio 5,7 puta veći kod ispitanika koji su primali meropenem sa ceftazidimom. Takođe dužina primene meropenema (>20 dana) je bila značajan prediktor kolonizacije i ispitanici koji su dugo primali ovaj antibiotik (sam ili u kombinaciji) su imali 6,6 puta veću šansu da budu kolonizovani sa CRE. Od bolesti istanja povezanih sa prematuritetom, samo je nekrotizirajući enterokolitis bio značajan prediktor kolonizacije sa CRE (p=0,001, OR 5,46, IP 1,927-15.528).

Statistički značajni prediktori (p<0.05) iz univarijantne logističke regresije su uključeni u multivarijantni model logističke regresije. Nakon primene enter metode logističke regresije kao statistički značajni prediktori za CRE kolonizaciju su identifikovani primena karbapenema (p=0,047; Exp(B) 1,925, IP 1,009-3,676), primena ceftazidima sa meropenemom (p=0,009; Exp(B) 3,199, 1,334-7,672) i nekrotizirajući enterokolitis (p=0,041; Exp(B) 3,411, IP, 1,053-11,047).

#### 4.5.3. Prediktori za nastanak infekcije

Među 350 ispitanika, 80 je imalo kliničke znake sepse, bez laboratorijske potvrde pozitivnom hemokulturom. Prediktori nastanka kliničke sepse određeni univarijantnom logističkom regresijom su bili asfiksija na rođenju (Apgar skor <7), hospitalizacija duža od mesec dana, boravak na OIN, boravak na OIN (>7 dana), svi oblici invazivne i neinvazivne respiratorne potpore (mehanička ventilacija, HFOV i NCPAP) i venski umbilikalni kateter. Intraventrikularna hemoragija, bronhopulmonalna displazija, perzistentni duktus arteriozus, retinopatija prematuriteta. je takođe bila značajan prediktor sepse. Značajno se češće javljala i kod ekstremno nezrele novorođenčadi i one manje od 1000g. Rezultati univarijantne logističke regresije su prikazani u Tabeli 4.42.

Tabela 4.42. Prediktori za nastanak kliničke sepse i povezanost sa bolestima prematuriteta, univarijantna logistička regresija

Klinička sepsa	Broj	%	<i>p</i>	OR	Interval poverenja (95%)
Muški pol	40	50	0,413	1,242	0,740-2,084
Vaginalni porođaj	20	25	0,146	0,650	0,363-1,162
Gestacija < 28 nedelja	18	22,5	0,001	3,350	1,626-6,901
Telesna masa <1000g	21	26,25	0,001	3,094	1,589-6,025
Apgar skor u prvom minutu ≤ 7	69	86,25	0,002	3,091	1,537-6,216
Hospitalizacija >30 dana	70	87,5	<0,001	3,806	1,795-8,069
OIN	69	86,25	<0,001	6,032	3,227-11,278
Dani u OIN >7 dana	49	61,25	<0,001	6,508	3,658-11,577
HFOV	10	12,5	0,005	4,203	1,540-11,468
MV	44	55	<0,001	4,587	2,650-7,938
NCPAP	44	55	<0,001	4,970	2,856-8,648
TPI	19	23,75	0,171	1,506	0,838-2,708
VUK	60	75	<0,001	7,024	3,587-13,755
ESBL-EC	61	76,25	0,226	0,367	0,073-1,858
ESBL-KP	54	67,5	0,226	0,725	0,431-1,220
CRE	27	33,75	0,008	2,238	1,235-4,055
Prijemno odeljenje	1	1,25	0,005	0,126	0,029-0,535
Odeljenje izolacije	22	27,5	0,055	1,749	0,987-3,099
Prvo odeljenje specijalizovane nege	22	27,5	0,702	1,117	0,634-1,967
Drugo odeljenje specijalizovane nege	24	30	0,832	1,061	0,614-1,833
RDS	60	75	0,134	1,699	0,850-3,397
IVH	30	37,5	0,001	2,550	1,472-4,418
DAP	18	30	0,029	2,070	1,078-3,976
BPD	7	36,8	0,012	5,007	1,424-17,606
NEK	3	3,75	0,126	4,105	0,673-25,044
ROP	30	37,5	0,005	2,183	1,269-3,754

Statistički značajni prediktori ( $p < 0.05$ ) iz univarijantne logističke regresije su uključeni u multivarijantni model logističke regresije. Nakon primene enter metode logističke regresije kao statistički značajni prediktori za nastanak kliničke sepse su identifikovani primena neinvazivne ventilacija ( $p = 0,017$ ; Exp(B) 2,439, IP 1,171-5,078) i CRE kolonizacija ( $p = 0,085$ ; Exp(B) 1,858, 0,918-3,762).

Od 60 ispitanika sa sepsom potvrđenom pozitivnom hemokulturom, 16 je imalo jednu epizodu sepse izazvanu ESBL-KP, dok je dvoje ispitanika imalo po dve epizode potvrđene sepse, od kojih je jedna bila izazvana ESBL-KP, tako da ukupno bilo 18 slučajeva potvrđene sepse izazvane ESBL-KP. Zbog činjenice da je ova bakterija bila najčešći uzročnik potvrđene sepse u ispitivanoj populaciji i da je nađena u kolonizaciji kod značajnog broja ispitanika, ispitivali smo prediktore sepse izazvane ESBL-KP korišćenjem univarijantne logističke regresione analize (tabela 4.43).

Tabela 4.43. Prediktori za nastanak potvrđene sepse i povezanost sa boleštimu prematuriteta, univarijantna logistička regresija

Potvrđena sepsa	Broj	%	p	OR	Interval poverenja (95%)
Muški pol	28	46,7	0,415	1,259	0,724-2,188
Vaginalni porođaj	26	43,3	0,064	1,700	0,969-2,985
Gestacija < 28 nedelja	15	25	0,002	2,804	1,446-5,435
Telesna masa <1000g	23	38,3	<0.001	4,543	2,493-8,280
Apgar skor u prvom minutu ≤ 7	53	88,3	0,018	2,580	1,175-5,665
Hospitalizacija >30 dana	56	93,3	0,002	22,180	3,022-162,783
OIN	46	76,7	0,001	3,068	1,618-5,818
Dani u OIN >7 dana	36	60	<0.001	3,895	2,197-6,906
HFOV	5	8,3	0,501	1,429	0,506-4,033
MV	34	56,7	0,003	2,344	1,339-4,104
NCPAP	29	48,3	0,011	2,072	1,184-3,627
TPI	18	30	0,326	1,360	0,736-2,513
VUK	46	76,7	0,001	2,977	1,546-5,732
ESBL-EC	54	90	0,999	*	*
ESBL-KP	40	66,7	0,122	1,585	0,855-2,839
CRE	27	45	<0.001	2,968	1,664-5,295
Prijemno odeljenje	3	5	0,082	0,342	0,102-1,145
Odeljenje izolacije	20	33,3	0,076	1,700	0,946-3,057
Prvo odeljenje specijalizovane nege	17	28,3	0,695	0,882	0,472-1,648
Drugo odeljenje specijalizovane nege	20	33,3	0,948	0,981	0,545-1,766
RDS	54	90	0,090	2,064	0,894-4,764
IVH	25	41,7	0,030	1,875	1,062-3,310
DAP	16	26,7	0,019	2,129	1,130-4,008
BPD	7	36,8	0,019	3,276	1,216-8,829
NEK	11	18,3	<0.001	12,496	4,164-37,504
ROP	33	55	0,001	2,692	1,534-4,724

\*nije moguće uraditi statističku analizu zbog malog uzorka

Statistički značajni prediktori ( $p < 0.05$ ) iz univarijantne logističke regresije su uključeni u multivarijantni model logističke regresije. Nakon primene enter metode logističke regresije kao statistički značajni prediktori za nastanak sepse potvrđene hemokulturom su identifikovani nekrotični enterokolitis ( $p < 0,001$ ; Exp(B) 8,723, IP 2,617-29,074), retinopatija prematuriteta ( $p = 0,012$ ; Exp(B) 2,378, IP 1,209-4,677) i CRE kolonizacija ( $p = 0,025$ ; Exp(B) 2,136, IP 1,101-4,145).

 Tabela 4.44. Prediktori za nastanak sepse izazvane ESBL-produkujućom *Klebsiella pneumoniae*, univarijantna logistička regresija

<i>Klebsiella</i> uzročnik sepse	Broj	%	p	OR	95% C.I.OR
Pol (ž)	12	66,7	0,107	2,284	0,837-6,229
Porođaj vaginalni	7	38,9	0,654	1,25	0,472-3,312

Tabela 4.44. Prediktori za nastanak sepse izazvane ESBL-produkujuća *Klebsiella pneumoniae*, univarijantna logistička regresija (nastavak)

<i>Klebsiella</i> uzročnik sepse	Broj	%	p	OR	95% C.I.OR
GN<28	8	44,4	0,825	1,155	0,322-4,139
TM<1000g	6	33,3	0,154	2,094	0,757-5,97
Apgar skor u prvom minutu $\leq 7$	16	88,9	0,17	2,841	0,64-12,607
OIN	9	50,0	0,565	0,757	0,293-1,955
Boravak na OIN >7 dana	8	44,4	0,558	1,338	0,505-3,548
HFOV	1	5,6	0,896	0,871	0,111-6,867
MV	7	38,9	0,977	1,014	0,383-2,684
NCPAP	6	33,3	0,889	0,931	0,341-2,545
TPI	4	22,2	0,812	0,871	0,279-2,721
VUK	9	50,0	0,406	0,668	0,259-1,728
Kolonizacija ESBL-KP	13	72,2	0,225	1,919	0,669-5,507
Prijemno odeljenje	1	5,6	0,418	0,429	0,056-3,315
Odeljenje izolacije	4	22,2	0,65	0,768	0,246-2,396
I odeljenje specijalizovane nege	8	44,4	0,125	2,119	0,811-5,536
II odeljenje specijalizovane nege	5	27,8	0,62	0,766	0,266-2,202
IVH ukupno	8	44,4	0,206	1,856	0,712-4,842
NEK	5	27,8	<0.001	11,224	3,402-37,031

Jedini značajan prediktor sepse izazvane ESBL-KP je bio nekrotizirajući enterokolitis, odnosno odnos šansi ispitanika sa nekrotičnim enterokolitisom da razviju sepsu je bio 11,2 puta veći u odnosu na one koji nisu imali NEK. Ipak imajući u vidu veliki interval poverenja, ovaj nalaz treba uzeti sa rezervom.



---

## 5. DISKUSIJA

---

U ovoj studiji je ispitivana kolonizacija multirezistentnim enterobakterijama kod prevremeno rođene dece hospitalizovane na Institutu za neonatologiju u Beogradu. Određena je učestalost kolonizacije, faktori rizika za kolonizaciju, brzina uspostavljanja kolonizacije i dužina njenog održavanja posle otpusta iz ustanove, kao i faktori rizika za nastanak infekcija. Kod selektovanih izolata ESBL-E i CRE detektovani su geni rezistencije i testirana je antimikrobna osetljivost. Ispitivanje je uključilo dve kohorte ispitanika (350 i 88) koji su odabrani metodom slučajnog izbora, a studija je sprovedena u periodu od januara 2018. do maja 2020. godine. Ključni rezultati ovog istraživanja su pokazali da je učestalost kolonizacije multirezistentnim enterobakterijama na otpustu iz Instituta za neonatologiju bila zabrinjavajuće visoka tj. da je 98,2% ispitanika bilo kolonizovano sa ESBL-E, a 25,1% sa CRE. Među rezistentnim vrstama su nađene *K. pneumoniae* i *E. coli*, pri čemu je načešće izolovana vrsta bila ESBL-produkujuća *E. coli* (ESBL-EC) (88%). U celini posmatrano, kod najvećeg broja ispitanika (68%) su istovremeno bile prisutne dve vrste multirezistentnih bakterija u različitim kombinacijama ESBL-E i CRE. Kolonizacija ESBL-produkujućom *K. pneumoniae* (ESBL-KP), nađena kod 58% ispitanika, bila je značajno češća kod ispitanika ženskog pola i onih koji su boravili na prijemnom odeljenju, što su ujedno bili i prediktori kolonizacije ovom bakterijom. Prediktori kolonizacije sa CRE su bili duži boravak u bolnici, boravak na OIN, primena VUK, NEK i boravak na odeljenima izolacije i na prvom odeljenju specijalizovane nege. Antibiotička terapija je takođe bila prediktor kolonizacije CRE i to primena meropenema, meropenema u kombinaciji sa ampicilin sulbaktamom, kolistinom, ceftazidimom ili vankomicinom i ampicilin sulbaktama sa kolistinom. Nezavisni prediktori kolonizacije sa CRE su bili NEK i terapija meropenemom. Od 350 ispitanika, sepsa potvrđena nalazom mikroorganizama u hemokulturi je dijagnostikovana kod 60 (17%) ispitanika, dok je kod 80 (23%) ispitanika postojala klinička sepsa koja nije laboratorijski potvrđena. Među potvrđenim slučajevima sepsi u 18 slučajeva (5%) uzročni agens je bila ESBL-KP. Ni u jednom slučaju tokom trajanja studije nije zabeležena sistemska infekcija izazvana CRE. Prediktori potvrđene sepse su bili manja gestacijska zrelost (<28 GN), telesna masa <1000g, boravak na OIN, primena mehaničke ventilacije, neinvazivne respiratorne potpore, plasiranje VUK i NEK. Prediktori kliničke sepse su bili boravak na OIN, mehanička ventilacija i neinvazivna respiratorna potpora, plasiranje VUK i IVH. Kolonizacija sa CRE bila značajno češća među ispitanicima sa potvrđenom sepsom, kao i bolesti prematuriteta, ROP, BDP, DAP i IVH. Prospektivno praćenje kolonizacije ESBL-E i CRE u drugoj kohorti ispitanika (N=88) je pokazalo da je do uspostavljanja kolonizacije dolazilo brzo i sa ESBL-EC i sa ESBL-KP, dok je kolonizacija CRE bila ređa i uspostavljala se kasnije. Na prijemu u ustanovu kolonizacija je već bila prisutna kod 17% ispitanika, a kolonizovani su većinom primljeni posle nekoliko dana boravka na OIN pri porodilištima u kojima su rođeni. Tokom prve nedelje hospitalizacije je zabeležen značajan porast učestalosti kolonizacije (od 17% do 48%), kao i četvrte nedelje kod subpopulacije duže hospitalizovanih ispitanika (od 29% do 82%). Kolonizacija CRE je detektovana prvi put u četvrtoj nedelji hospitalizacije kod 15% ispitanika i kod 17% krajem osme nedelje boravka u ustanovi. U drugoj kohorti učestalost sepse dokazane pozitivnom hemokulturom je bila 8%, a ESBL-KP je bila uzročnik 3% epizoda kod tri ispitanika koji su prethodno bili kolonizovani sa ESBL-KP. Međutim, zbog malog broja ispitanika, rizik za nastanak infekcije kod kolonizovanih nije mogao biti utvrđen. Praćenje perzistencije kolonizacije nakon otpusta je pokazalo da je kod većine kolonizovanih sa ESBL-KP u prvim mesecima posle otpusta dolazilo do dekolonizacije, dok je ESBL-EC imala tendenciju da perzistira, što je kod trećine ispitanika trajalo duže od godinu dana. Održavanje kolonizacije je praćeno kod 75 ispitanika koji su došli na najmanje jedan kontrolni pregled. Sveukupno, dekolonizacija je u toku perioda praćenja registrovana kod 28% ispitanika, perzistencija duže od godinu dana kod 27% ispitanika. U svim slučajevima perzistencije nađena je ESBL-EC, kod pet ispitanika je bila prisutna i ESBL-KP, a karbapenemaza –produkujuća *K. pneumoniae* (CP-KP) je perzistirala kod jednog ispitanika. Za 45% ispitanika status kolonizacije posle godinu dana je bio nepoznat. Sveukupno, perzistiranje kolonizacije je detektovano kod 33% kolonizovanih sa ESBL-EC, 11% kolonizovanih sa ESBL-KP i 8% kolonizovanih sa CP-KP. Svi izolovani sojevi ESBL-E i CRE kod prospektivno praćenih ispitanika su bili multirezistentni, a učestalost rezistencije na aminoglikozide koji se primenjuju uniformno kod svih pacijenata po prijemu u ustanovu, je bila visoka pre svega kod sojeva

ESBL-KP. Distribucija gena za ESBL je bila heterogena. Kod sojeva ESBL-EC *bla*CTX-M-15 je bila najčešća (79%), pri čemu je većina sojeva nosila kombinaciju ESBL gena: *bla*TEM/*bla*CTX-M-15 (44%) ili *bla*TEM/*bla*SHV (32%). Među ESBL-KP, *bla*TEM/*bla*SHV je nađeno kod 32% sojeva, *bla*TEM/*bla*CTX-M-15 kod 29%, a ostali izolati su nosili ili kombinaciju sva tri ili po jedan od pomenutih gena. CRE sojevi su bili osetljivi na kolistin, a detektovani geni rezistencije su bili *bla*OXA-487/*bla*CTX-M-15 kod osam sojeva i *bla*KPC/*bla*TEM/*bla*SHV kod preostalih sedam sojeva.

U našoj studiji kolonizacija multirezistentnim enterobakterijama, ESBL-E i CRE kod hospitalizovane prevremeno rođene dece je ispitivana na otpustu iz Instituta za neonatologiju. Uključeno je 350 ispitanika, što je otprilike polovina pacijenata koji se godišnje prime u ustanovu. Odabir ispitanika i uzorkovanje briseva sprovedeno u periodu od januara 2018. do aprila 2019. godine, što je dugačak vremenski okvir koji omogućava da se problem sagleda sveobuhvatnije. Dve trećine ispitanika (66,3%) je rođeno carskim rezom, te je prirodni proces uspostavljanja primarne kolonizacije digestivnog trakta narušen činjenicom da nisu došli u direktan kontakt sa mikroorganizmima iz porođajnog trakta majke. Na taj način otvoreno je mesto za naseljavanje bakterijskih sojeva iz bolničke sredine. Kod manjeg broja, 26,9% ove novorođenčadi došlo je do prevremene rupture plodovih ovojaka, čime je omogućen prodor bakterija u intrauterusno okruženje i mogući nastanak infekcije ploda. Zbog navedene činjenice, većina novorođenčadi sa anamnestičkim podatkom za PROM, neposredno po rođenju dobija inicijalnu antimikrobnu terapiju, što se takođe odražava na adekvatno uspostavljanje kolonizacije. S obzirom da je kolonizacija detektovana na otpustu, udeo i učestalost intrapartalnog prenosa nije mogla biti utvrđena, a ni isključena. Oko polovina naših ispitanika je rođena veoma nezrela ( $\leq 32$  nedelje gestacije), odnosno sa veoma malom telesnom masom ( $\leq 1500$  grama). Hospitalizacija je kod najvećeg broja ispitanika (49%) trajala 30 do 60 dana, dok je trajanje hospitalizacije od 90 i više dana bilo sprovedeno kod 13,4% ispitanika. Nešto više od polovine ispitanika je boravilo na OIN i zahtevalo neinvazivnu respiratornu potporu, dok je na mehaničkoj ventilaciji bilo 40% ispitanika, a VUK je plasiran kod 60% ispitanika. Sve navedeno ukazuje na stepen vulnerabilnosti ispitivane populacije kao i specifičnost samih ispitanika. Analiza kolonizacije ESBL-E i CRE u ovoj studiji, pokazala je da je čak 344 ispitanika bilo kolonizovano sa ESBL-E, odnosno da samo 6 ispitanika nije bilo kolonizovano nekom od traženih bakterija. Ovako visoka stopa kolonizacije je izuzetno zabrinjavajuća. I kolonizacija CRE je nađena kod četvrtine ispitanika (88/350), što je alarmantan nalaz imajući u vidu pretnju koju CRE predstavljaju. Moramo napomenuti da pored navedenih bakterija, tokom sprovedenog istrraživanja u rektalnim uzorcima od pacijenata je nađeno mnoštvo drugih rezistentnih bakterija, koje nisu bile tema ovog istraživanja. Među njima su *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, vankomicin rezistentan enterokok i drugi. Svi navedeni patogeni su svrstani među najznačajnije uzročnike bolničkih infekcija, ali i prouzrokovala kasne neonatalne sepse i epidemija na odeljenjima neonatalne intenzivne nege<sup>236</sup>. Tokom našeg istraživanja prijavljene su dve epidemije na Institutu za neonatologiju, jedna izazvana *Acinetobacter baumannii*, koja je opisana od strane Gajić i saradnika<sup>237</sup> i druga epidemija izazvana *Burholderia cepacia*. Slučajevi infekcija ESBL-E se sporadično javljaju, dok se infekcije izazvane CRE nisu javljale tokom perioda istraživanja, a ni pre toga, sa izuzetkom velike epidemije 2017. godine čiji je uzročnik bila *K. pneumoniae* koja je bila rezistentna na karbapeneme i kolistin. ESBL-E i to ESBL-KP je među najčešćim uzročnicima sepsi u Institutu za neonatologiju, što je bio i jedan od povoda da sprovedemo studiju o kolonizaciji ovim bakterijama.

U Srbiji je malo studija rađeno o kolonizaciji rezistentnim bolničkim patogenima, a dostupni podaci se odnose uglavnom na kolonizaciju vankomicin rezistentnim enterokokom (VRE)<sup>238,239</sup>. U sprovedenim istraživanjima, stope kolonizacije VRE su bile oko 30% u adultnoj populaciji pacijenata hospitalizovanih u univerzitetskim bolničkim centrima u Beogradu<sup>239</sup> i >40% među pacijentima na odeljenju hematološke intenzivne nege<sup>238</sup>. U našoj studiji kolonizacija ESBL-E je bila prisutna kod 98,2% pri čemu je više od trećine ispitanika bilo kolonizovano sa ESBL-EC i ESBL-KP. U svetu, brojne studije su istraživale kolonizaciju ESBL-E i CRE, ali koliko je nama poznato, ovako visoke

stope nisu nađene u drugim sredinama. Kolonizacija ESBL-E je u globalno u porastu čak i među zdravim ljudima <sup>123</sup>, a u bolničkim sredinama su više stope prisutne u manje razvijenim delovima sveta. Analiza učestalosti ESBL-E na neonatološkim odeljenjima u Engleskoj i Velsu iz 2011. godine je pokazala da je oko četvrtina novorođenčadi kolonizovana, ESBL-EC ili ESBL-KP <sup>240</sup>. U SAD, stope kolonizacije među hospitalizovanom novorođenčadi su vrlo niske <sup>241</sup>. U Italiji (u Palermu) je tokom petogodišnjeg perioda praćenja (2009-2014. godine), učestalost kolonizacije ESBL-E u neonatalnim OIN bila niža (<12%) <sup>242</sup>. Studija sprovedena na odeljenjima intenzivne i poluintenzivne neonatološke nege u Nemačkoj je pokazala da je učestalost kolonizacije MDR Gram negativnim bakterijama bila 26% <sup>176</sup>, ali su ESBL-E nađene u malom procentu, a većina izolata je pokazivala druge tipove rezistencije. U Izraelu je učestalost kolonizacije ESBL-KP bila 24% na neonatalnoj intenzivnoj nezi <sup>194</sup>. Značajno više stope kolonizacije su pokazane u manje razvijenim zemljama. U Indiji, prisustvo ESBL-E kolonizacije je nađeno kod zdrave novorođenčadi koja nisu bila izložena prethodnoj antibiotskoj terapiji ili hospitalizaciji <sup>243</sup>. U Etiopiji npr. među zdravom decom tokom višegodišnjeg perioda je nađeno 17% kolonizovanih sa ESBL-E, najčešće *E. coli*, a ređe *K. pneumoniae* <sup>244</sup>, dok je niža učestalost kolonizacije od 11% zabeležena među hospitalizovanom novorođenčadi, gde je ESBL-KP bila najčešća u kolonizaciji <sup>245</sup>. Rekordne stope kolonizacije od čak 59% su pokazane u centralnoj Africi i to kod zdrave dece <sup>246</sup>. U Gvineji Bisao je stopa kliconoštva u pedijatrijskoj populaciji iznosila 33% <sup>247</sup>. Studija u Keniji je pokazala da je na prijemu u bolnicu stopa kolonizacije novorođenčadi sa ESBL-E bila 10%, ali tokom boravka u bolnici dolazilo je do uspostavljanja kolonizacije, pa je njena učestalost na otpustu bila 55% <sup>248</sup>. U Maroku je na prijemu u OIN kolonizacija ESBL-E nađena kod 22% novorođenčadi, koja su uglavnom prethodno već boravili na odeljenjima neonatalne intenzivne nege u porodilištima <sup>249</sup>. Na neonatološkim odeljenjima u Ekvadoru je primećena učestalost kolonizacije od 56% <sup>250</sup>, slično kao i na Haitiju <sup>251</sup>. Porast učestalosti kolonizacije ESBL-E se beleži u mnogim bolničkim sredinama <sup>242</sup>. Najviše stope kolonizacije ESBL-E od 85% su nađene među hospitalizovanom prevremeno rođenom decom 2017. godine u Maleziji <sup>252</sup> i u pedijatrijskoj populaciji u Gabonu, do čak 94% <sup>253</sup>. Interesantno je da je u Maleziji 2000. godine u istovetnoj populaciji ispitanika kolonizacija ESBL-E bila mnogo ređa (26%), što ukazuje ili na lokalne promene u merama prevencije širenja, ili alarmantni porast učestalosti rezistencije <sup>254</sup>. Na osnovu iznetih podataka jasno je da su razlike u učestalosti ESBL-E značajne kako u različitim populacijama (prevremeno rođeni, pedijatrijska odeljenja i sl.) tako i među različitim bolničkim sredinama u svetu. Kada je u pitanju kolonizacija sa CRE, u našoj studiji je nađena veoma visoka stopa od 25,1%. Uopšte uzev, učestalost CRE kolonizacije je globalno niska, ali je njena pojava posebno zabrinjavajuća <sup>255</sup>. U poređenju sa istraživanjima kolonizacije ESBL-E, o kolonizaciji izazvanoj CRE ima daleko manje objavljenih podataka <sup>256,257</sup>. Učestalosti kolonizacije sa CRE u pedijatrijskoj populaciji su, kao i za ESBL-E, znatno niže u razvijenim zemljama u odnosu na manje razvijene sredine. U SAD je tokom višegodišnje studije sprovedene u nekoliko bolničkih ustanova među decom bilo 4,5% izolata koji su rezistentni na karbapeneme <sup>256</sup>. U Italiji u neonatološkim odeljenjima, iako je nekoliko epidemija opisano u različitim delovima zemlje, učestalost kolonizacije CRE je bila uglavnom niska <sup>242,258</sup>. U studiji sprovedenoj u adultnoj populaciji u Nemačkoj tokom do tada najveće epidemije izazvane blaKPC *K. pneumoniae* u toj zemlji, za vreme trogodišnjeg perioda trajanja epidemije, do uspostavljanja kolonizacije je došlo kod čak 58% pacijenata uključujući one koji su razvili infekciju <sup>263</sup>. U Indiji je učestalost kolonizovane novorođenčadi sa CRE bila 9% <sup>259</sup>. Studija sprovedena u Kini je pokazala da je u jednici neonatalne intenzivne nege (engl. neonatal intensive care unit – NICU) učestalost CRE kolonizacije bila 11% <sup>260</sup>, a više od polovine ispitanika koji su boravili duže od tri nedelje su postajali kolonizovani. I u Maroku je pokazano da je na prijemu na neonatološka odeljenja i na NICU kolonizacija CRE bila prisutna kod oko 9% novorođenčadi, dok je na otpustu beležena stopa od 22% <sup>249</sup>. Do sada, najviša učestalost kolonizacije CRE od 65% kod hospitalizovane novorođenčadi je pokazana na NICU u Vijetnamu <sup>261</sup>. U bolničkoj sredini u adultnoj populaciji u Iranu je takođe je nađena alarmantna učestalost CRE kolonizacije od 56% <sup>262</sup>. Ipak do intrahospitalne transmisije dolazi i u centrima gde se sprovode sve mere prevencije transmisije. Ipak, moramo napomenuti da iako se intrahospitalni prenos češće dešava u sredinama sa manje resursa i u

nerazvijenim zemljama nižeg socio-ekonomskog nivoa, do transmisije dolazi i u centrima gde se mere prevencije sprovode na najvišem nivou.

U svetlu prikazanih podataka, rezultati našeg istraživanja jesu zabrinjavajući, ali ne i neočekivani. Institut za neonatologiju je jedinstvena ustanova od nacionalnog značaja koja obezbeđuje specijalizovanu negu prevremeno rođene novorođenčadi i novorođečadi rođene u terminu kojoj je potrebna produžena i specijalizovana nega. Specifičnost Instituta za neonatologiju je da, uprkos činjenici da predstavlja isključivo neonatološku jedinicu u kojoj se sprovodi neonatalna intenzivna nega tercijarnog nivoa, on nije deo perinatalnog centra, odnosno da nije integrisan sa porodilištem. Hospitalizovana novorođenčad su izuzetno heterogena grupa, transportovana iz raznih bolnica širom zemlje, nekad i iz inostranstva i različitog su opšteg stanja. Ispitanici obuhvaćeni našom studijom su se razlikovali po mestu rođenja, tj. rođeni su u različitim porodilištima u Srbiji. Više od dve trećina ispitanika u ovoj studiji (69,4%) transportovano je iz „velikih porodilišta“, koja pripadaju regionalnim perinatalnim centrima u kojima se sprovodi intenzivna nega. Objašnjenja za ovu neobičnu činjenicu bi mogla da budu nedovoljan kapacitet odeljenja neonatalne intenzivne terapije i nege u tim porodilištima, nedostatak adekvatne opreme za sprovođenje svih procedura neonatalne intenzivne terapije (npr. visokofrekventne ventilacije, primena inhalatornog azot monoksida, kontrolisane terapijske hipotermije) i nemogućnost produžene nege koja je često neophodna prevremeno rođenoj deci. Zbog činjenice da se skrining kolonizaciju GIT-a novorođenčadi na prijemu u Institut za neonatologiju ne vrši, a da se pacijenti primaju iz velikog broja različitih centara, postoji značajna verovatnoća unosa multirezistentnih bakterija. Visoka stopa kolonizacije pacijenata u bolničkoj sredini doprinosi daljoj transmisiji<sup>121</sup>. U Institutu za neonatologiju, svi primljeni pacijenti dobijaju inicijalnu antimikrobnu terapiju, a nekad i druge antibiotiske terapije (kao što je bio slučaj kod više od polovine naših ispitanika). Zbog pomenute česte upotrebe antibiotika, očekivano je da postoji visok rizik za selekciju rezistentnih mikroorganizama, čiji je nastanak, opstanak i širenje olakšano. Priroda pacijenata kod kojih mikrobiota nije formirana već njen razvoj započinje u bolničkoj sredini, je dodatni faktor rizika, pa je zato prisustvo kolonizacije rezistentnim patogenima nađeno u ovom istraživanju delom očekivano. Pored svega navedenog, ima i nekoliko dodatnih objašnjenja za nalaz visoke učestalosti kolonizacije. Prvo, sam dizajn studije u kojoj je status kolonizacije određivan na otpustu je najverovatnije doprineo višim učestalostima, jer je poznato da dužina hospitalizacije povećava rizik kolonizacije<sup>255,264</sup>, a kod naših ispitanika, u proseku hospitalizacija je bila duga:  $54,2 \pm 34,9$  dana. Takođe, u mnogim gore pomenutim studijama praćenje kolonizacije je rađeno samo na OIN, gde je boravak pacijenata uglavnom kraći što sve treba uzeti u obzir prilikom tumačenja naših rezultata. Ipak, treba napomenuti da bi uvođenje skrininga na prijemu moglo značajno smanjiti učestalost kolonizacije, kao što je pokazano u brojnim studijama<sup>264</sup>. U Izraelu je tako tokom četvorogodišnjeg perioda od uvođenja skrininga i izolacije kolonizovanih, učestalost kolonizacije ESBL-KP snižena sa 24% na 11%<sup>194</sup> u neonatalnoj intenzivnoj nezi. I u zemljama sa niskom stopom infekcija izazvanih ESBL-E, kao što je Nemačka, pokazano je smanjenje učestalosti infekcija nakon uvođenja skrininga<sup>265</sup>. Od 2012. godine u toj zemlji je na snazi preporuka komisije za intrahospitalnu higijenu i prevenciju infekcija<sup>265</sup> da se vrši nedeljni skrining rektalne kolonizacije multirezistentnim bakterijama kod sve novorođenčadi koja borave na NICU. Time je snižen broj slučajeva sepsa na nivou države tj. snižena učestalost sepsi sa 2,02 % na 1,26%. Takođe, na osnovu ankete neonatologa u Nemačkoj, 94% lekara je prilagodilo terapiju u skladu sa rezultatima skrininga<sup>266</sup>. U Velikoj Britaniji rektalni skrining je preporučenu u slučaju izbijanja epidemije u NICU, a podaci još iz 2013. godine su pokazali da je u 20% neonatoloških NICU skrining uveden kao rutinska procedura<sup>267</sup>. U nekim ustanovama je skrining kolonizacije na prijemu u ustanovu uveden nakon izbijanja epidemija, što je bio slučaj u Irskoj gde posle epidemije izazvane ESBL-KP, a nakon uvođenja skrininga nisu zabeleženi novi slučajevi<sup>268</sup>. Takođe je u Švedskoj pokazano da se sprovođenje nedeljnog skrininga prisustva multirezistentnih bakterija u rektalnom brisu pokazalo kao dobra mera za prevenciju transmisije i infekcija posebno u populaciji prevremeno rođene dece<sup>269</sup>. Rezultati skrininga na osnovu kojih se pojačano sprovode preventivne mere je pokazano da rezultuje smanjenjem transmisije, do koje inače lako dolazi posebno među kolonizovanom

novorođenčadi veoma male telesne mase<sup>270</sup>. U studiji sprovedenoj u Španiji je postignuta uspešna eradikacija dva različita klona ESBL-KP sa neonatalnog OIN posle uvođenja nedeljnog skrininga i ostalih važnih mera uključujući temeljno čišćenje, smanjenje upotrebe cefalosporina i rigorozne mere prevencije kontaktne transmisije. Stopa mortaliteta i morbiditeta prevremeno rođene novorođenčadi koji imaju sepsu izazvana multirezistentnim bakterijama mnogo veća, naročito ukoliko je rutinska primena antibiotičke terapije neefektivna prema patogenu koji ju je izazvao<sup>257</sup>. Rezultati dobijeni skriningom kolonizacije mogli bi da povećaju verovatnoću izbora efektivnog antibiotika, kao što je u nekim studijama i pokazano<sup>271</sup>. Pored navedenog, dodatno u prilog neophodnosti procedure rektalnog skrininga govori i podatak o globalnom širenju karbapenem-rezistentnih bakterija koje predstavljaju jednu od najvećih pretnji zdravlju ljudi kada je reč o rezistentnim mikroorganizmima<sup>264</sup>. U Velikoj Britaniji je radi ograničenja širenja ove rezistencije preporučeno skrining prilikom prijema u bolnicu kod bolesnika izloženih antibioticima širokog spektra delovanja i kod svih kategorija imunokompromitovanih bolesnika, a navedene mere su od pomoći za zdravstvene ustanove jer odražavaju i upućuju na lokalnu epidemiološku situaciju<sup>272</sup>. Prema preporukama Evropskog udruženja za kliničku mikrobiologiju i infektivne bolesti (engl. European society for clinical microbiology and infectious diseases, ESCMID), u prevenciji infekcija izazvanih MDR Gram negativnim bakterijama, skrining kolonizovanih pacijenata bi trebalo sprovoditi u svim sredinama gde postoji rizik za unošenje patogena od spolja, a kod kolonizovanih pacijenata bi trebalo osim pojačanih higijenskih mera uvesti i mere sprečavanja prenošenja izolacijom pacijenta i merama kontaktne prevencije. Prema ESCMID preporukama u slučaju izbivanja epidemije, skrining bi bio obavezna praksa uz ostale mere otkrivanja izvora i suzbijanja širenja infektivnog agensa<sup>264</sup>.

Kada su u pitanju faktori rizika za uspostavljanje kolonizacije ESBL-E i CRE, brojne studije su pokazale postojanje niza faktora rizika za kolonizaciju<sup>194,236,252,257,264</sup>. U našoj studiji, zbog visoke učestalosti kolonizacije ESBL-EC (88%), faktori rizika za tu pojavu nisu mogli biti ispitani. Kolonizacija sa ESBL-KP, nađena kod 58% ispitanika, bila je značajno češća kod ispitanika ženskog pola i onih koji su boravili na prijemnom odeljenju. Primena VUK je bila protektivni faktor za kolonizaciju ovom bakterijom. Objašnjenje za veću učestalost kolonizacije na prijemnom odeljenju može biti u tome da se na ovo odeljenje Instituta za neonatologiju primaju pacijenti boljeg opšteg stanja i oni za koje se očekuje povoljan tok bolesti i kraća hospitalizacija. Odnos broja medicinskog osoblja i pacijenata je najmanji, što verovatno utiče na sprovođenje svih potrebnih mera prevencije transmisije, pa je to verovatni razlog veće stope kolonizacije. Protektivnost plasiranja VUK je verovatno slučajni nalaz, s obzirom da je učestalost ESBL-E uopšte bila veoma visoka. Povezanost pola i kolonizacije je pokazana u malom broju studija, a veća učestalost ESBL-E kod novorođenčadi muškog pola je nađena u Maleziji<sup>252</sup>, dok je u Brazilu tokom epidemije na NICU, kao i kod nas nađena češća kolonizacija ESBL-KP kod ispitanika ženskog pola<sup>236</sup>. U pomenutoj studiji u Maleziji je pokazano da su novorođenčad koja su primala beta laktamske antibiotike sa gentamicinom imala manji rizik da budu kolonizovani<sup>252</sup>, a niža telesna masa na rođenju nije bila faktor rizika za kolonizaciju, kao što je bilo i u našem istraživanju. Većina studija, međutim, pokazuje značajnu povezanost primene mehaničke ventilacije, VUK, parenteralne ishrane i dužinu hospitalizacije sa kolonizacijom ESBL-E<sup>242,254,257</sup>. U velikoj italijanskoj studiji primena antibiotika, ampicilin sulbaktama i dužina boravka na NICU, su bili nezavisni faktori rizika za ESBL-E kolonizaciju<sup>242</sup>, međutim stope kolonizacije nađene u pomenutom istraživanju su bile znatno niže u odnosu na one nađene kod naših ispitanika. Značajni faktori rizika za kolonizaciju ESBL-E su prema studijama rađenim i u razvijenim i u nerazvijenim zemljama bili mala gestaciona zrelost, niska porođajna telesna masa<sup>273-277</sup>, primena mehaničke ventilacije<sup>278,279</sup> i dužina hospitalizacije<sup>276,277</sup>. U studiji sprovedenoj u Indiji na neonatalnoj intenzivnoj nezi primećena je češća kolonizacija *K. pneumoniae* u odnosu na *E. coli*, a dužina boravka je bila značajno povezana sa rizikom kolonizacije<sup>280</sup>. Nijedna od gore navedenih varijabli nije identifikovana kao faktor rizika za ESBL-KP kolonizaciju u našem istraživanju. Objašnjenje bi moglo biti u visokoj učestalosti ESBL-E koja je moguće dostigla endemijski nivo u ustanovi, čime na diseminaciju a i kolonizaciju najverovatnije utiču i brojni drugi faktori koje nismo mogli sagledati. Takođe, u najvećem broju istraživanja ističe se značaj antibiotičke

terapije kao faktora rizika za ESBL-E kolonizaciju<sup>194,264,281</sup>. Prema rezultatima nedavno objavljene multicentrične studije u kojoj je učestvovala i naša zemlja, pokazano je da primena cefalosporina kao i karbapenema selektuje kolonizaciju ESBL-E u bolničkoj sredini<sup>282</sup>. U Izraelu je primena vankomicina kod prevremeno rođene dece bila faktor rizika za kolonizaciju ESBL-E<sup>283</sup>. U našoj kohorti, kolonizacija ESBL-KP je bila veoma česta i rizik za kolonizaciju je bio oko 30% viši kod ispitanika koji su primali duže inicijalnu antibiotsku terapiju, ili kombinaciju meropenema sa vankomicinom, uz napomenu da rezultat nije bio statistički značajan. Kada je u pitanju kolonizacija sa CRE, ona je nađena kod 25% naših ispitanika i značajno češće među ispitanicima koji su bili duže hospitalizovani, sa manjom telesnom masom (<1000g), nižim Apgar skorom, lečeni u OIN i izloženi invazivnim procedurama tj. inserciji VUK-a i češće su imali NEK i IVH. Takođe, učestalost dokazane sepse je bila značajno češća kod kolonizovanih sa CRE u odnosu na nekolonizovane. Kolonizovani su značajno češće primali različite kombinacije antibiotika koje su uključivale meropenem (kombinacije sa ampicilin sulbaktamom, kolistinom, ceftazidimom ili vankomicinom) i kombinaciju kolistin i ampicilin sulbaktam u terapiji. Interesantno je da tokom perioda studije nije zabeležen nijedan slučaj infekcije CRE, a učestalost nalaza u kolonizaciji je bila visoka. Prediktori kolonizacije CRE su u našoj studiji bili manja PTM (<1000g), duža hospitalizacija, lečenje u OIN i dužina boravka u OIN, insercija VUK-a, NEK i lečenje u odeljenjima izolacije i na prvom odeljenju specijalizovane nege, kao i sve prethodno navedene kombinacije antibiotika. U multivarijantnom modelu, identifikovani nezavisni prediktori kolonizacije CRE su bili primena meropenema i NEK. Imajući u vidu da ni kod jednog ispitanika kolonizacija sa CRE nije detektovana na prijemu u Institut za neonatologiju (u kohorti od 88 ispitanika), ova činjenica govori u prilog intrahospitalnog porekla i transmisije CRE unutar ustanove. Poznato je da *K. pneumoniae* ima tendenciju širenja u bolnici i da je poreklo sojeva često intrahospitalno, čak i u sredinama u kojima je sprovođenje mera za prevencije širenja i nastanka infektivnih bolesti na veoma visokom nivou<sup>264,271,284</sup>. Nalaz veće učestalosti kolonizovanih CRE u određenim odeljenjima ustanove, ukazuje na moguće razlike u postupcima nege i lečenja obolelih koje se sprovode na različitim odeljenjima ustanove. Prevremeno rođena deca su često izložena antibiotskoj terapiji zbog rizika za nastanak infekcija i zbog činjenice da je uzrok prevremenog porođaja često infekcija majke ili fetusa. Kako su u našoj studiji svi ispitanici primali inicijalnu terapiju, nije bilo kontrolne grupe sa kojom bi mogli uporediti uticaj te terapije na uspostavljanje kolonizacije. Pored inicijalne antimikrobne terapije (ampicilin i amikacin tokom 5-7 dana) 56% ispitanika je primalo dodatnu antibiotsku terapiju. Najveći broj ispitanika je primalo meropenem, sam ili u kombinaciji sa drugim antibiotikom. Rezultati naše studije govore u prilog činjenice da primena antibiotika nosi visok rizik za širenje rezistencije kako na nivou pojedinca tako i na institucionalnom nivou<sup>229</sup>. Primena meropenema je prema našim rezultatima bila jedan od najvažnijih faktora rizika za kolonizaciju CRE na otpustu, pa naši rezultati nisu iznenađujući i u skaldu su sa rezultatima drugih autora<sup>139,153,256,259</sup>. Upotreba antibiotika doprinosi selekciji rezistentnih bakterija, što sve dodatno utiče na veći rizik kolonizacije i ESBL-E i CRE kod prevremeno rođene dece<sup>5,285</sup>. Antibiotici jesu jedni od najčešće korišćenih lekova u odeljenjima neonatalne intenzivne nege<sup>286</sup>, a u skladu sa tom činjenicom posebno je alarmantan podatak da na jedno novorođenče u odeljenju intenzivne nege sa dokazanom infekcijom, između 11 i 23 novorođenčadi bez infekcije dobija antimikrobnu terapiju<sup>287</sup>. Skorašnje studije su pokazale da lečenje novorođenčadi empirijskom antimikrobnom terapijom (ampicilin i aminoglikozid) trostruko povećava rizik za nastanak infekcije rezistentnim bakterijskim sojevima za svaki dan primenjene terapije, dok davanje cefalosporina ovaj rizik uvećava više od 34 puta<sup>161</sup>. Iako uticaj antibiotske terapije na kolonizaciju nije bila tema ovog istraživanja, značajna potrošnja antibiotika koja je pokazana u našoj studiji je najverovatnije značajno doprinela visokim stopama kolonizacije.

U našem istraživanju učestalost sistemskih infekcija (sepsi) potvrđenih nalazom pozitivne hemokulture je bila 17%, a učestalost kliničke sepse 23%. Sepsa izazvana ESBL-KP je dijagnostikovana kod 5% ispitanika. Posmatrajući uzročne agense, najčešći izazivač potvrđene sepse je bila ESBL-KP (30%), a zatim koagulaza negativni stafilokok (28%), *Acinetobacter baumannii* (22%), *Burkholderia cepacia* (12%) i *Candida* spp. (8%). U 2017. godini prema zvaničnom izveštaju

ustanove učestalost sistemskih infekcija je bila značajno niža (9,2%). Razlog za ovakvu diskrepancu je najverovatnije činjenica da su tokom perioda istraživanja izbile dve epidemije, a to je sasvim sigurno doprinelo višoj stopi infekcija tokom trajanja istraživanja u poređenju sa prethodnim periodom. Pored epidemija, nalaz koagulaza negativnih stafilokoka u hemokulturi se nekada ne tumači kao sepsa, što takođe utiče na nađene stope. Svi najčešći uzročni agensi sepse u ovom istraživanju su bili rezistentni mikroorganizmi, a infekcije su nastale tokom perioda hospitalizacije. Poznato je da je bolnička sredina mesto gde je olakšana selekcija i širenje multirezistentnih patogena, što je posledica osetljivosti hospitalizovane populacije i selektivnog pritiska antibiotika koji se primenjuju značajno više nego u vanbolničkom okruženju. Poslednjih decenija je u svetu zabeležen porast učestalosti bolničkih infekcija <sup>171</sup>. U neonatološkoj populaciji, pogotovo među prevremeno rođenom decom, sve veći značaj imaju Gram negativni patogeni, posebno ESBL-E i CRE <sup>257</sup>. Naši rezultati pokazuju dominaciju ESBL-KP, ali i Gram negativnih nefermentujućih bacila, što možemo objasniti već pomenutim epidemijama za vreme trajanja studije. Kada je u pitanju ESBL-KP, bilo bi potrebno sprovesti detaljniju analizu sojeva primenom molekularnih tehnika, a dobijeni rezultati bi omogućila uvid u karakteristike i eventualnu povezanost sojeva. Nije isključeno da epidemija ESBL-KP postoji, iako se slučajevi javljaju sporadično, jer je jasno je da u ustanovi postoji značajan rezervoar ESBL-KP kao i intrahospitalna transmisija. Visoka učestalost rezistencije na peniciline, cefalosporine III i IV generacije i karbapeneme kod nefermentujućih Gram negativnih bacila uzročnika sepsi, ukazuje da je izbor terapijskih opcija za lečenje sepse u Institutu za neonatologiju vrlo sužen. Poznato je da je empirijska terapija u slučaju kad je infekcija izazvana sa ESBL-E je povezana sa češćim neuspehom terapije, što je pokazano i kod dece i u adultnoj populaciji <sup>172,173</sup>, a poznavajući uobičajene obrasce rezistencije najčešćih uzročnika, nije iznenađujuće što su terapijski režimi administrirani ispitanicima u našoj studiji najčešće uključivali meropenem sam, ili u kombinaciji sa drugim antibiotikom rezerve (vankomicinom, kolistinom, ampicilin sulbaktamom ili ceftazidimom). Podaci o infekcijama u neonatološkoj populaciji u Srbiji su retki, a u studiji rađenoj 2012. godine u Kragujevcu je pokazano da je učestalost potvrđene sepse bila 19,4%, a uzročni agensi *Klebsiella-Enterobacter* spp. (39%), zatim *E. coli* (25%), koagulaza negativni stafilokok (16%), *Acinetobacter* spp. (11%) i *Candida albicans* (5%) <sup>229</sup>. Ovakvi nalazi su uporedivi sa našim rezultatima i prema stopi i prema distribuciji uzročnih agenasa. U razvijenijim zemljama koagulaza negativni stafilokok je jedan od najznačajnijih patogena odgovornih za nastanak kasne neonatalne sepse <sup>162</sup>, dok je u našoj studiji bio treći po učestalosti. U nedavno objavljenoj studiji u Francuskoj među uzročnicima kasne NS, koagulaza negativne stafilokoke su dominirale u čak dve trećine slučajeva, a zatim *S. aureus* i *Enterococcus* spp., dok je samo 11% slučajeva sepse bilo izazvano Gram negativnim bakterijama <sup>288</sup>. Slične rezultate je pokazala i multicentrična studija sprovedena u Holandiji i Belgiji <sup>187</sup>. Predominaciju koagulaza negativnih stafilokoka kao izazivača neonatalne sepse je pokazana i u istraživanju sprovedenom tokom višegodišnjeg perioda u Turskoj <sup>289</sup>. Nasuprot tome, tokom sedmogodišnje studije sprovedene u Kini <sup>290</sup>, kod prevremeno rođene dece Gram negativne bakterije su bile uzročnici 58% kasnih NS, a najčešći uzročnik je kao i u našoj studiji bila *K. pneumoniae* (32%). Slična distribucija uzročnika i predominacija Gram negativnih bakterija je pokazana u manje razvijenim zemljama <sup>291</sup>. U našem istraživanju, 58% ispitanika je bilo kolonizovano sa ESBL-KP. Ova bakterija je bila uzročnik sepse kod 18 ispitanika. Analizirajući prediktore sepse izazvane ESBL-KP, samo je NEK pokazan kao parametar značajno udružen sa pojavom sepse uzrokovane ESBL-KP. Naime, pacijenti sa NEK su imali jedanaest puta veći rizik za razvoj sepse izazvane ESBL-KP u odnosu na ispitanike koji nisu razvili NEK. Povezanost NEK i sepse je detaljnije objašnjena u daljem tekstu. Ono što treba naglasiti je da je oko 72% ispitanika koji su imali sepsu izazvanu ESBL-KP, na otpustu iz ustanove bili kolonizovani sa ESBL-KP. S obzirom da u ovom istraživanju nije ispitivana klonalna povezanost izolata, nije bilo moguće odrediti da li su svi sojevi nađeni u kolonizaciji bili podjednako zastupljeni i među uzročnicima sepse. Svakako, pošto status kolonizacije u trenutku nastanka sepse takođe nije bio poznat, kolonizaciju nismo mogli dovesti u vezu sa nastankom sepse. Međutim, više studija je pokazalo da posle infekcije izazvane ESBL-E uzročni agens se produženo izlučuje i ima tendenciju da perzistira u kolonizaciji <sup>149,151,292</sup>. To je



moguće bio slučaj i među našim ispitanicima koji su bili kolonizovani na otpustu sa ESBL-KP a prethodno imali epizodu sepse izazvane ESBL-KP.

Poznato je da prevremeno rođena deca imaju veći rizik za razvoj infekcija i da su one najznačajniji uzrok mortaliteta i morbiditeta ove populacije (Saigal, Lancet). Osim izražene sklonosti nastanku sistemskih infekcija, infekcije mogu izazvati brojne i dugoročne posledice (Stunk Lancet). U našem istraživanju prediktori sepse potvrđene nalazom pozitivne hemokulture su bili manja gestacijska starost (<28 GN), niža telesna masa <1000g, niži Apgar skor, boravak i dužina boravka na OIN, primena mehaničke ventilacije, primena neinvazivne respiratorne potpore, plasiranje VUK-a i duža hospitalizacija. Prediktori kliničke sepse su bili slični kao i za potvrđenu sepsu a to su bili manja gestacijska starost (<28 GN), telesna masa <1000g, niži Apgar skor, boravak i dužina lečenja u OIN, mehanička ventilacija, neinvazivna respiratorna potpora, plasiranje VUK-a i duža hospitalizacija. Nezrelost, kao jedan od najvažnijih faktora rizika za nastanak infekcija novorođenčadi, je u značajnoj meri bila zastupljena kod ispitanika u studiji, od kojih je polovina rođena veoma nezrela. Veoma mala telesna masa i porođaj pre 32. nedelje gestacije dokazani su u brojnim studijama kao rizici za bolničke infekcije, a njihova učestalost raste sa povećanjem trajanja hospitalizacije<sup>168</sup>. Kolonizacija sa CRE bila značajno češća među ispitanicima sa potvrđenom sepsom (45% kolonizovanih) kao i ispitanicima sa kliničkom sepsom (31% kolonizovanih) u odnosu na ispitanike koji nisu imali nikakve znake infekcije (17% kolonizovanih). Međutim, imajući u vidu da nijedan slučaj infekcije izazvane CRE nije zabeležen, kao i da status kolonizacije nije bio poznat u trenutku razvoja sepse, nema nikakvih indicija da je veza CRE kolonizacije i sepse uzročno-posledična. Naprotiv, verovatnije je da su ispitanici sa infekcijama bili izloženi višestrukim antibiotskim kurama, što je sledstveno omogućilo i/ili olakšalo kolonizaciju CRE. U studijama koje su ispitivale vezu između kolonizacije CRE i nastanka infekcija izazvanih sa CRE, kolonizacija je pokazana kao značajan faktor rizika. Tako je na neonatološkoj intenzivnoj nezi u Kini pokazano da je 19% kolonizovanih sa CR-KP razvilo infekciju, a rizik je bio manji (13%) ako je u kolonizaciji bila prisutna CR-EC<sup>260</sup>. Prema rezultatima meta-analize rizik nastanka infekcije izazvane CRE je bio 16,5% kod onih kod kojih je prethodno detektovana kolonizacija sa CRE<sup>293</sup>. Kolonizacija sa CRE bez nastanka infekcije je pokazana u nekim studijama u Grčkoj i Meksiku<sup>294,295</sup>. Najverovatnije objašnjenje za nalaz naše studije je u virulenciji CRE sojeva i njihovom patogenom potencijalu. Poznato je da nemaju svi CRE sojevi podjednaku sposobnost transmisije i izazivanja infekcija i da su određeni sojevi naročito virulentni kao npr. ST16 (engl. sequence type)<sup>296</sup> ili ST258 klon čija je propagacija globalna<sup>297</sup>, a prisustvo dokazano i u našoj zemlji<sup>298</sup>.

Nađena je povezanost bolesti prematuriteta IVH, NEK, DAP, BDP i ROP sa laboratorijski potvrđenom sepsom, kao i značajna udruženost DAP, BDP, ROP i IVH sa pojavom kliničke sepse. Navedene bolesti, često su uzrok produženog boravka u OIN, a neka od njih mogu predstavljati i osnov za nastanak infekcije. Postojanje RDS-a, nije izdvojeno kao faktor koji je češće udružen sa sepsom. Ovo akutno stanje doživelo je značajnu revoluciju u ishodu sa razvojem savremene neonatalne intenzivne nege, i od najvećeg uzroka smrtnosti prevremeno rođene dece u prošlosti, danas predstavlja stanje gde se merema antenatalne brige i adekvatnom stabilizacijom novorođenčeta u porođajnoj sali može i izbeći<sup>34</sup>. Nepovezanost RDS-a sa sepsom u našoj studiji, može se objasniti time što poštovanjem savremenih principa lečenja ove bolesti kod najvećeg broja prevremeno rođene novorođenčadi ne dolazi do komplikacija i nepovoljnih ishoda. Takođe, ovo je grupa prevremeno rođene dece koja je specifično zahtevala lečenje u tercijarnom centru, ili zbog potrebe za lečenjem u intenzivnoj nezi, ili zbog ekstremnog prematuriteta, pa smatramo da je i sama učestalost RDS kod svih ispitanika bila veća. Potreba za mehaničkom ventilacijom i neinvezaivna mehanička potpora, stoga bi bili bolji pokazatelji rizika za sepsu (dokazanu i kliničku), što je i pokazano u našoj studiji, ali i potvrđeno u brojnim radovima<sup>299,300</sup>.

Jedan od dobro poznatih uzroka sepse kod prevremenorođenih je NEK. U našoj studiji, povezanost NEK-a, kao faktora rizika za nastanak sepse, dokazana je samo u grupi ovorođenčadi sa dokazanom sepsom (izolacija bakterije u hemokulturi), dok u grupi sa kliničkom sepsom, ova povezanost nije dokazana. Razlog ovakvom rezultatu može ležati u činjenici da NEK u svojoj multifaktorijalnoj etiopatogenezi pored ishemije i enteralnog unosa hrane, kao značaj faktor ima i

prisustvo bakterija u crevima, koji svojim zajedničkim dejstvom dovode do nekroze sluznice, a potom i dubljih slojeva creva. Posledično, može doći do prodora ovih bakterija u cirkulaciju novorođenčeta i nastanka sepse praćene teškom cirkulatornom insuficijencijom i diseminovanom intravaskularnom koagulacijom<sup>301</sup>. Translokacija bakterija koje se nalaze u GIT-u i njihova invazija kroz sterilni zid creva naročito su izraženi kod crevnih opstrukcija, ali i nezrelosti GIT-a prevremeno rođene novorođenčadi, čija pasaža je inače usporena<sup>302</sup>. Smatra se da približno 12% novorođenčadi VMTM razvije NEK, od kojih skoro 30% ne preživi ovo teško stanje<sup>60</sup>. Studija NICHD (engl. National institute of child health and human development) za period 2000-2011 godine, navodi učestalost NEK-a u grupi novorođenčadi ekstremno male telesne mase od 23 do 30%, ali sa smanjenjem stope mortaliteta<sup>81</sup>. Univarijantnom logističkom regresijom, NEK je potvrđen kao jedan od najznačajnijih činilaca udruženih sa dokazanom sepsom kod naših ispitanika. Uprkos značajnom napretku u smanjenju učestalosti kasne neonatalne sepse, koja se prema podacima Vermont Oksford mreže (<https://public.vtoxford.org>) smanjila sa 21,9% u 2005. na 10,1% u 2014. godini, učestalost NEK-a se smanjila samo sa 7,1% na 5,2%<sup>303</sup>. Učestalost ove bolesti u našoj grupi ispitanika iznosila je 4,6%, za svu prevremeno rođenu decu, što se uklapa sa podacima internacionalne komparabilne studije VON. Više studija je izdvojilo patološku kolonizaciju GIT-a kao jedan od najznačajnijih faktora za nastanak NEK-a<sup>56,81,304</sup>. Jedan od osnovnih uslova smanjenja patološke kolonizacije, a time i učestalosti NEK-a i kasne sepse kod novorođenčadi bio bi smanjenje upotrebe antibiotika, bolje higijenske mere (pre svega higijena ruku), sprovođenje ishrane majčinim mlekom. U slučajevima nemogućnosti ishrane majčinim mlekom, ishrana donorskim mlekom ili suplementacija komponentama humanog mleka kao što su probiotici, prebiotici i laktoferin može biti od koristi<sup>305</sup>. U tom cilju, u Institutu za neonatologiju je oformljena Banka mleka i sporovodi se ishrana donorskim mlekom. Takođe, kod sve prevremeno rođene dece sprovodi se prevencija NEK-a i kasne sepse primenom preparata probiotika, što je potvrđeno i savremenim istraživanjima<sup>306</sup>. Prisustvo i rast probiotskih bakterija u crevu, modifikuju crevnu mikrobiotu inhibicijom prekomernog rasta i traslokacije patogenih bakterija u crevu<sup>307,308</sup>. Uprkos činjenici da je veliki broj studija pokazao smanjenu učestalost kasne sepse i NEK-a preventivnim davanjem probiotika<sup>308</sup>, mali broj radova prikazuje njihov uticaj na kolonizaciju GIT-a novorođenčadi multirezistentnim bakterijama. Veoma značajno istraživanje Wieersa i saradnika o mogućnostima prevencije crevne kolonizacije multirezistentnim sojevima bakterija primenom preparata probiotika, rađeno na adultnoj populaciji, pokazalo je efikasnost njihove primene u smanjenju kolonizaciji multirezistentnim sojevima<sup>309</sup>. Iako korišćeni sojevi probiotika nisu preporučeni za prevenciju kasne neonatalne sepse i NEK-a od strane pedijatrijskih vodiča<sup>310-312</sup>, paralela u efikasnosti ovih preparata svakako može biti pretpostavljena. Ipak, studija Poljskih autora, pokazala je da primena *Lactobacillus rhamnosus*, kod prevremeno rođene dece na ishrani adaptiranom mlečnom formula nije dovela do smanjene kolonizacije patogenim enterobakterijama, već je rezultirala njenim povećanjem<sup>313</sup>. U našoj studiji, izrazito velika stopa kolonizacije novorođenčadi multirezistentnim sojevima bakterija (98,2%) desila se uprkos primeni probiotika. Kao i kolege iz pomenute studije, ni mi ne možemo pružiti sigurno objašnjenje za ovaj podatak. Priprema, skladištenje mleka, mešanje sa probiotskim preparatom i način ishrane obavljaju se po svim dobro ustanovljenim principima kojima se poštuju mere prevencije spoljašnjeg zagađenja. U cilju smanjenja kolonizacije creva patogenim bakterijama, pored kontrolisane i racionalizovane primene antibiotika, trebalo bi razmotriti dodatne mere sterilnosti pripreme i davanja mleka, ali i izbora adekvatnog probiotskog preparata u adekvatnoj dozi. Svakako bi studija ispitivanja kolonizacije GIT-a prevremeno rođene novorođenčadi tokom primene različitih preparata probiotika pomogla u uspostavljanju internog protokola za izbor preparata (jednokomponentni ili višekomponentni), probiotskih sojeva, doze, vremena započinjanja i trajanja primene, čime bi bila postignuta veća efikasnost ove preventivne terapije. Pored NEK-a, kao najznačajnijeg faktora udruženog s infekcijom, kod naših ispitanika pokazana je i značajna povezanost dokazane infekcije novorođenčadi sa BPD i ROP-om. Bronhopulmonalna displazija i ROP, spadaju i stanja koja su u značajnoj meri povezana sa neposrednim, akutnim problemima prematuriteta.

Pojava BPD povezana je sa primenom respiratorne potpore pozitivnim pritiskom i oksigenoterapije u cilju lečenja RDS-a prevremeno rođenog deteta. Pored barotraume i toksičnosti

kiseonika, infekcija može biti uzrok prekida alveolarizacije i razvoja mikrovaskulature pluća<sup>40</sup>. Neka stanja poput horioamnionitisa ili druge infekcije majke pobuđuju fetalni inflamatorni odgovor i povećavaju učestalost BPD ali i ROP-a, kao vaskuloproliferativne bolesti<sup>314,315</sup>. Eksperimentalne studije na neonatalnim životinjama su pokazale da i postnatalne infekcije, bilo bakterijske ili virusne, pobuđivanjem inflamatornog odgovora sa povećanom ekspresijom citokina i povećanim nakupljanjem neutrofila u plućima, dovode do prekida u razvoju alveola što rezultira njihovom „pojednostavljenom“ građom, a smanjena ekspresija vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (engl. vascular endothelial growth factor, VEGF) dovodi do prekida u angiogenezi („novi“ BPD). Ovakve promene zapažene su kod prevremeno rođenih animalnih modela i bez sprovođenja respiratorne potpore<sup>316-319</sup>. Pokazano je da primena antenatalne kortikosteroidne terapije značajno smanjuje učestalost RDS-a, ali bez uticaja na učestalost BPD<sup>320</sup>, što takođe može ići u prilog multifaktorijalnoj etiopatogenezi BPD i značaju infekcije za njen nastanak<sup>321</sup>. Potreba za produženom hospitalizacijom, primena respiratorne potpore, a u najtežim slučajevima i terapija kortikosteroidima, mogu pretpostavljeno biti faktori rizika za nastanak kasne sepse kod ove novorođenčadi.

Mnoge studije su pokazale udruženost sepse i ROP. Dobro je poznati da su glavni rizici za razvoj ROP osim ekstremne nezrelosti oksidativni stres i postojanje sistemske inflamacije<sup>65</sup>. Al-Essa i saradnici su pokazali da je učestalost ROP kod prevremeno rođene novorođene novorođenčadi sa sepsom 3,5 puta veća u odnos na istu kategoriju bez sepse (OR = 3.50, 95% CI 1.02 to 12.2), dok su Araz i saradnici utvrdili da je sepsa nezavisni činilac za razvoj teških oblika ROP (OR = 6.86, 95% CI 3.14 to 14.99)<sup>322,323</sup>. Ipak, za ROP možemo reći da je uzrokovan sepsom, kao što je pokazano rezultatima ove studije, ali ne i suprotno, da je sepsa uzrokovana ROP-om.

Intraventrikularno krvarenje je jedna od čestih komplikacija prematuriteta čija je učestalost obrnuto srazmerna gestacijskoj starosti. Dobro je poznato, da je sepsa jedan od značajnih faktora rizika za nastanak IVH, kao što je i dokazano u ovom radu u kome su ispitanici sa potvrđenom sepsom imali 1,8 puta veći rizik za IVH (IP 1,062-3,31), dok su oni sa kliničkim znacima sepse imali 2,5 puta veću šansu da razviju IVH (IP 1,472-4,418). Meta analiza koja je obuhvatila 23 kohortne studije sa preko 13000 prevremeno rođene novorođenčadi sa IVH je potvrdila da čak i antenatalna infekcija predstavlja značajan faktor rizika (OR 2.18, 95% CI: 1.58–2.99) za kako blagih, tako i teških oblika IVH<sup>324</sup>. Novorođenčad s IVH, naročito težim oblicima (III i IV stadijum) češće zahtevaju produženu hospitalizaciju, primenu respiratorne i cirkulatorne potpore, što predstavlja moguće faktore rizika za nastanak sepse.

Dosta proučavana je pojava perzistentnog duktusa arteriozusa uzrokovanog sepsom čija je povezanost jasno dokazana. Smatra se da je sepsa, posle RDS-a, najčešći uzročnik DAP kod prevremeno rođene dece<sup>325</sup>. Povezanost je pokazana i sa ranom<sup>326</sup> ali i sa kasnom neonatalnom sepsom<sup>168</sup>. Kod novorođenčadi sa sepsom zapažene su povišene koncentracije prostaglandina (P PGF1 $\alpha$ ) i inflamatornog medijatora, TNF- $\alpha$  u serumu<sup>327</sup>. Takođe, sepsa je jedan od glavih faktora koji uzorkuje da nesimptomski DAP postane hemodinamski značajan<sup>328</sup>. Postoji nekoliko objašnjenja za navedeno: hipoksija usled respiratorne nedovoljnosti uslovljene infekcijom dovodi do rekacije duktusa, povećan unos tečnosti koji je često neophodan kod novorođenčadi sa sepsom u cilju održavanja sistemskog pritiska, kao i prisustvo određenih elemenata bakterija, kao što su na primer lipopolisaharidi, kao i citokini koji se otpuštaju tokom inflamatornog odgovora dovode takođe do relaksacije duktusa<sup>329-331</sup>. Jedna od najnovijih meta-analiza iz 2021. godine koja je ispitala faktore udružene s DAP, takođe navodi značajnu povezanost sa sepsom (OR = 1.994; 95% CI = 1.462–2.721)<sup>332</sup>.

U našem istraživanju u kohorti ispitanika kojima je prospektivno praćeno uspostavljanje kolonizacije, nađeno je da je učestalost kolonizovanih ESBL-E na prijemu u ustanovu bio visok (17%). Poznato je da je transmisija ESBL-E moguća tokom porođaja sa majke na plod i da vertikalna transmisija doprinosi širenju ove vrste rezistencije<sup>143</sup>. Postoji mogućnost da je do intraportalne transmisije došlo i kod nekog od ispitanika u našoj studiji, s obzirom da je 27% porođaja bilo vaginalnim putem i da je kod oko jedne trećine majki došlo do PROM. Ipak, udeo prenosa sa majki na novorođenčad nije moguće dokazati ni proceniti u ovoj studiji jer je uzorkovanje vršeno na

prijemu, a ne u porodilištima. Međutim, imajući u vidu da su svi izuzev jednog ispitanika, boravili nekoliko dana u neonatološkim intenzivnim negama pri porodilištima gde su rođeni, možemo pretpostaviti da je postojala i značajna mogućnost transmisije i kolonizacije u bolničkoj sredini gde su ispitanici prethodno boravili. Većina kolonizovanih je rođena carskim rezom (>70%) i transportovana iz velikih porodilišta, što su regionalni centri gde je omogućeno vođenje rizičnih trudnoća, što sve doprinosi povećanoj mogućnosti intrahospitalne transmisije<sup>145,255</sup>. I kod zdrave novorođenčadi u opštoj populaciji kolonizacija ESBL-E može biti prisutna. Tako je u studiji u SAD pokazano da je posle otpusta iz porodilišta i tokom prve godine života zastupljenost kolonizacije ESBL-E manja od 10%<sup>333</sup>. U nerazvijenijim zemljama Afrike i Azije učestalosti kod zdrave odojčadi su premašivale 30%<sup>247</sup>. Interesantne rezultate je pokazala studija sprovedena na odeljenju neonatalne intenzivne nege u Maroku, gde je kolonizacija sa ESBL-E prisutna kod 22% novorođenčadi na prijemu, najčešće nalažena kod pacijenata koji su prethodno boravili na neonatološkim odeljenjima većih bolničkih centara, kao što je primećeno i u našoj studiji<sup>249</sup>. U pomenutom istraživanju, ESBL-EC je bila dominantna vrsta detektovana na prijemu u ustanovu, dok je naknadno tokom boravka dolazilo do značajno češće akvizicije ESBL-KP, što nije iznenađujuće za bolničke sredine. Što se tiče cirkulacije ESBL-EC u bolničkoj sredini smatra se da postoji konstantni inluks sojeva iz vanbolničke sredine, pa da intrahospitalna akvizicija „uspešnih“ klonova nije prisutna samo u bolničkoj sredini, već da ona odražava cirkulaciju sojeva i van bolnice odnosno u populaciji. Sa druge strane ESBL-KP se smatra tipičnih bolničkim patogenom i pokazana je jasna tendencija njenog klonalnog širenja u bolničkim sredinama<sup>264</sup>. U studiji u Indiji je takođe primećena veća učestalost kolonizacije *K. pneumoniae* u odnosu na *E. coli*, na neonatalnoj intenzivnoj nezi<sup>280</sup>. U našoj studiji, međutim i na prijemu i nadalje tokom hospitalizacije bile su zastupljene i ESBL-EC i ESBL-KP. Trend uspostavljanja kolonizacije je još tokom prve nedelje hospitalizacije za obe vrste bio statistički značajan, mada je porast bio veći za ESBL-KP, a do povećanja učestalosti je došlo i u četvrtoj i u osmoj nedelji hospitalizacije. Jasno je da su prevremeno rođena deca izuzetno vulnerabilna humana populacija kojoj zbog opšte fiziološke nezrelosti je potrebna produžena nega do uspostavljanja funkcija organa i organskih sistema. Takođe, u svakoj bolničkoj sredini se nalaze mikroorganizmi od kojih su neki česti i značajni uzročnici infekcija. Formiranje mikrobiote novorođenčeta započinje intenzivno posle rođenja, odnosno u bolničkom okruženju kod prevremeno rođene dece. Zbog toga je rizik uspostavljanja kolonizacije potencijano opasnim bakterijama znatno veći nego u ostalim populacijama<sup>182</sup>. Ipak, u našem istraživanju do uspostavljanja kolonizacije je dolazilo brzo i učestalosti kolonizacije su bile visoke. Činjenica da je tokom prve sedmice 22% ispitanika postalo kolonizovano je nalaz koji ukazuje na visok nivo intrahospitalne akvizicije i transmisije ESBL-E u Institutu za neonatologiju. Jedan od razloga je najverovatnije odsustvo procedure skrininga i izolacije kolonizovanih u cilju sprečavanja dalje transmisije, što je mera preporučena da se primenjuje u svim visoko rizičnim populacijama među kojima su svakako i prevremeno rođena deca<sup>264</sup>. Sama neonatološka odeljenja, a posebno neonatalna intenzivna nega predstavljaju specifična okruženja kojima su prevremeno rođena deca izložena nekada i mesecima. Poznato je da je hospitalizacija važan faktor rizika za uspostavljanje kolonizacije<sup>145,297</sup>, što potvrđuju i rezultati drugih studija. Posmatrajući grupu ispitanika kod kojih je hospitalizacija uspostavljena u Institutu za neonatologiju (tokom prve nedelje boravka), uočavamo da su kolonizovani u prvoj nedelji bili boljeg opšteg stanja, tj. da su bili značajno veće gestacijske zrelosti, telesne mase, a značajno ređe su boravili na OIN, bili na mehaničkoj ventilaciji ili imali plasiran VUK. Prema uobičajenoj praksi u ustanovi, novorođenčad se na prijemu nakon zbrinjavanja i stabilizacije detaljno pregleda i u slučaju potrebe za hitnom i stalnom negom pacijenti se smeštaju na OIN, dok se novorođenčad boljeg opšteg stanja nekoliko dana zadržava na prijemnom odeljenju do dalje trijaže. Ona podrazumeva smeštanje na odeljenja specijalizovane nege za one kojima je potrebno duže lečenje, dok novorođenčad boljeg opšteg stanja za koju se proceni da će kraće imati potrebu za bolničkom negom ostaje na prijemnom odeljenju. Tako je ukupna dužina hospitalizacije bila značajno kraća kod ispitanika kolonizovanih tokom prve nedelje hospitalizacije u odnosu na one koji nisu bili kolonizovani u prvoj nedelji. Odnos zaposlenih medicinskih sestara i pacijenata je najmanji na prijemnom odeljenju, što verovatno utiče na manje striktno sprovođenje mera prevencije infekcija i lakšu akviziciju sojeva iz okruženja. Takođe, imajući

u vidu da je većina ispitanika rođena carskim rezom (60%), kolonizacija Gram negativnim bakterijama nije bila neočekivana. Zato, iako prema podacima iz drugih radova <sup>134,242,254,275-278</sup>, novorođenčad smeštena na OIN imaju veći rizik kolonizacije i nastanka infekcije, čemu doprinosi mehanička ventilacija, ostale invazivne procedure i njihovo opšte stanje, naši rezultati su pokazali upravo suprotno od očekivanog. Boravak na prijemnom odeljenju je značajno bio povezan sa kolonizacijom ESBL-E u prvoj nedelji hospitalizacije, nasuprot boravku na OIN. Ipak, četvrtina ispitanika kolonizovanih tokom prve nedelje su bili smešteni na OIN, tako da su rezistentni sojevi bakterija cirkulisali i na tom odeljenju, ali verovatno zbog higijenskih mera i razlika u procedurama koje se sprovode na svakom od odeljenja, je postojala ovakva razlika. U kohorti ispitanika koji su uzorkovani na otpustu, boravak na OIN, mehanička ventilacija i opšta nezrelost su bili faktori rizika za nastanak sepse, kao i za kolonizaciju CRE, što je očekivano, dok je kolonizacija sa ESBL-E bila česta na svim odeljenjima. Sva novorođenčad tokom prve nedelje hospitalizacije su primala inicijalnu antimikrobnu terapiju, što je verovatno takođe faktor koji doprinosi kolonizaciji ESBL-E. U studiji sprovedenoj na neonatalnoj intenzivnoj nezi u SAD, pokazano je da terapija aminoglikozidima npr. ne utiče na kolonizaciju MDR bakterijama, dok je primena karbapenema ili cefalosporina III generacije značajna za selekciju rezistentnih Gram negativnih bakterija <sup>139</sup>. Ipak, novije studije pokazuju da upravo kombinacija ampicilina i aminoglikozida trostruko povećava rizik za nastanak infekcije rezistentnim bakterijama <sup>161</sup>. Gledajući u našoj studiji obrasce rezistencije ESBL-E sojeva, među ESBL-KP većina sojeva (oko 80%) je bila rezistentna na amikacin, koji su ispitanici primali tokom prvih dana boravka. Sa druge strane rezistencija na amikacin je bila ređa kod ESBL-EC sojeva (oko 12%), ali je uprkos terapiji dolazilo do uspostavljanja kolonizacije. U celini, skoro polovina ispitanika (48%) je posle prve nedelje hospitalizacije na Institutu za neonatologiju bila kolonizovana sa nekom od ESBL-E vrsta. Svi gore navedeni faktori, uključujući i odsustvo skrininga, svakako su doprineli ovakvim rezultatima, ali je važno napomenuti da bez obzira na status kolonizacije, striktno sprovođenje mera za prevenciju transmisije i kontrole bolesti su ključne i mogu značajno ograničiti transmisiju <sup>334</sup>. U tome najvažnija mera je pranje ruku, nošenje zaštitne opreme (maski, uniformi za jednokratnu upotrebu) i odgovarajuće procedure dezinfekcije i čišćenja opreme i prostora.

Posmatrajući učestalost kolonizacije ESBL-E i CRE u definisanim vremenskim tačkama tokom hospitalizacije, trend u našoj studiji je bio rastući. U prvoj nedelji hospitalizacije učestalost kolonizacije ESBL-EC je od 11% na prijemu porasla na 26% sedmog dana boravka. Sa druge strane kolonizacija sa ESBL-KP je četvorostruko porasla za nedelju dana, od 8% na prijemu do 32%, sedmog dana hospitalizacije. Prospektivna studija na pedijatrijskoj intenzivnoj nezi u Brazilu je pokazala da je učestalost kolonizovanih sa ESBL-E na prijemu bila 7%, a tokom dve nedelje došlo je do porasta učestalosti kolonizovanih na 14% <sup>335</sup>. Studija sprovedena u Gabonu je pokazala visoku učestalost kolonizacije na prijemu od 45%, koja je tokom hospitalizacije rasla da bi do uspostavljanja kolonizacije na otpustu došlo kod čak 94% ispitanika <sup>253</sup>. U našoj studiji CRE kolonizacija je detektovana prvi put u četvrtoj nedelji hospitalizacije, a njena ukupna učestalost je bila 17% u kohorti prospektivno praćenih ispitanika. Niža stopa kolonizacije u odnosu na onu nađenu u kohorti ispitanika uzorkovanih na otpustu može biti objašnjena činjenicom da su ispitanici druge kohorte bili nešto boljeg opšteg stanja, kraće hospitalizovani, a i broj ispitanika je bio znatno manji, što je mogući razlog diskrepance. Interesantno je da na prijemu i u prvoj nedelji hospitalizacije nijedan ispitanik nije bio kolonizovan sa CRE, što ukazuje da se ova kolonizacija verovatno stiče kasnije, da je njeno poreklo intrahospitalno i da je najverovatnije povezana sa primenom antibiotika. Takođe, CRE kolonizacija na otpustu nije nađena ni kod jednog ispitanika koji je boravio na prijemnom odeljenju, dok je boravak na prijemnom odeljenju bio značajan faktor rizika za kolonizaciju ESBL-KP, a učestalost kolonizovanih sa ESBL-EC i ESBL-KP značajno veća u odnosu na ostala odeljenja. Ovi rezultati su potvrđeni i u kohorti prospektivno praćenih ispitanika gde je u prvoj nedelji hospitalizacije na prijemnom odeljenju boravila većina ispitanika kod kojih je došlo do uspostavljanja kolonizacije ESBL-EC i ESBL-KP.

Među prospektivno praćenim ispitanicima učestalost sepsi potvrđenih pozitivnom hemokulturom je bila niža (8%) u odnosu na prospektivno praćene ispitanike. Razlog je verovatno što je prosečna dužina hospitalizacije bila kraća, shodno boljem opštem stanju ispitanika na prijemu i nešto nižom učestalošću invazivnih procedura i stanja koja povećavaju rizik od infekcije. Telesna masa je kod 65% ispitanika bila >1500g. Ipak, kod tri ispitanika koji su bili kolonizovani sa ESBL-KP došlo je do nastanka sepse izazvane ovom bakterijom. Iako genska analiza izolata iz hemokulture i iz kolonizacije i ispitivanje klonalne povezanosti sojeva nije bilo moguće sprovesti, verovatno je da je prethodna kolonizacija bila povezana sa nastankom infekcija u ovim slučajevima. Treba napomenuti da je tokom trajanja ove studije izbila epidemija na OIN izazvana *Acinetobacter baumannii*, opisana od strane Gajić i sar.<sup>237</sup>. Primećeno je da je među nekim ispitanicima koji su uključeni u naše istraživanje došlo do razvoja sepse izazvane *A. baumannii*, a da je epizodi sepse prethodila detekcija iste vrste bakterije u kolonizaciji. Vrlo veliki broj studija je ispitivalo odnos kolonizacije i sepse u grupi prevremeno rođene dece i u većini slučajeva je ta veza i dokazana<sup>189,192</sup>. Novije studije koje se bave istraživanjem mikrobiote, takođe ovu vezu potvrđuju<sup>252,336,337</sup>. U našoj kohorti ispitanika bilo je mali broj onih koji su razvili infekciju, pa veza kolonizacije i sepse nije mogla biti ustanovljena. Što se tiče ispitanika kod kojih je na kolonizacija ispitivana na otpustu, kod onih koji su imali sepsu izazvanu ESBL-KP, kolonizacija ESBL-KP je bila prisutna kod oko 72%, tj. kod trinaest od osamnaest ispitanika.

Rezultati naše studije su pokazali da boravak na neonatološkim odeljenjima nosi visok rizik za kolonizaciju ESBL-E i CRE, a hospitalizacija inače predstavlja jedan od najvažnijih faktora rizika za akviziciju MDR patogena<sup>259,280,282,284</sup>. Posle otpusta iz ustanove kolonizovana novorođenčad su pod većim rizikom za nastanak infekcija izazvanih kolonizujućim mikroorganizmima<sup>256,257</sup>. Pored toga, kolonizovani postaju izvor i rezervoar rezistentnih bakterija koje se mogu preneti dalje na druge ljude ili u okruženje<sup>223</sup>. Dokazi prenosa ESBL-E i CRE među članovima domaćinstva su pokazani u velikom broju studija<sup>148,338,339</sup>. Čak je nađeno da je rizik prenosa veći ako je član domaćinstva kolonizovan sa ESBL-KP nego u slučaju kolonizacije ESBL-EC i da se rizik transmisije vremenom smanjuje<sup>148</sup>. Najveći uticaj svakako imaju mere higijene koje se sprovode u domaćinstvu. U SAD je u jednoj studiji sprovedenoj u ustanovi za boravak dece sa razvojnim poremećajima centralnog nervnog sistema dokazana transmisija CRE (*blaKPC* produkujúće *K. pneumoniae*), pri čemu nijedan slučaj infekcije nije zabeležen, a faktori rizika za kolonizaciju nisu mogli biti utvrđeni u ispitivanoj populaciji<sup>340</sup>. Ovakvi podaci ukazuju na razne mogućnosti transmisije, čime se naglašava značaj kolonizacije kao rezervoara rezistentnih mikroorganizama. Zato je podatak o dužini održavanja kolonizacije posle otpusta iz bolnice veoma važan, što je bila tema istraživanja velikog broja studija<sup>150,341-343</sup> uključujući i naše istraživanje. Dinamiku kojom dolazi do dekolonizacije je u našoj studiji bilo teško sagledati u celini. Razlog je taj što značajan broj ispitanika nije došao na predviđene kontrolne preglede, kao ni na poslednji kontrolni pregled godinu dana nakon otpusta. Sveukupno, perzistencija kolonizacije sa ESBL-E duže od godinu dana je zabeležena kod nešto više od četvrtine naših ispitanika. Takođe, primećena je jasna razlika u dužini izlučivanja ESBL-EC u odnosu na ESBL-KP, tj. ESBL-EC je imala tendenciju dužeg održavanja. Oko trećine kolonizovanih sa ESBL-EC je ostalo kolonizovano nakon godinu dana, a do eliminacije kliconoštva je došlo kod nešto manjeg broja ispitanika (24%). Interesantno je da kod devet ispitanika kod kojih tokom hospitalizacije ESBL-EC nije detektovana, na kontrolnim pregledima je zabeležena kolonizacija ovom bakterijskom vrstom. Za ovakvu pojavu postoji više mogućih objašnjenja. Imajući u vidu osetljivost metode kultivisanja za detekciju manjeg broja mikroorganizama, nije isključeno da je kolonizacija bila prisutna i tokom hospitalizacije kod pomenutih ispitanika. Do odsustva porasta u kulturi u tim slučajevima je moglo doći zbog dominacije drugih mikroorganizama (ESBL-KP npr.), a nakon prelaska u kućne uslove se moguće sastav mikrobiote izmenio, što se odrazilo na nalaz u kulturi. Postoji i mogućnost da je ESBL-EC kolonizacija naknadno stečena, ali je to manje verovatno da se desilo u tako značajnom broju. Neka istraživanja dinamike kolonizacije ESBL-E su pokazala da do zamene sojeva u kolonizaciji dolazi često i da odsustvo pozitivnog nalaza kulture ne isključuje postojanje kolonizacije, naročito kada su bakterije u uzorku prisutne u malom broju<sup>151</sup>. U našoj studiji

kod ispitanika kolonizovanih sa ESBL-KP, oko trećina je već posle mesec dana prestajala da bude kolonizovana, a nakon 6 meseci je ukupno 80% ispitanika bilo dekolonizovano. Kod 11% ispitanika je ESBL-KP perzistirala duže od godinu dana posle otpusta. Podaci iz drugih studija pokazuju da u većini slučajeva do dekolonizacije dolazi posle godinu dana, mada su razlike značajne u zavisnosti od ispitivane populacije. U studiji rađenoj u Norveškoj posle epidemije u neonatalnoj intenzivnoj nezi izazvanoj CTX-M-15 ESBL-KP, pokazana je prosečno trajanje kolonizacije od 12,5 meseci posle otpusta, dok je u slučajevima akvizicije kolonizacije transmisijom sa člana domaćinstva, kolonizacija trajala znatno kraće, do dva i po meseca<sup>275</sup>. Transmisija, kao i održavanje u kolonizacije je verovatno pod uticajem niza faktora, a osobine samog patogena su najverovatnije najznačajnije za uspešnost održavanja kolonizacije. U adultnoj populaciji je pokazano da je kolonizacija CTX-M-9 produkujućom *E. coli* filogrupe B2, kod većine ispitanika koji su prethodno imali infekciju izazvanu navedenom vrstom, trajala duže od godinu dana, što nije bio slučaj sa drugim tipovima *E. coli*, a autori su nađenu pojavu objasnili virulencijom i drugim osobina ovog specifičnog klona<sup>151</sup>. U drugoj studiji u Švedskoj je pokazano da posle epidemije na NICU izazvane ESBL-KP i ESBL-EC, perzistiranje kolonizacije ESBL-KP može trajati i do dve godine, a retko čak do 5 godina, što je bio slučaj sa jednim ispitanikom kolonizovanim sa ESBL-EC<sup>149</sup>. Mnogo više studija je rađeno o dužini održavanja kolonizacije u populaciji odraslih. Tako je primećeno da su putovanja u manje razvijene zemlje Azije i Afrike faktor rizika za kolonizaciju ESBL-E<sup>123</sup>, ali trajanje kolonizacije najčešće nije dugo kod zdravih individua, tj. oko tri do šest meseci kod većine<sup>342</sup>. Naši rezultati koji pokazuju duži opstanak ESBL-EC u odnosu na ESBL-KP mogu biti objašnjeni i time da većina ljudi ima *E. coli* u digestivnom traktu dok se *K. pneumoniae* ređe nalazi u poređenju sa *E. coli*. Moguće je da je kraća perzistencija vezana za činjenicu da ESBL-KP tipični bolnički patogen koji po dolasku u kućne uslove i izlaganju novim uticajima okruženja biva potisnuta i gubi se. Interesantno je da kod dva ispitanika koji su imali sepsu izazvanu *Acinetobacter baumannii*, kolonizacije je trajala tokom hospitalizacije, ali već na prvom kontrolnom pregledu nije bila prisutna, što takođe govori u prilog mogućih značajnih promena posle hospitalizacije.

Što se tiče kolonizacije CP-KP, od trinaest ispitanika koji su došli na neki od kontrolnih pregleda, kod njih dvanaest, CP-KP nije detektovana već na prvom kontrolnom pregledu (posle mesec dana kod deset i posle tri meseca kod preostala dva ispitanika). Kod jednog ispitanika CP-KP je perzistirala duže od godinu dana, pri čemu je bila prisutna tokom čitavog perioda praćenja na svakom od kontrolnih pregleda. Naši rezultati ukazuju na mogućnost dugotrajne perzistencije CP-KP, ali ovaj nalaz treba s obzirom na veličinu uzorka, tumačiti sa rezervom. Podaci o održavanju CRE kolonizacije su retki i do sada je objavljeno malo studija na tu temu. U jednoj studiji u adultnoj populaciji je nađeno da CRE kolonizacija perzistira tokom tri meseca<sup>152</sup>, dok je u drugoj studiji dužina izlučivanja bila i do godinu dana, pri čemu su ponovne hospitalizacije i primena antibiotske terapije bili faktori rizika za održavanje kolonizacije<sup>153</sup>. Održavanje kolonizacije CRE u adultnoj populaciji je pokazano i u studiji u Izraelu, pri čemu je antibiotska terapija u prethodna tri meseca bila faktor rizika za perzistenciju kolonizacije<sup>344</sup>. Nedavno je objavljen prikaz slučaja petogodišnjeg održavanja kolonizacije CRE kod hroničnog pacijenta, pri čemu je analiza izolata iz različitih godina pokazala smanjenje virulencije soja, pa su autori zaključili da višestruke antibiotske terapije mogu uticati na prolongiranu kolonizaciju, pri čemu vremenom može doći do adaptacije soja za produženo održavanje kliconoštva<sup>345</sup>. U studiji u SAD gde je u ustanovi za dnevni boravak dece sa razvojnim anomalijama ustanovljena transmisija CRE, dužina izlučivanja je bila od 4-26 nedelja<sup>340</sup>. U studiji sprovedenoj u Nemačkoj, praćenje održavanja kolonizacije nakon epidemije izazvane CP-KP u adultnoj populaciji, do dekolonizacije je kod jedne trećine ispitanika došlo posle mesec dana, 40% posle tri meseca, 65% posle šest meseci, 74% posle godinu dana, a perzistencija duže od dve godine je bila prisutna kod manjeg broja ispitanika<sup>263</sup>. Zapažene razlike u dužini održavanja kolonizacije među studijama i razlika u odnosu na naše podatke se mogu različito tumačiti. Prvo, većina studija je rađena u populaciji odraslih, može da bude različito u odnosu na specifičnu populaciju prevremeno rođene dece, kod koje mikrobiota nije formirana. Kod ove dece posle bolničkog lečenja dolaskom u kućne uslove, dolazi do susreta sa brojnim mikroorganizmima iz potpuno drugačijeg okruženja, menja se ishrana i sve to ima uticaja na dalje formiranje mikrobiote. Sve navedene promene mogu

dovesti do brže eliminacije bolničkih mikroorganizama, kakvom se tipično smatra *K. pneumoniae*. Drugo objašnjenje za nađene razlike u dužini izlučivanja mogu biti vezane za osobine samog soja i sposobnost njegove perzistencije i kompeticije sa drugim bakterijama koje čine mikrobiotu. Prethodna infekcija izazvana datim sojem je povezana sa dužom kolonizacijom, što je moguće bio slučaj i u navedenoj studiji u Nemačkoj<sup>263</sup>. U nedavno objavljenom istraživanju mikrobiote kod hospitalizovanih ispitanika kolonizovanih sa CRE, CRE kliconoša u vanbolničkoj sredini i zdravih ispitanika, primećen je značajan stepen disbioze i promenjen sastav mikrobiote kolonizovanih kako u bolničkoj tako i u vanbolničkoj sredini u odnosu na zdrave nekolonizovane ispitanike<sup>346</sup>. Autori su zaključili na osnovu dobijenih rezultata da bi obnavljanje normalne mikrobiote transplantacijom fecesa ili probiotskim kulturama moglo biti efikasno u rešavanju problema CRE kolonizacije.

U ovom istraživanju prisustvo gena rezistencije ESBL i karbapenemaza je ispitivano kod sojeva izolovanih od ispitanika kod kojih je uspostavljanje kolonizacije prospektivno praćeno. Kod svih testiranih sojeva nađeni su traženi geni rezistencije, a većina sojeva je nosila po dva različita gena. Među ESBL-E pojedinačno najčešće detektovan gen je bio *bla*CTX-M-15, što je i očekivano s obzirom na globanu propagaciju i pandemijsko širenje ovog enzima koje je zabeleženo poslednjih decenija<sup>208,347</sup>. Među ESBL-E, sojevi ESBL-EC kao i sojevi ESBL-KP su nosili kombinacije *bla*TEM/*bla*SHV i *bla*TEM/*bla*CTX-M-15 gena. Prisustvo više gena koji kodiraju ESBL je pokazano, a takvi su nalazi češći u manje razvijenim sredinama kao npr. u Indiji, Alžiru, Tanzaniji<sup>348,349</sup>, mada su multirezistentni izolati sa mnoštvom determinanti rezistencije nalaženi i u razvijenim zemljama<sup>350</sup>. Analiza invazivnih sojeva ESBL-KP u Portugaliji je pokazala veliki diverzitet i takođe prisustvo multiplih gena nekad udruženih i sa karbapenemazama, kao što je to bio slučaj i u našem istraživanju. Podaci o distribuciji ESBL gena među ESBL-E sojevima u Srbiji su oskudni. Iako je prisustvo ESBL produkujućih bakterija pokazano u Srbiji u brojnim radovima<sup>222,282,351</sup>, istraživanja genske osnove rezistencije kod kliničkih izolata nisu do sada rađene. U studiji ispitivanja vode sa kupališta Ada Ciganlija u Beogradu 2013. godine dokazano je prisustvo ESBL-KP sa *bla*SHV genotipom<sup>298</sup>. I u susednim zemljama su analize ESBL-E rađene, pa je tako dominacija SHV kod ESBL-KP pokazana u Hrvatskoj među uzročnicima urinarnih infekcija kod odraslih i kod dece<sup>352,353</sup>, a u kasnijim studijama propagacija *bla*CTX-M-15 ESBL-KP<sup>354</sup>. U Bosni i Hercegovini je pokazano više različitih CTX-M tipova ESBL sa predominacijom CTX-M-15<sup>355</sup>. ESBL-EC sojevi u našoj studiji su najčešće nosili *bla*CTX-M-15, što je očekivan nalaz i u skladu sa dominacijom ove determinante rezistencije i u drugim zemljama<sup>145</sup>. U našoj studiji je primećeno da sojevi ESBL-EC sa *bla*CTX-M-15 su uglavnom bili rezistentni na cefotaksim, a često su pokazivali udruženu rezistenciju na sulfametoksazol trimetoprim, fluorohinolone i gentamicin. Navedene osobine su česte kod globalno diseminovanih ST131 klonova<sup>87</sup> među kojima je definisano nekoliko filogrupa različite virulencije i predilekcije za izazivanje infekcija urinarnog trakta i sistemskih infekcija. Globalna propagacija ESBL-EC se smatra posledicom širenja upravo ST131 sojeva<sup>356</sup>, pa je njihovo prisustvo verovatno i u našoj sredini. Među beta laktamskim antibioticima, osetljivost ESBL-E sojeva je bila najčešća na piperacilin tazobaktam dok je veći stepen rezistencije bio prisutan na cefalosporine, što odgovara ESBL fenotipu. Interesantno je da je 20% ESBL-EC imalo SHV/TEM enzime, što je ređe u evropskim zemljama gde CTX-M 1 grupa dominira. Prema nedavno objavljenom revijalnom radu o ESBL-E<sup>347</sup>, u zemljama Evrope CTX-M-15 i znatno manje CTX-M 9 grupa dominiraju kod ESBL-EC, što u našoj studiji nije bio slučaj. Među našim izolatima ESBL-KP, dominantno je bila prisutna *bla*SHV detektovana kod 53% izolata, a zatim *bla*CTX-M-15 kod 44% izolata. Sveukupno posmatrano, među ESBL-KP je postojala veća heterogenost i distribucije gena rezistencije i fenotipova rezistencije. U poređenju sa sojevima ESBL-EC, rezistencija na cefotaksim i ceftriakson je bila znatno učestalija, a takođe i rezistencija na aminoglikozide i sulfametoksazol trimetoprim, dok je fluorohinolonska rezistencija ređe nađena. U poređenju sa drugim evropskim zemljama, ovako velika učestalost SHV, nije uobičajen nalaz, jer je u većini sudija pokazana potpuna dominacija CTX-M-15 dok su učestalosti SHV uglavnom ispod 5%<sup>347</sup>. Nažalost sojevi koji su nađeni u hemokulturi nisu bili dostupni za analizu gena rezistencije kao ni poređenje sa sojevima nađenim u kolonizaciji, što ostaje da bude urađeno u nekom od narednih istraživanja.



Kod CRE izolata u našoj studiji nađene su kombinacije *blaOXA-48/blaCTX-M-15*, i *blaKPC/blaTEM/blaSHV*. Dosadašnja istraživanja CRE u Srbiji, uglavnom su se odnosila na karbapenem i kolistin rezistentne sojeve među kojima je nađeno više različitih genotipova sa dominacijom *blaOXA-48*, *blaNDM* i redim nalazom *blaKPC* i *blaVIM* <sup>225,298,357</sup>. Iako je našom studijom obihvaćen mali broj sojeva, KPC i OXA-48 karbapenemaze su bile približno podjednako zastupljene. Nalaz udruženosti *blaKPC/blaTEM/blaSHV* kod izolata u našoj studiji nije iznenađujući i ukazuje na njihovo moguće klonalno poreklo, što je najverovatnije bio slučaj i sa sojevima koji su nosili *blaOXA-48/blaCTX-M-15*. Različite kombinacije gena rezistencije lokalizovane na mobilnim genskim elementima su opisane u literaturi. U studiji CRE nađenih u kolonizaciji u Brazilu dominantno su bili prisutni *blaKPC/blaCTX-M-15/blaSHV/blaTEM* geni kod *K. pneumoniae* <sup>358</sup>. Razne druge kombinacije gena su opisane i u razvijenim i u manje razvijenim zemljama <sup>350</sup>. U nacionalnoj studiji sprovedenoj u Hrvatskoj, među KPC sojevima uporedno je bila prisustna *blaSHV*, dok je *blaTEM* sporadično nalažena <sup>359</sup>. U Portugaliji je među KPC sojevima takođe nađenao istovremeno prisustvo *blaTEM* i *blaSHV* <sup>350</sup>. U Tunisu su 2016. opisani sojevi *K. pneumoniae* sa *blaOXA/blaCTX-M-15*, kao što je nađeno i u našem istraživanju <sup>360</sup>. Inače, mediteranske zemlje se smatraju endemskim za prisustvo karbapenemaza kod enterobakterija <sup>226</sup>, a analiza izolata iz različitih zemalja Evrope je pokazala predominaciju KPC karbapenemaza, pri čemu su OXA-48 karbapenemaze često izolovane u zemljama Balkana. U navedenoj studiji je kod nekolicine izolata iz Srbije detektovana upravo OXA-48 karbapenemaza. Kada je u pitanju osetljivost sojeva u našoj studiji, većina su očekivano bili rezistentni na testirane antibiotike sa izuzetkom kolistina. Ovakav nalaz je u skladu sa udruženom rezistencijom na brojne klase antibiotika koje se sreću među CRE izolatima <sup>226</sup>.

---

## 6. ZAKLJUČCI

---

Na osnovu iznetih rezultata možemo izvesti sledeće zaključke ovog istraživanja:

1. Učestalost kolonizacije multirezistentnim bakterijama kod hospitalizovane prevremeno rođene dece u Institutu za neonatologiju je zabrinjavajuće visoka (98%) i daleko viša u odnosu na ostale evropske i druge zemlje. CRE su nađene kod četvrtine ispitanika, a ESBL-E kod svih kolonizovanih. Najučestalija vrsta je bila ESBL-EC koja je detektovana kod 88% ispitanika, a zatim ESBL-KP prisutna kod 58,6%. Među CRE nađena je *Klebsiella pneumoniae* kod svih ispitanika izuzev jednog, gde je detektovana *Escherichia coli*. Kod većine ispitanika (68%) postajala je istovremeno kolonizacija sa dve vrste multirezistentnih bakterija.

2. Prediktori kolonizacije CRE su bili opšta nezrelost, duža hospitalizacija, boravak na odeljenju intenzivne nege, plasiranje venskog umbilikalnog katetra, pojava nekrotizirajućeg enterokolitisa, boravak na odeljenjima izolacije i prvom odeljenju specijalizovane nege i primena meropenema u monoterapiji ili u kombinaciji sa drugim antibiotiskim agensima. Nezavisni prediktori kolonizacije CRE su bili primena meropenema i nekrotizirajući enterokolitis. Prediktor za kolonizaciju ESBL-KP su bili ženski pol i boravak na prijemnom odeljenju, a za ESBL-EC zbog visoke učestalosti kolonizacije, prediktori nisu određeni.

3. Učestalost sepsi potvrđenih nalazom hemokulture je bila visoka (17%), kao i učestalost kliničkih sepsi bez laboratorijske potvrde (23%). ESBL-KP je bila uzročnik trećine potvrđenih sepsi, a CRE nisu nađene ni u jednom slučaju infekcije. Prediktori nastanka potvrđene sepse su bili ekstremna nezrelost (< 28 nedjelja gestacije), ekstremno mala telesna masa na rođenju (< 1000 g), boravak u OIN, invazivne procedure, dužina hospitalizacije, kolonizacija CRE. Bolesti prematuriteta: nekrotizirajući enterokolitis, retinopatija prematuriteta, bronhopulmonalna displazija i perzistentni duktus arteriozus su povezane s nastankom sepse. Nezavisan prediktor sepse je bio nekrotizirajući enterokolitis. Sve navedeno ukazuje na značajnu povezanost prematuriteta i nastanka sistemskih infekcija.

4. Do uspostavljanja kolonizacije ESBL-E je dolazilo brzo i posle prve nedelje hospitalizacije je skoro polovina ispitanika bila kolonizovana. Kod 17% ispitanika kolonizacija je bila prisutna na prijemu. Do akvizicije ESBL-E tokom prve nedelje je došlo kod 31% ispitanika, a do četvrte nedelje kod još 37% ispitanika. Kolonizacija CRE je zabeležena četvrte nedelje hospitalizacije kod 15% ispitanika. Ovakav nalaz ukazuje na značajan stepen akvizicije i transmisije unutar Instituta za neonatologiju, ali i na stalni unos multirezistentnih bakterija od spolja.

5. Perzistencija kolonizacije je zabeležena kod 27% ispitanika, a kod svih ispitanika posle godinu dana praćena nađena je ESBL-EC. Gledajući po vrstama, učestalost perzistencije je bila 37% za ESBL-EC, 11% za ESBL-KP i 8% za CP-KP. Prema navedenom, perzistencija ESBL-EC je najduža u odnosu na ostale multirezistentne bakterija.

6. Među izolatima ESBL-E su nađeni *bla*TEM, *bla*SHV i *bla*CTX-M-15, a među CRE su nađeni *bla*OXA-48 i *bla*KPC. Distribucija gena koji kodiraju ESBL je bila heterogena, ali je većina sojeva ESBL-E nosila dva različita gena i to *bla*TEM/*bla*SHV ili *bla*TEM/*bla*CTX-M-15. Kod CRE sojeva su nađeni *bla*OXA-48/*bla*CTX-M-15, i *bla*KPC/*bla*TEM/*bla*SHV. Antimikrobna rezistencija ESBL-E sojeva je bila značajna na većinu testiranih antibiotika, što je uočeno i kod CRE sojeva, kod koji su bili osetljivi na kolistin.

7. Sve navedeno ukazuje na visoku stopu i infekcija i izuzetno visoku stopu kolonizacije multirezistentnim bakterijama. Prekomerna upotreba antibiotika svakako doprinosi selekciji i olakšanoj transmisiji ESBL-E i CRE. Uvođenje skrininga kolonizacije na prijemu i tokom hospitalizacije bi bilo preporučeno posle uvida u rezultate ovog istraživanja.

---

## 7. LITERATURA

---

1. Preterm birth. Accessed February 27, 2022. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
2. Levels and Trends in Child Mortality Report 2017 | UNICEF. Accessed February 27, 2022. <https://www.unicef.org/reports/levels-and-trends-child-mortality-report-2017>
3. Zeitlin J, Mohangoo A, Cuttini M, et al. The European Perinatal Health Report: comparing the health and care of pregnant women and newborn babies in Europe. *J Epidemiol Community Health* (1978). 2009;63(9):681-682. doi:10.1136/JECH.2009.087296
4. Zeitlin J, Szamotulska K, Drewniak N, et al. Preterm birth time trends in Europe: a study of 19 countries. *BJOG*. 2013;120(11):1356-1365. doi:10.1111/1471-0528.12281
5. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*. 2008;371(9606):75-84. doi:10.1016/S0140-6736(08)60074-4
6. Bhattacharya S, Amalraj Raja E, Ruiz Mirazo E, et al. Inherited predisposition to spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 2010;115(6):1125-1133. doi:10.1097/AOG.0B013E3181DFFCDB
7. Zhang G, Srivastava A, Bacelis J, Juodakis J, Jacobsson B, Muglia LJ. Genetic studies of gestational duration and preterm birth. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2018;52:33. doi:10.1016/J.BPOBGYN.2018.05.003
8. Carolan M. Maternal age  $\geq 45$  years and maternal and perinatal outcomes: a review of the evidence. *Midwifery*. 2013;29(5):479-489. doi:10.1016/J.MIDW.2012.04.001
9. Sullivan-Pyke CS, Senapati S, Mainigi MA, Barnhart KT. In Vitro fertilization and adverse obstetric and perinatal outcomes. *Semin Perinatol*. 2017;41(6):345-353. doi:10.1053/J.SEMPERI.2017.07.001
10. Ferrero DM, Larson J, Jacobsson B, et al. Cross-Country Individual Participant Analysis of 4.1 Million Singleton Births in 5 Countries with Very High Human Development Index Confirms Known Associations but Provides No Biologic Explanation for 2/3 of All Preterm Births. *PLoS ONE*. 2016;11(9). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0162506
11. Lemmers M, Verschoor MAC, Hooker AB, et al. Dilatation and curettage increases the risk of subsequent preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2016;31(1):34-45. doi:10.1093/HUMREP/DEV274
12. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*. 2000;342(20):1500-1507. doi:10.1056/NEJM200005183422007
13. Romero R, Manogue KR, Mitchell MD, et al. Infection and labor. IV. Cachectin-tumor necrosis factor in the amniotic fluid of women with intraamniotic infection and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;161(2):336-341. doi:10.1016/0002-9378(89)90515-2
14. Cherouny PH, Pankuch GA, Romero R, et al. Neutrophil attractant/activating peptide-1/interleukin-8: association with histologic chorioamnionitis, preterm delivery, and bioactive amniotic fluid leukoattractants. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;169(5):1299-1303. doi:10.1016/0002-9378(93)90297-V
15. Romero R, Brody DT, Oyarzun E, et al. Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of parturition. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;160(5 Pt 1):1117-1123. doi:10.1016/0002-9378(89)90172-5
16. Elovitz MA, Mrinalini C. Animal models of preterm birth. *Trends Endocrinol Metab*. 2004;15(10):479-487. doi:10.1016/J.TEM.2004.10.009
17. Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, et al. Estimates of the Burden of Group B Streptococcal Disease Worldwide for Pregnant Women, Stillbirths, and Children. *Clin Infect Dis*. 2017;65(suppl\_2):S200-S219. doi:10.1093/CID/CIX664
18. Rours GIJG, Duijts L, Moll HA, et al. Chlamydia trachomatis infection during pregnancy associated with preterm delivery: a population-based prospective cohort study. *Eur J Epidemiol*. 2011;26(6):493-502. doi:10.1007/S10654-011-9586-1
19. Donders GGG, Desmyter J, de Wet DH, van Assche FA. The association of gonorrhoea and syphilis with premature birth and low birthweight. *Genitourinary Medicine*. 1993;69(2):98. doi:10.1136/STI.69.2.98

20. Sprong KE, Mabenge M, Wright CA, Govender S. Ureaplasma species and preterm birth: current perspectives. *Crit Rev Microbiol.* 2020;46(2):169-181. doi:10.1080/1040841X.2020.1736986
21. Cotch MF, Pastorek JG, Nugent RP, et al. Trichomonas vaginalis associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis.* 1997;24(6):353-360. doi:10.1097/00007435-199707000-00008
22. Schuster HJ, de Jonghe BA, Limpens J, Budding AE, Painter RC. Asymptomatic vaginal Candida colonization and adverse pregnancy outcomes including preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol MFM.* 2020;2(3). doi:10.1016/J.AJOGMF.2020.100163
23. Smaill F. Asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007;21(3):439-450. doi:10.1016/J.BPOBGYN.2007.01.004
24. Slattery MM, Morrison JJ. Preterm delivery. *Lancet.* 2002;360(9344):1489-1497. doi:10.1016/S0140-6736(02)11476-0
25. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschenbach DA, Sweet RL. A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;166(5):1515-1528. doi:10.1016/0002-9378(92)91628-N
26. Walsh SW, Nugent WH, Alam SMK, et al. Protease Amplification of the Inflammatory Response Induced by Commensal Bacteria: Implications for Racial Disparity in Term and Preterm Birth. *Reprod Sci.* 2020;27(1):246-259. doi:10.1007/S43032-019-00011-W
27. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor-alpha in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1159-1162. doi:10.1067/MOB.2002.127457
28. Helmo FR, Alves EAR, Moreira RA de A, et al. Intrauterine infection, immune system and premature birth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(9):1227-1233. doi:10.1080/14767058.2017.1311318
29. Itabashi K, Horiuchi T, Kusuda S, et al. Mortality rates for extremely low birth weight infants born in Japan in 2005. *Pediatrics.* 2009;123(2):445-450. doi:10.1542/PEDS.2008-0763
30. Oehmke F, Lauer T, Baecker J, et al. Ethical, legal, and religious aspects at the border of viability. *Frontiers in Pediatrics.* 2019;7(MAY):175. doi:10.3389/FPED.2019.00175/BIBTEX
31. Jensen EA, Lorch SA. Effects of a Birth Hospital's Neonatal Intensive Care Unit Level and Annual Volume of Very Low-Birth-Weight Infant Deliveries on Morbidity and Mortality. *JAMA Pediatr.* 2015;169(8). doi:10.1001/JAMAPEDIATRICS.2015.1906
32. Birth & transfer - EFCNI - European Standards of Care for Newborn Health. Accessed February 28, 2022. <https://newborn-health-standards.org/standards/standards-english/birth-transfer/>
33. Diguisto C, Foix L'Helias L, Morgan AS, et al. Neonatal Outcomes in Extremely Preterm Newborns Admitted to Intensive Care after No Active Antenatal Management: A Population-Based Cohort Study. *J Pediatr.* 2018;203:150-155. doi:10.1016/J.JPEDI.2018.07.072
34. Sweet DG, Carnielli V, Greisen G, et al. European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome - 2019 Update. *Neonatology.* 2019;115(4):432-450. doi:10.1159/000499361
35. Adams-Chapman I. Long-term impact of infection on the preterm neonate. *Semin Perinatol.* 2012;36(6):462-470. doi:10.1053/J.SEMPERI.2012.06.009
36. Preterm birth: Definitions of prematurity, epidemiology, and risk factors for infant mortality - UpToDate. Accessed February 28, 2022. <https://www.uptodate.com/contents/preterm-birth-definitions-of-prematurity-epidemiology-and-risk-factors-for-infant-mortality>
37. Behrman RE, Butler AS. Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention.* Published online May 23, 2007:1-772. doi:10.17226/11622
38. Hermansen CL, Lorah KN. Respiratory Distress in the Newborn Table 1. Differential Diagnosis of Respiratory Distress in the Newborn. Published online 2007. Accessed February 28, 2022. [www.aafp.org/afp](http://www.aafp.org/afp).

39. Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;3(3). doi:10.1002/14651858.CD004454.PUB3
40. Bonanno C, Wapner RJ. Antenatal Corticosteroids in the Management of Preterm Birth: Are we back where we started? *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2012;39(1):47. doi:10.1016/J.OGC.2011.12.006
41. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(7):1723-1729. doi:10.1164/AJRCCM.163.7.2011060
42. Jensen EA. Prevention of Bronchopulmonary Dysplasia: A Summary of Evidence-Based Strategies. *Neoreviews.* 2019;20(4):e189-e201. doi:10.1542/NEO.20-4-E189
43. Jobe AH, Bancalari EH. Controversies about the definition of bronchopulmonary dysplasia at 50 years. *Acta Paediatr.* 2017;106(5):692-693. doi:10.1111/APA.13775
44. McEvoy CT, Aschner JL. The Natural History of Bronchopulmonary Dysplasia: The Case for Primary Prevention. *Clin Perinatol.* 2015;42(4):911-931. doi:10.1016/J.CLP.2015.08.014
45. Maitre NL, Ballard RA, Ellenberg JH, et al. Respiratory consequences of prematurity: evolution of a diagnosis and development of a comprehensive approach. *J Perinatol.* 2015;35(5):313-321. doi:10.1038/JP.2015.19
46. Ballabh P. Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease. *Pediatr Res.* 2010;67(1):1-8. doi:10.1203/PDR.0B013E3181C1B176
47. Harding D, Brull D, Humphries SE, Whitelaw A, Montgomery H, Marlow N. Variation in the Interleukin-6 Gene Is Associated with Impaired Cognitive Development in Children Born Prematurely: A Preliminary Study. *Pediatric Research 2005 58:1.* 2005;58(1):117-120. doi:10.1203/01.pdr.0000163523.49021.53
48. Al-Aweel I, Pursley DWM, Rubin LP, Shah B, Weisberger S, Richardson DK. Variations in prevalence of hypotension, hypertension, and vasopressor use in NICUs. *J Perinatol.* 2001;21(5):272-278. doi:10.1038/SJ.JP.7210563
49. Rennie JM, South M, Morley CJ. Cerebral blood flow velocity variability in infants receiving assisted ventilation. *Arch Dis Child.* 1987;62(12):1247-1251. doi:10.1136/ADC.62.12.1247
50. Perlman JM, Goodman S, Kreusser KL, Volpe JJ. Reduction in intraventricular hemorrhage by elimination of fluctuating cerebral blood-flow velocity in preterm infants with respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 1985;312(21):1353-1357. doi:10.1056/NEJM198505233122104
51. Bejar R, Curbelo V, Coen RW, Leopold G, James H, Gluck L. Diagnosis and Follow-up of Intraventricular and Intracerebral Hemorrhages by Ultrasound Studies of Infant's Brain Through the Fontanelles and Sutures. *Pediatrics.* 1980;66(5):661-673. doi:10.1542/PEDS.66.5.661
52. Parodi A, Govaert P, Horsch S, et al. Cranial ultrasound findings in preterm germinal matrix haemorrhage, sequelae and outcome. *Pediatr Res.* 2020;87(Suppl 1):13-24. doi:10.1038/S41390-020-0780-2
53. Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL, et al. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(2):147.e1-147.e8. doi:10.1016/J.AJOG.2006.09.014
54. Gerhardt T, Bancalari E. Lung compliance in newborns with patent ductus arteriosus before and after surgical ligation. *Biol Neonate.* 1980;38(1-2):96-105. doi:10.1159/000241348
55. Meister AL, Doheny KK, Travagli RA. Necrotizing enterocolitis: It's not all in the gut. *Experimental Biology and Medicine.* 2020;245(2):85. doi:10.1177/1535370219891971
56. Guthrie SO, Gordon P v., Thomas V, Thorp JA, Peabody J, Clark RH. Necrotizing enterocolitis among neonates in the United States. *J Perinatol.* 2003;23(4):278-285. doi:10.1038/SJ.JP.7210892
57. Beeby PJ, Jeffery H. Risk factors for necrotising enterocolitis: the influence of gestational age. *Arch Dis Child.* 1992;67(4 Spec No):432-435. doi:10.1136/ADC.67.4\_SPEC\_NO.432

58. Neu J, Mshvildadze M, Mai V. A roadmap for understanding and preventing necrotizing enterocolitis. *Curr Gastroenterol Rep*. 2008;10(5):450-457. doi:10.1007/S11894-008-0084-X
59. Luig M, Lui K. Epidemiology of necrotizing enterocolitis--Part II: Risks and susceptibility of premature infants during the surfactant era: a regional study. *J Paediatr Child Health*. 2005;41(4):174-179. doi:10.1111/J.1440-1754.2005.00583.X
60. Gephart SM, McGrath JM, Effken JA, Halpern MD. Necrotizing enterocolitis risk: state of the science. *Adv Neonatal Care*. 2012;12(2):77-87. doi:10.1097/ANC.0B013E31824CEE94
61. Neu J. Necrotizing Enterocolitis: The Future. *Neonatology*. 2020;117(2):240-244. doi:10.1159/000506866
62. Matsuoka K, Kanai T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol*. 2015;37(1):47-55. doi:10.1007/S00281-014-0454-4
63. Sahni M, Jain S. Hypotension in Neonates. *Neoreviews*. 2016;17(10):e579-e589. doi:10.1542/NEO.17-10-E579
64. Barrington K, El-Khuffash A, Dempsey E. Intervention and Outcome for Neonatal Hypotension. *Clin Perinatol*. 2020;47(3):563-574. doi:10.1016/J.CLP.2020.05.011
65. Dogra MR, Katoch D, Dogra M. An Update on Retinopathy of Prematurity (ROP). *Indian J Pediatr*. 2017;84(12):930-936. doi:10.1007/S12098-017-2404-3
66. Lee J, Dammann O. Perinatal infection, inflammation, and retinopathy of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012;17(1):26-29. doi:10.1016/J.SINY.2011.08.007
67. Wilson E, Norman M, Wilson E, et al. Admission Hypothermia in Very Preterm Infants and Neonatal Mortality and Morbidity. *J Pediatr*. 2016;175:61-67.e4. doi:10.1016/J.JPEDI.2016.04.016
68. Cuenca AG, Wynn JL, Moldawer LL, Levy O. Role of innate immunity in neonatal infection. *Am J Perinatol*. 2013;30(2):105-112. doi:10.1055/S-0032-1333412
69. Zaghouani H, Hoeman CM, Adkins B. Neonatal immunity: faulty T-helpers and the shortcomings of dendritic cells. *Trends Immunol*. 2009;30(12):585-591. doi:10.1016/J.IT.2009.09.002
70. Forman M lou, Stiehm ER, Meyer J. Impaired opsonic activity but normal phagocytosis in low-birth-weight infants. *N Engl J Med*. 1969;281(17):926-931. doi:10.1056/NEJM196910232811704
71. Elahi S, Ertelt JM, Kinder JM, et al. Immunosuppressive CD71+ erythroid cells compromise neonatal host defence against infection. *Nature*. 2013;504(7478):158-162. doi:10.1038/NATURE12675
72. Gibbons D, Fleming P, Virasami A, et al. Interleukin-8 (CXCL8) production is a signatory T cell effector function of human newborn infants. *Nat Med*. 2014;20(10):1206-1210. doi:10.1038/NM.3670
73. Fanaroff AA, Korones SB, Wright LL, et al. Incidence, presenting features, risk factors and significance of late onset septicemia in very low birth weight infants. The National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17(7):593-598. doi:10.1097/00006454-199807000-00004
74. Olin A, Henckel E, Chen Y, et al. Stereotypic Immune System Development in Newborn Children. *Cell*. 2018;174(5):1277-1292.e14. doi:10.1016/J.CELL.2018.06.045
75. Stewart AL, Turcan DM, Rawlings G, Reynolds EOR. Prognosis for infants weighing 1000 g or less at birth. *Arch Dis Child*. 1977;52(2):97-104. doi:10.1136/ADC.52.2.97
76. Bohn DJ, Miyasaka K, Marchak BE, Thompson WK, Froese AB, Bryan AC. Ventilation by high-frequency oscillation. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1980;48(4):710-716. doi:10.1152/JAPPL.1980.48.4.710
77. Severinghaus JW. Takuo Aoyagi: discovery of pulse oximetry. *Anesth Analg*. 2007;105(6 Suppl):S1. doi:10.1213/01.ANE.0000269514.31660.09
78. Fujiwara T, Chida S, Watabe Y, Maeta H, Morita T, Abe T. Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane disease. *The Lancet*. 1980;315(8159):55-59. doi:10.1016/S0140-6736(80)90489-4



79. European Standards of Care for Newborn Health.
80. Sweet DG, Carnielli V, Greisen G, Hallman M, Ozek E, Te Pas A, Plavka R, Roehr CC, Saugstad OD, Simeoni U, Speer CP, Vento M, Visser GHA, Halliday HL. European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome - 2019 Update. *Neonatology*. 2019;115(4):432-450. doi: 10.1159/000499361
81. Patel RM, Kandefer S, Walsh MC, et al. Causes and Timing of Death in Extremely Premature Infants from 2000 through 2011. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(4):331-340. doi:10.1056/NEJMOA1403489/SUPPL\_FILE/NEJMOA1403489\_DISCLOSURES.PDF
82. Dargaville PA, Gerber A, Johansson S, et al. Incidence and Outcome of CPAP Failure in Preterm Infants. *Pediatrics*. 2016;138(1). doi:10.1542/PEDS.2015-3985
83. Davis PG, Morley CJ, Owen LS. Non-invasive respiratory support of preterm neonates with respiratory distress: continuous positive airway pressure and nasal intermittent positive pressure ventilation. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009;14(1):14-20. doi:10.1016/J.SINY.2008.08.003
84. Milani C, Duranti S, Bottacini F, et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2017;81(4). doi:10.1128/MMBR.00036-17
85. The Integrative Human Microbiome Project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease. *Cell Host Microbe*. 2014;16(3):276-289. doi:10.1016/J.CHOM.2014.08.014
86. Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. *Front Microbiol*. 2016;7(JUL). doi:10.3389/FMICB.2016.01031
87. Chong CYL, Bloomfield FH, O’Sullivan JM. Factors Affecting Gastrointestinal Microbiome Development in Neonates. *Nutrients* 2018, Vol 10, Page 274. 2018;10(3):274. doi:10.3390/NU10030274
88. Küstner O. Beitrag zur Lehre von der puerperalen Infection der Neugeborenen. *Archiv für Gynäkologie 1877 11:2*. 1877;11(2):256-263. doi:10.1007/BF01845161
89. Senn V, Bassler D, Choudhury R, et al. Microbial Colonization From the Fetus to Early Childhood-A Comprehensive Review. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10. doi:10.3389/FCIMB.2020.573735
90. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6(237). doi:10.1126/SCITRANSLMED.3008599
91. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific Reports 2016 6:1*. 2016;6(1):1-13. doi:10.1038/srep23129
92. Gosalbes MJ, Vallès Y, Jiménez-Hernández N, et al. High frequencies of antibiotic resistance genes in infants’ meconium and early fecal samples. *J Dev Orig Health Dis*. 2016;7(1):35-44. doi:10.1017/S2040174415001506
93. Rackaityte E, Halkias J, Fukui EM, et al. Viable bacterial colonization is highly limited in the human intestine in utero. *Nat Med*. 2020;26(4):599-607. doi:10.1038/S41591-020-0761-3
94. Olomu IN, Pena-Cortes LC, Long RA, et al. Elimination of “kitome” and “splashome” contamination results in lack of detection of a unique placental microbiome. *BMC Microbiology*. 2020;20(1):1-19. doi:10.1186/S12866-020-01839-Y/TABLES/3
95. Gasparrini AJ, Wang B, Sun X, et al. Persistent metagenomic signatures of early-life hospitalization and antibiotic treatment in the infant gut microbiota and resistome. *Nature Microbiology 2019 4:12*. 2019;4(12):2285-2297. doi:10.1038/s41564-019-0550-2
96. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009;457(7228):480-484. doi:10.1038/NATURE07540
97. Chong CYL, Bloomfield FH, O’Sullivan JM. Factors Affecting Gastrointestinal Microbiome Development in Neonates. *Nutrients*. 2018;10(3). doi:10.3390/NU10030274
98. Bergström A, Skov TH, Bahl MI, et al. Establishment of Intestinal Microbiota during Early Life: a Longitudinal, Explorative Study of a Large Cohort of Danish Infants. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014;80(9):2889. doi:10.1128/AEM.00342-14

99. Houghteling PD, Walker WA. Why is initial bacterial colonization of the intestine important to infants' and children's health? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60(3):294-307. doi:10.1097/MPG.0000000000000597
100. Akagawa S, Tsuji S, Onuma C, et al. Effect of Delivery Mode and Nutrition on Gut Microbiota in Neonates. *Ann Nutr Metab.* 2019;74(2):132-139. doi:10.1159/000496427
101. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(26):11971-11975. doi:10.1073/PNAS.1002601107/SUPPL\_FILE/PNAS.201002601SI.PDF
102. Chernikova DA, Koestler DC, Hoen AG, et al. Fetal exposures and perinatal influences on the stool microbiota of premature infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(1):99. doi:10.3109/14767058.2014.987748
103. Brooks B, Olm MR, Firek BA, et al. The developing premature infant gut microbiome is a major factor shaping the microbiome of neonatal intensive care unit rooms. *Microbiome.* 2018;6(1):1-12. doi:10.1186/S40168-018-0493-5/FIGURES/5
104. Patel AL, Mutlu EA, Sun Y, et al. Longitudinal Survey of Microbiota in Hospitalized Preterm Very-Low-Birth-Weight Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;62(2):292-303. doi:10.1097/MPG.0000000000000913
105. Brooks B, Firek BA, Miller CS, et al. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. *Microbiome.* 2014;2(1). doi:10.1186/2049-2618-2-1
106. Schwartz A, Gruhl B, Löbnitz M, Michel P, Radke M, Blaut M. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatr Res.* 2003;54(3):393-399. doi:10.1203/01.PDR.0000078274.74607.7A
107. Henderickx JGE, Zwittink RD, van Lingen RA, Knol J, Belzer C. The preterm gut microbiota: An inconspicuous challenge in nutritional neonatal care. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2019;9(APR):85. doi:10.3389/FCIMB.2019.00085/BIBTEX
108. Caruso G, Pedà C, Cappello S, et al. Effects of microplastics on trophic parameters, abundance and metabolic activities of seawater and fish gut bacteria in mesocosm conditions. *Environmental Science and Pollution Research* 2018 25:30. 2018;25(30):30067-30083. doi:10.1007/S11356-018-2926-X
109. Grier A, Qiu X, Bandyopadhyay S, et al. Impact of prematurity and nutrition on the developing gut microbiome and preterm infant growth. *Microbiome.* 2017;5(1):158. doi:10.1186/S40168-017-0377-0
110. Underwood MA, Sohn K. The Microbiota of the Extremely Preterm Infant. *Clin Perinatol.* 2017;44(2):407-427. doi:10.1016/J.CLP.2017.01.005
111. Mai V, Torrazza RM, Ukhanova M, et al. Distortions in development of intestinal microbiota associated with late onset sepsis in preterm infants. *PLoS One.* 2013;8(1). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0052876
112. Taft DH, Ambalavanan N, Schibler KR, et al. Center Variation in Intestinal Microbiota Prior to Late-Onset Sepsis in Preterm Infants. *PLoS One.* 2015;10(6). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0130604
113. el Manouni El Hassani S, Niemarkt HJ, Berkhout DJC, et al. Profound Pathogen-Specific Alterations in Intestinal Microbiota Composition Precede Late-Onset Sepsis in Preterm Infants: A Longitudinal, Multicenter, Case-Control Study. *Clin Infect Dis.* 2021;73(1):E224-E232. doi:10.1093/CID/CIAA1635
114. Cuna A, Morowitz MJ, Ahmed I, Umar S, Sampath V. Dynamics of the preterm gut microbiome in health and disease. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2021;320(4):G411-G419. doi:10.1152/AJPGI.00399.2020/ASSET/IMAGES/MEDIUM/GI-00399-2020R01.PNG
115. Underwood MA. Arguments for routine administration of probiotics for NEC prevention. *Curr Opin Pediatr.* 2019;31(2):188-194. doi:10.1097/MOP.0000000000000732

116. Alfaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal*. 2014;9(3):584-671. doi:10.1002/EBCH.1976
117. Baranowski JR, Claud EC. Necrotizing Enterocolitis and the Preterm Infant Microbiome. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2019;1125:25-36. doi:10.1007/5584\_2018\_313
118. Ohishi A, Takahashi S, Ito Y, et al. Bifidobacterium septicemia associated with postoperative probiotic therapy in a neonate with omphalocele. *J Pediatr*. 2010;156(4):679-681. doi:10.1016/J.JPEDI.2009.11.041
119. Tacconelli E, Sifakis F, Harbarth S, et al. Surveillance for control of antimicrobial resistance. *The Lancet Infectious Diseases*. 2018;18(3):e99-e106. doi:10.1016/S1473-3099(17)30485-1
120. Tacconelli E, Pezzani MD. Public health burden of antimicrobial resistance in Europe. *The Lancet Infectious Diseases*. 2019;19(1):4-6. doi:10.1016/S1473-3099(18)30648-0
121. Hawkey PM. The growing burden of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62 Suppl 1. doi:10.1093/JAC/DKN241
122. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(3):268-281. doi:10.1111/J.1469-0691.2011.03570.X
123. Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin Infect Dis*. 2016;63(3):310-318. doi:10.1093/CID/CIW283
124. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2018;18(3):318-327. doi:10.1016/S1473-3099(17)30753-3
125. Moore WEC, Cato EP, Holdeman L v. Some current concepts in intestinal bacteriology. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1978;31(10):S33-S42. doi:10.1093/AJCN/31.10.S33
126. Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rolles CJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli in early infancy. *Arch Dis Child*. 1990;65(2):185-188. doi:10.1136/ADC.65.2.185
127. Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birthweight infants. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*. 1999;80(3):F167. doi:10.1136/FN.80.3.F167
128. Nowrouzian F, Hesselmar B, Saalman R, et al. Escherichia coli in Infants' Intestinal Microflora: Colonization Rate, Strain Turnover, and Virulence Gene Carriage. *Pediatric Research* 2003 54:1. 2003;54(1):8-14. doi:10.1203/01.pdr.0000069843.20655.ee
129. Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr*. 1985;144(2):186-190. doi:10.1007/BF00451911
130. la Rosa PS, Warner BB, Zhou Y, et al. Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(34):12522-12527. doi:10.1073/PNAS.1409497111
131. Chernikova DA, Madan JC, Housman ML, et al. The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth. *Pediatr Res*. 2018;84(1):71-79. doi:10.1038/S41390-018-0022-Z
132. Stewart CJ, Embleton ND, Clements E, et al. Cesarean or Vaginal Birth Does Not Impact the Longitudinal Development of the Gut Microbiome in a Cohort of Exclusively Preterm Infants. *Front Microbiol*. 2017;8(JUN). doi:10.3389/FMICB.2017.01008
133. Aguilar-Lopez M, Dinsmoor AM, Ho TTB, Donovan SM. A systematic review of the factors influencing microbial colonization of the preterm infant gut. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1-33. doi:10.1080/19490976.2021.1884514

134. Folgori L, Ellis SJ, Bielicki JA, Heath PT, Sharland M, Balasegaram M. Tackling antimicrobial resistance in neonatal sepsis. *The Lancet Global Health*. 2017;5(11):e1066-e1068. doi:10.1016/S2214-109X(17)30362-5
135. Russell AB, Sharland M, Heath PT. Improving antibiotic prescribing in neonatal units: time to act. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2012;97(2). doi:10.1136/ADC.2007.120709
136. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(3):318-327. doi:10.1016/S1473-3099(17)30753-3
137. Bezabih YM, Sabiiti W, Alamneh E, et al. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76(1):22-29. doi:10.1093/JAC/DKAA399
138. Legeay C, Hue R, Berton C, et al. Control strategy for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in nursing homes: perspectives inspired from three outbreaks. *Journal of Hospital Infection*. 2019;101(2):183-187. doi:10.1016/J.JHIN.2018.10.020
139. Clock SA, Ferng YH, Tabibi S, et al. Colonization With Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Bacilli at Neonatal Intensive Care Unit Discharge. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2017;6(3):219-226. doi:10.1093/JPIDS/PIW014
140. Yan L, Sun J, Xu X, Huang S. Epidemiology and risk factors of rectal colonization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among high-risk patients from ICU and HSCT wards in a university hospital. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2020;9(1):1-8. doi:10.1186/S13756-020-00816-4/TABLES/2
141. Tran DM, Larsson M, Olson L, et al. High prevalence of colonisation with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among patients admitted to Vietnamese hospitals: Risk factors and burden of disease. *J Infect*. 2019;79(2):115-122. doi:10.1016/J.JINF.2019.05.013
142. Danino D, Melamed R, Sterer B, et al. Mother-to-child transmission of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Hosp Infect*. 2018;100(1):40-46. doi:10.1016/J.JHIN.2017.12.024
143. Wolf MF, Shqara RA, Naskovica K, et al. Vertical Transmission of Extended-Spectrum, Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae during Preterm Delivery: A Prospective Study. *Microorganisms*. 2021;9(3):1-14. doi:10.3390/MICROORGANISMS9030506
144. Logan LK, Renschler JP, Gandra S, Weinstein RA, Laxminarayan R. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in Children, United States, 1999–2012. *Emerging Infectious Diseases*. 2015;21(11):2014. doi:10.3201/EID2111.150548
145. Logan LK, Braykov NP, Weinstein RA, Laxminarayan R. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing and Third-Generation Cephalosporin-Resistant Enterobacteriaceae in Children: Trends in the United States, 1999-2011. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2014;3(4):320-328. doi:10.1093/JPIDS/PIU010
146. Riccio M, Verschuuren T, Conzelmann N, et al. Journal Pre-proof Household acquisition and transmission of ESBL-producing Enterobacteriaceae after hospital discharge of ESBL-positive index patients. Published online 2021. doi:10.1016/j.cmi.2020.12.024
147. Jamal AJ, Faheem A, Farooqi L, et al. Household Transmission of Carbapenemase-producing Enterobacteriales in Ontario, Canada. *Clin Infect Dis*. 2021;73(11):e4607-e4615. doi:10.1093/CID/CIAA1295
148. Riccio ME, Verschuuren T, Conzelmann N, et al. Household acquisition and transmission of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) -producing Enterobacteriaceae after hospital discharge of ESBL-positive index patients. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(9):1322-1329. doi:10.1016/J.CMI.2020.12.024
149. Nordberg V, Jonsson K, Giske CG, et al. Neonatal intestinal colonization with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae—a 5-year follow-up study. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(9):1004-1009. doi:10.1016/J.CMI.2017.12.028

150. Bar-Yoseph H, Hussein K, Braun E, Paul M. Natural history and decolonization strategies for ESBL/carbapenem-resistant Enterobacteriaceae carriage: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(10):2729-2739. doi:10.1093/JAC/DKW221
151. Titelman E, Hasan CM, Iversen A, et al. Faecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae is common 12 months after infection and is related to strain factors. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(8). doi:10.1111/1469-0691.12559
152. Kim YK, Song SA, Lee JN, et al. Clinical factors predicting persistent carriage of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among patients with known carriage. *J Hosp Infect.* 2018;99(4):405-412. doi:10.1016/J.JHIN.2017.10.017
153. Zimmerman FS, Assous M v., Bdolah-Abram T, Lachish T, Yinnon AM, Wiener-Well Y. Duration of carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae following hospital discharge. *Am J Infect Control.* 2013;41(3):190-194. doi:10.1016/J.AJIC.2012.09.020
154. Fleischmann-Struzek C, Goldfarb DM, Schlattmann P, Schlapbach LJ, Reinhart K, Kissoon N. The global burden of paediatric and neonatal sepsis: a systematic review. *The Lancet Respiratory Medicine.* 2018;6(3):223-230. doi:10.1016/S2213-2600(18)30063-8
155. Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ. Neonatal sepsis. *Lancet.* 2017;390(10104):1770-1780. doi:10.1016/S0140-6736(17)31002-4
156. Vodič za osnovno i specijalizovano zbrinjavanje novorođenčeta | UNICEF Srbija. Accessed March 2, 2022. <https://www.unicef.org/serbia/publikacije/vodi%C4%8D-za-osnovno-i-specijalizovano-zbrinjavanje-novoro%C4%91en%C4%8Deta>
157. Polin RA, Papile LA, Baley JE, et al. Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. *Pediatrics.* 2012;129(5):1006-1015. doi:10.1542/PEDS.2012-0541
158. Coffin SE, Zaoutis TE. HealthCare–Associated Infections in the Nursery. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn.* Published online 2011:1126. doi:10.1016/B978-1-4160-6400-8.00035-3
159. Breeze AC. Infectious diseases of the fetus and newborn infant, 6th edn. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition.* 2007;92(2):F156. doi:10.1136/ADC.2006.102566
160. Gerdes JS. Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. *Israel Journal of Medical Sciences.* 1994;30(5-6):430-441.
161. Le J, Nguyen T, Okamoto M, McKamy S, Lieberman JM. Impact of empiric antibiotic use on development of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase bacteria in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(4):314-318. doi:10.1097/INF.0B013E3181606850
162. Baltimore RS. Neonatal sepsis: epidemiology and management. *Paediatr Drugs.* 2003;5(11):723-740. doi:10.2165/00148581-200305110-00002
163. Afonso EDP, Blot S. Effect of gestational age on the epidemiology of late-onset sepsis in neonatal intensive care units - a review. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017;15(10):917-924. doi:10.1080/14787210.2017.1379394
164. Fleischmann C, Reichert F, Cassini A, et al. Global incidence and mortality of neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Disease in Childhood.* 2021;106(8):745-752. doi:10.1136/ARCHDISCHILD-2020-320217
165. Popescu CR, Cavanagh MMM, Tembo B, et al. Neonatal sepsis in low-income countries: epidemiology, diagnosis and prevention. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2020;18(5):443-452. doi:10.1080/14787210.2020.1732818
166. Jiang S, Yang C, Yang C, et al. Epidemiology and microbiology of late-onset sepsis among preterm infants in China, 2015-2018: A cohort study. *Int J Infect Dis.* 2020;96:1-9. doi:10.1016/J.IJID.2020.03.034
167. Benjamin DK, DeLong E, Cotten CM, Garges HP, Steinbach WJ, Clark RH. Mortality following blood culture in premature infants: increased with Gram-negative bacteremia and candidemia, but not Gram-positive bacteremia. *J Perinatol.* 2004;24(3):175-180. doi:10.1038/SJ.JP.7211068

168. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2002;110(2 Pt 1):285-291. doi:10.1542/PEDS.110.2.285
169. Adams-Chapman I, Hansen NI, Shankaran S, et al. Ten-year review of major birth defects in VLBW infants. *Pediatrics*. 2013;132(1):49-61. doi:10.1542/PEDS.2012-3111
170. Blencowe H, Cousens S. Addressing the challenge of neonatal mortality. *Trop Med Int Health*. 2013;18(3):303-312. doi:10.1111/TMI.12048
171. Rosenthal VD, Bat-Erdene I, Gupta D, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 45 countries for 2012-2017: Device-associated module. *Am J Infect Control*. 2020;48(4):423-432. doi:10.1016/J.AJIC.2019.08.023
172. Kim YK, Pai H, Lee HJ, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(5):1481-1491. doi:10.1128/AAC.46.5.1481-1491.2002
173. Paterson DL, Ko WC, von Gottberg A, et al. Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis*. 2004;39(1):31-37. doi:10.1086/420816
174. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunctive Therapies. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2008;29(12):1099-1106. doi:10.1086/592412
175. Stapleton PJM, Murphy M, McCallion N, Brennan M, Cunney R, Drew RJ. Outbreaks of extended spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in neonatal intensive care units: a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2016;101(1):F72-F78. doi:10.1136/ARCHDISCHILD-2015-308707
176. Baier C, Pirr S, Ziesing S, et al. Prospective surveillance of bacterial colonization and primary sepsis: findings of a tertiary neonatal intensive and intermediate care unit. *J Hosp Infect*. 2019;102(3):325-331. doi:10.1016/J.JHIN.2019.01.021
177. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6(1). doi:10.1097/01.PCC.0000149131.72248.E6
178. Wynn JL, Polin RA. Progress in the management of neonatal sepsis: the importance of a consensus definition. *Pediatr Res*. 2018;83(1-1):13-15. doi:10.1038/PR.2017.224
179. Wynn JL, Wong HR, Shanley TP, Bizzarro MJ, Saiman L, Polin RA. Time for a neonatal-specific consensus definition for sepsis. *Pediatr Crit Care Med*. 2014;15(6):523-528. doi:10.1097/PCC.0000000000000157
180. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J Pediatr*. 1996;129(2):275-278. doi:10.1016/S0022-3476(96)70254-8
181. Käpä P, Koistinen E. Maternal and neonatal C-reactive protein after interventions during delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1993;72(7):543-546. doi:10.3109/00016349309058160
182. Folgori L, Bielicki J. Future Challenges in Pediatric and Neonatal Sepsis: Emerging Pathogens and Antimicrobial Resistance. *J Pediatr Intensive Care*. 2019;8(1):017-024. doi:10.1055/S-0038-1677535
183. Downie L, Armiento R, Subhi R, Kelly J, Clifford V, Duke T. Community-acquired neonatal and infant sepsis in developing countries: efficacy of WHO's currently recommended antibiotics--systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2013;98(2):146-154. doi:10.1136/ARCHDISCHILD-2012-302033
184. Zaidi AKM, Huskins WC, Thaver D, Bhutta ZA, Abbas Z, Goldmann DA. Hospital-acquired neonatal infections in developing countries. *Lancet*. 2005;365(9465):1175-1188. doi:10.1016/S0140-6736(05)71881-X

185. Cantey JB, Wozniak PS, Pruszynski JE, Sánchez PJ. Reducing unnecessary antibiotic use in the neonatal intensive care unit (SCOUT): a prospective interrupted time-series study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(10):1178-1184. doi:10.1016/S1473-3099(16)30205-5
186. Datta S, Roy S, Chatterjee S, et al. A Five-Year Experience of Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae Causing Neonatal Septicaemia: Predominance of NDM-1. *PLOS ONE*. 2014;9(11):e112101. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0112101
187. el Manouni El Hassani S, Niemarkt HJ, Berkhout DJC, et al. Profound Pathogen-Specific Alterations in Intestinal Microbiota Composition Precede Late-Onset Sepsis in Preterm Infants: A Longitudinal, Multicenter, Case-Control Study. *Clin Infect Dis*. 2021;73(1):E224-E232. doi:10.1093/CID/CIAA1635
188. Tarr PI, Warner BB. Gut bacteria and late-onset neonatal bloodstream infections in preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2016;21(6):388-393. doi:10.1016/J.SINY.2016.06.002
189. Madan JC, Salari RC, Saxena D, et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2012;97(6):F456. doi:10.1136/FETALNEONATAL-2011-301373
190. Chiotos K, Han JH, Tamma PD. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections in Children. *Curr Infect Dis Rep*. 2016;18(1):1-11. doi:10.1007/S11908-015-0510-9
191. Parm Ü, Metsvaht T, Sepp E, et al. Impact of empiric antibiotic regimen on bowel colonization in neonates with suspected early onset sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29(7):807-816. doi:10.1007/S10096-010-0931-1
192. Basu S. Neonatal sepsis: the gut connection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34(2):215-222. doi:10.1007/S10096-014-2232-6
193. RKI - Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention - Prävention und Kontrolle von MRSA in medizinischen und pflegerischen Einrichtungen, Empfehlung der KRINKO, Bundesgesundheitsblatt 6/2014. Accessed March 2, 2022. [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/MRSA\\_Rili.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/MRSA_Rili.html)
194. Benenson S, Levin PD, Block C, et al. Continuous Surveillance to Reduce Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Colonization in the Neonatal Intensive Care Unit. *Neonatology*. 2013;103(2):155-160. doi:10.1159/000343150
195. Spratt BG, Cromie KD. Penicillin-binding proteins of gram-negative bacteria. *Rev Infect Dis*. 1988;10(4):699-711. doi:10.1093/CLINIDS/10.4.699
196. Livermore DM. Defining an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008;14(SUPPL. 1):3-10. doi:10.1111/J.1469-0691.2007.01857.X
197. Rawat D, Nair D. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*. 2010;2(3):263. doi:10.4103/0974-777X.68531
198. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):969-976. doi:10.1128/AAC.01009-09
199. Ambler RP. The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, Biological Sciences*. 1980;289(1036):321-331. doi:10.1098/RSTB.1980.0049
200. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39(6):1211-1233. doi:10.1128/AAC.39.6.1211
201. Jaurin B, Grundstrom T. ampC cephalosporinase of *Escherichia coli* K-12 has a different evolutionary origin from that of beta-lactamases of the penicillinase type. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(8):4897. doi:10.1073/PNAS.78.8.4897
202. Huovinen S, Huovinen P, Jacoby GA. Detection of plasmid-mediated beta-lactamases with DNA probes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1988;32(2):175. doi:10.1128/AAC.32.2.175
203. Bush K. Past and present perspectives on  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2018;62(10). doi:10.1128/AAC.01076-18/ASSET/C7F83EDE-7270-4C1C-A7C3-A9DD5566FFD1/ASSETS/GRAPHIC/ZAC0101875200003.JPEG

204. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(4):657-686. doi:10.1128/CMR.18.4.657-686.2005
205. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1985;28(2):302. doi:10.1128/AAC.28.2.302
206. Sirot D, Sirot J, Labia R, et al. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother.* 1987;20(3):323-334. doi:10.1093/JAC/20.3.323
207. Bauernfeind A, Schweighart S, Grimm H. A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection.* 1990;18(5):294-298. doi:10.1007/BF01647010
208. Cantón R, Coque TM. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Current Opinion in Microbiology.* 2006;9(5):466-475. doi:10.1016/J.MIB.2006.08.011
209. Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, et al. Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 2008;168(17):1897-1902. doi:10.1001/ARCHINTE.168.17.1897
210. Giske CG, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, et al. Redefining extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: balancing science and clinical need—authors' response. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2009;64(1):213-215. doi:10.1093/JAC/DKP143
211. EUCAST: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. Accessed March 2, 2022. [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
212. EUCAST: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. Accessed March 2, 2022. [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
213. Potter RF, D'Souza AW, Dantas G. The rapid spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Drug Resist Updat.* 2016;29:30-46. doi:10.1016/J.DRUP.2016.09.002
214. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile  $\beta$ -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews.* 2007;20(3):440-458. doi:10.1128/CMR.00001-07
215. Naas T, Nordmann P. Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR-type regulatory protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(16):7693-7697. doi:10.1073/PNAS.91.16.7693
216. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(10):1791-1798. doi:10.3201/EID1710.110655
217. Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM. The emerging NDM carbapenemases. *Trends Microbiol.* 2011;19(12):588-595. doi:10.1016/J.TIM.2011.09.005
218. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(1):15-22. doi:10.1128/AAC.48.1.15-22.2004
219. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(7):1597-1606. doi:10.1093/JAC/DKS121
220. Niaid. NIAID Antimicrobial Resistance Program: Current Status and Future Directions 2014. Published online 2014.
221. Kelly AM, Mathema B, Larson EL. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the community: a scoping review. *Int J Antimicrob Agents.* 2017;50(2):127-134. doi:10.1016/J.IJANTIMICAG.2017.03.012
222. Djuric O, Jovanovic S, Stosovic B, Tosic T, Jovanovic M, Markovic-Denic L. Antimicrobial resistance of selected invasive bacteria in a tertiary care center: results of a prospective surveillance study. *The Journal of Infection in Developing Countries.* 2016;10(12):1325-1331. doi:10.3855/jidc.7695
223. Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance. Annual report 2018 (2018). Published online May 15, 2019. Accessed March 2, 2022. <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2018/central-asian-and-eastern-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-annual-report-2018-2018>



224. Palmieri M, D'Andrea MM, Pelegrin AC, et al. Genomic Epidemiology of Carbapenem- and Colistin-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates From Serbia: Predominance of ST101 Strains Carrying a Novel OXA-48 Plasmid. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:294. doi:10.3389/FMICB.2020.00294/BIBTEX
225. Novović K, Trudić A, Brkić S, et al. Molecular Epidemiology of Colistin-Resistant, Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Serbia from 2013 to 2016. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(5). doi:10.1128/AAC.02550-16
226. Grundmann H, Glasner C, Albigier B, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(2):153-163. doi:10.1016/S1473-3099(16)30257-2
227. Ludden C, Lötsch F, Alm E, et al. Cross-border spread of blaNDM-1- And blaOXA-48 positive *Klebsiella pneumoniae*: A European collaborative analysis of whole genome sequencing and epidemiological data, 2014 to 2019. *Eurosurveillance*. 2020;25(20):2000627. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.20.2000627/CITE/PLAINTEXT
228. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAESAR). Published online March 2, 2022. Accessed March 2, 2022. <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/surveillance/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-caesar>
229. Djordjevic ZM, Markovic-Denic L, Folic MM, Igrutinovic Z, Jankovic SM. Health care-acquired infections in neonatal intensive care units: risk factors and etiology. *Am J Infect Control*. 2015;43(1):86-88. doi:10.1016/J.AJIC.2014.10.005
230. Slavka Durutović-Gligorović. *Antropometrijski Normativi Novorođenčadi*. 2nd ed. Unknown; 2000.
231. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr*. 1978;92(4):529-534. doi:10.1016/S0022-3476(78)80282-0
232. Papadimitriou-Olivgeris M, Bartzavali C, Christofidou M, et al. Performance of chromID® CARBA medium for carbapenemases-producing enterobacteriaceae detection during rectal screening. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2014;33(1):35-40. doi:10.1007/S10096-013-1925-6
233. EUCAST: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. Accessed April 27, 2022. [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
234. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(1):119-123. doi:10.1016/J.DIAGMICROBIO.2010.12.002
235. Dallenne C, da Costa A, Decré D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(3):490-495. doi:10.1093/JAC/DKP498
236. Pessoa-Silva CL, Meurer Moreira B, Câmara Almeida V, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit: risk factors for infection and colonization. *J Hosp Infect*. 2003;53(3):198-206. doi:10.1053/JHIN.2002.1373
237. Gajic I, Jovicevic M, Milic M, et al. Clinical and molecular characteristics of OXA-72-producing *Acinetobacter baumannii* ST636 outbreak at a neonatal intensive care unit in Serbia. *Journal of Hospital Infection*. 2021;112:54-60. doi:10.1016/J.JHIN.2021.02.023
238. Mioljević V, Marković-Denić L, Vidović A, Jovanović M, Tošić T, Tomin D. Risk factors for vancomycin-resistant *Enterococcus* colonization in hematologic patients. *Vojnosanit Pregl*. 2013;70(12):1109-1116. doi:10.2298/VSP1312109M
239. Janjusevic A, Markovic Denic L, Minic R, Grgurevic A, Cirkovic I. Intestinal carriage of vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. among high-risk patients in university hospitals in Serbia: first surveillance report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2021;20(1). doi:10.1186/S12941-021-00423-0

240. Mitra S, Sivakumar P, Oughton J, Ossueta I. National surveillance study of extended spectrum  $\beta$  lactamase (ESBL) producing organism infection in neonatal units of England and Wales. *Archives of Disease in Childhood*. 2011;96(Suppl 1):A47-A47. doi:10.1136/ADC.2011.212563.104
241. Blaschke AJ, Korgenski EK, Daly JA, LaFleur B, Pavia AT, Byington CL. Extended-spectrum beta-lactamase-producing pathogens in a children's hospital: a 5-year experience. *Am J Infect Control*. 2009;37(6):435-441. doi:10.1016/J.AJIC.2008.09.019
242. Giuffre M, Geraci DM, Bonura C, et al. The Increasing Challenge of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli: Results of a 5-Year Active Surveillance Program in a Neonatal Intensive Care Unit. *Medicine*. 2016;95(10). doi:10.1097/MD.00000000000003016
243. Kothari C, Gaiind R, Singh LC, et al. Community acquisition of  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae in neonatal gut. *BMC Microbiology*. 2013;13(1):1-6. doi:10.1186/1471-2180-13-136/TABLES/3
244. Tola MA, Abera NA, Gebeyehu YM, Dinku SF, Tullu KD. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* fecal carriage among children under five years in Addis Ababa, Ethiopia. *PLOS ONE*. 2021;16(10):e0258117. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0258117
245. Desta K, Woldeamanuel Y, Azazh A, et al. High gastrointestinal colonization rate with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospitalized patients: Emergence of carbapenemase-producing *K. pneumoniae* in Ethiopia. *PLoS ONE*. 2016;11(8). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0161685
246. Farra A, Frank T, Tondeur L, et al. High rate of faecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy children in Bangui, Central African Republic. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(10):891.e1-891.e4. doi:10.1016/J.CMI.2016.07.001
247. Isendahl J, Turlej-Rogacka A, Manjuba C, Rodrigues A, Giske CG, Nauc ler P. Fecal carriage of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* in children in Guinea-Bissau: a hospital-based cross-sectional study. *PLoS One*. 2012;7(12). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0051981
248. Kagia N, Kosgei P, Ooko M, et al. Carriage and Acquisition of Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacteriales Among Neonates Admitted to Hospital in Kilifi, Kenya. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;69(5):751-759. doi:10.1093/CID/CIY976
249. Arhoun B, Fakir S el, Himri S, et al. Intense intestinal carriage and subsequent acquisition of multidrug-resistant enterobacteria in neonatal intensive care unit in Morocco. *PLOS ONE*. 2021;16(6):e0251810. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0251810
250. Nordberg V, Quizhpe Peralta A, Galindo T, et al. High proportion of intestinal colonization with successful epidemic clones of ESBL-producing Enterobacteriaceae in a neonatal intensive care unit in Ecuador. *PLoS One*. 2013;8(10). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0076597
251. Chaintarli K, Lenglet A, Beauzile BD, et al. High prevalence of ESBL-positive bacteria in an obstetrics emergency hospital and neonatal care unit-Haiti, 2016. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2018;39(11):1381-1383. doi:10.1017/ICE.2018.213
252. Lee YQ, Ahmad Kamar A, Velayuthan RD, Chong CW, Teh CSJ. Clonal relatedness in the acquisition of intestinal carriage and transmission of multidrug resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* and its risk factors among preterm infants admitted to the neonatal intensive care unit (NICU). *Pediatr Neonatol*. 2021;62(2):129-137. doi:10.1016/J.PEDNEO.2020.10.002
253. Schaumburg F, Alabi A, Kokou C, et al. High burden of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Gabon. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(9):2140-2143. doi:10.1093/JAC/DKT164
254. Boo NY, Ng SF, Lim VKE. A case-control study of risk factors associated with rectal colonization of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella sp.* in newborn infants. *J Hosp Infect*. 2005;61(1):68-74. doi:10.1016/J.JHIN.2005.01.025

255. Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis.* 2017;215(suppl\_1):S28-S36. doi:10.1093/INFDIS/JIW282
256. Chiotos K, Tamma PD, Flett KB, et al. Multicenter Study of the Risk Factors for Colonization or Infection with Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in Children. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2017;61(12). doi:10.1128/AAC.01440-17
257. Folgori L, Bielicki J, Heath PT, Sharland M. Antimicrobial-resistant Gram-negative infections in neonates: burden of disease and challenges in treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30(3):281-288. doi:10.1097/QCO.0000000000000371
258. Montagnani C, Prato M, Scolfaro C, et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae Infections in Children: An Italian Retrospective Multicenter Study. *Pediatr Infect Dis J.* 2016;35(8):862-868. doi:10.1097/INF.0000000000001188
259. Singh NP, Choudhury D das, Gupta K, et al. Predictors for gut colonization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in neonates in a neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control.* 2018;46(6):e31-e35. doi:10.1016/J.AJIC.2018.01.007
260. Yin L, He L, Miao J, et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriales colonization and subsequent infection in a neonatal intensive care unit in Shanghai, China. *Infection prevention in practice.* 2021;3(3). doi:10.1016/J.INFPIP.2021.100147
261. Tran DM, Larsson M, Olson L, et al. High prevalence of colonisation with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among patients admitted to Vietnamese hospitals: Risk factors and burden of disease. *J Infect.* 2019;79(2):115-122. doi:10.1016/J.JINF.2019.05.013
262. Solgi H, Badmasti F, Aminzadeh Z, et al. Molecular characterization of intestinal carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among inpatients at two Iranian university hospitals: first report of co-production of bla NDM-7 and bla OXA-48. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36(11):2127-2135. doi:10.1007/S10096-017-3035-3
263. Lübbert C, Lippmann N, Busch T, et al. Long-term carriage of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2-producing *K pneumoniae* after a large single-center outbreak in Germany. *Am J Infect Control.* 2014;42(4):376-380. doi:10.1016/J.AJIC.2013.12.001
264. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20 Suppl 1(S1):1-55. doi:10.1111/1469-0691.12427
265. Empfehlung zur Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g: Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2007;50(10):1265. doi:10.1007/S00103-007-0337-0
266. Litz JE, Goedicke-Fritz S, Härtel C, Zemlin M, Simon A. Management of early- and late-onset sepsis: results from a survey in 80 German NICUs. *Infection.* 2019;47(4):557-564. doi:10.1007/S15010-018-1263-9
267. Anthony M, Bedford-Russell A, Cooper T, et al. Managing and preventing outbreaks of Gram-negative infections in UK neonatal units. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013;98(6). doi:10.1136/ARCHDISCHILD-2012-303540
268. O'Connor C, Philip RK, Kelleher J, et al. The first occurrence of a CTX-M ESBL-producing *Escherichia coli* outbreak mediated by mother to neonate transmission in an Irish neonatal intensive care unit. *BMC Infectious Diseases.* 2017;17(1). doi:10.1186/S12879-016-2142-6
269. Rybczynska H, Melander E, Johansson H, Lundberg F. Efficacy of a once-a-week screening programme to control extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in a neonatal intensive care unit. *Scand J Infect Dis.* 2014;46(6):426-432. doi:10.3109/00365548.2014.896027

270. Mammina C, di Carlo P, Cipolla D, et al. Surveillance of multidrug-resistant gram-negative bacilli in a neonatal intensive care unit: prominent role of cross transmission. *Am J Infect Control*. 2007;35(4):222-230. doi:10.1016/J.AJIC.2006.04.210
271. Simon A, Tenenbaum T. Surveillance of multidrug-resistant Gram-negative pathogens in high-risk neonates--does it make a difference? *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(4):407-409. doi:10.1097/INF.0B013E3182875227
272. Actions to contain carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) - GOV.UK. Accessed April 27, 2022. <https://www.gov.uk/government/publications/actions-to-contain-carbapenemase-producing-enterobacterales-cpe>
273. Millar M, Philpott A, Wilks M, et al. Colonization and Persistence of Antibiotic-Resistant Enterobacteriaceae Strains in Infants Nursed in Two Neonatal Intensive Care Units in East London, United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008;46(2):560. doi:10.1128/JCM.00832-07
274. Vijayakanthi N, Bahl D, Kaur N, Maria A, Dubey NK. Frequency and characteristics of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms in neonates: a prospective cohort study. *Biomed Res Int*. 2013;2013. doi:10.1155/2013/756209
275. Rettedal S, Löhr IH, Natås O, Sundsfjord A, Øymar K. Risk factors for acquisition of CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* during an outbreak in a neonatal intensive care unit in Norway. *Scand J Infect Dis*. 2013;45(1):54-58. doi:10.3109/00365548.2012.713116
276. Abdel-Hady H, Hawas S, El-Daker M, El-Kady R. Extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in neonatal intensive care unit. *J Perinatol*. 2008;28(10):685-690. doi:10.1038/JP.2008.73
277. Huang Y, Zhuang S, Du M. Risk factors of nosocomial infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in a neonatal intensive care unit in China. *Infection*. 2007;35(5):339-345. doi:10.1007/S15010-007-6356-9
278. Crivaro V, Bagattini M, Salza MF, et al. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing *Serratia marcescens* and *Klebsiella pneumoniae* acquisition in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2007;67(2):135-141. doi:10.1016/J.JHIN.2007.07.026
279. Shakil S, Akram M, Ali SM, Khan AU. Acquisition of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* strains in male and female infants admitted to a neonatal intensive care unit: molecular epidemiology and analysis of risk factors. *J Med Microbiol*. 2010;59(Pt 8):948-954. doi:10.1099/JMM.0.020214-0
280. Das P, Singh AK, Pal T, Dasgupta S, Ramamurthy T, Basu S. Colonization of the gut with Gram-negative bacilli, its association with neonatal sepsis and its clinical relevance in a developing country. *J Med Microbiol*. 2011;60(Pt 11):1651-1660. doi:10.1099/JMM.0.033803-0
281. Cassettari VC, da Silveira IR, Dropa M, et al. Risk factors for colonisation of newborn infants during an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an intermediate-risk neonatal unit. *J Hosp Infect*. 2009;71(4):340-347. doi:10.1016/J.JHIN.2008.11.019
282. Tacconelli E, Górská A, de Angelis G, et al. Estimating the association between antibiotic exposure and colonization with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative bacteria using machine learning methods: a multicentre, prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(1):87-94. doi:10.1016/J.CMI.2019.05.013
283. Ofek-Shlomai N, Benenson S, Ergaz Z, Peleg O, Braunstein R, Bar-Oz B. Gastrointestinal colonization with ESBL-producing *Klebsiella* in preterm babies--is vancomycin to blame? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(4):567-570. doi:10.1007/S10096-011-1348-1
284. Artelt T, Kaase M, Bley I, et al. Transmission Risk on a Neonatal Intensive Care Unit: *Escherichia coli* versus *Klebsiella pneumoniae*. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology = Journal Canadien des Maladies Infectieuses et de la Microbiologie Médicale*. 2018;2018. doi:10.1155/2018/1525072

285. Mukhopadhyay S, Sengupta S, Puopolo KM. Challenges and opportunities for antibiotic stewardship among preterm infants. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*. 2019;104(3):F327-F332. doi:10.1136/ARCHDISCHILD-2018-315412
286. Hsieh EM, Hornik CP, Clark RH, Laughon MM, Benjamin DK, Smith PB. Medication use in the neonatal intensive care unit. *Am J Perinatol*. 2014;31(9):811-821. doi:10.1055/S-0033-1361933
287. Klein G. Antibiotic Resistance and Molecular Characterization of Probiotic and Clinical Lactobacillus Strains in Relation to Safety Aspects of Probiotics. <https://home.liebertpub.com/fpd>. 2011;8(2):267-281. doi:10.1089/FPD.2010.0672
288. Letouzey M, Foix-L'Hélias L, Torchin H, et al. Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: the EPIPAGE-2 cohort study. *Pediatric Research*. 2021;90(3):584-592. doi:10.1038/s41390-021-01411-y
289. Ozkan H, Cetinkaya M, Koksall N, Celebi S, Hacimustafaoglu M. Culture-proven neonatal sepsis in preterm infants in a neonatal intensive care unit over a 7 year period: coagulase-negative Staphylococcus as the predominant pathogen. *Pediatr Int*. 2014;56(1):60-66. doi:10.1111/PED.12218
290. Ma L, Peng Q, Wang W, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight preterm infants: 7 years' experience at a tertiary hospital in China. *Pediatr Neonatol*. 2021;62(5):529-535. doi:10.1016/J.PEDNEO.2021.05.011
291. Pokhrel B, Koirala T, Shah G, Joshi S, Baral P. Bacteriological profile and antibiotic susceptibility of neonatal sepsis in neonatal intensive care unit of a tertiary hospital in Nepal. *BMC Pediatr*. 2018;18(1). doi:10.1186/S12887-018-1176-X
292. Ljungquist O, Schönbeck M, Riesbeck K, Tham J. Risk factors associated with prolonged intestinal colonization of ESBL-producing Enterobacteriaceae – a prospective cohort study. *Infection and Drug Resistance*. 2019;12:2637. doi:10.2147/IDR.S205163
293. Tischendorf J, de Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A systematic review. *Am J Infect Control*. 2016;44(5):539-543. doi:10.1016/J.AJIC.2015.12.005
294. Papadimitriou-Olivgeris M, Marangos M, Fligou F, et al. Risk factors for KPC-producing Klebsiella pneumoniae enteric colonization upon ICU admission. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(12):2976-2981. doi:10.1093/JAC/DKS316
295. Torres-González P, Bobadilla-Del Valle M, Tovar-Calderón E, et al. Outbreak Caused by Enterobacteriaceae Harboring NDM-1 Metallo-β-Lactamase Carried in an IncFII Plasmid in a Tertiary Care Hospital in Mexico City. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015;59(11):7080-7083. doi:10.1128/AAC.00055-15
296. Andrey DO, Dantas PP, Martins WBS, et al. An Emerging Clone, Klebsiella pneumoniae Carbapenemase 2–Producing K. pneumoniae Sequence Type 16, Associated With High Mortality Rates in a CC258-Endemic Setting. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(7):e141-e150. doi:10.1093/CID/CIZ1095
297. Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *The Journal of Infectious Diseases*. 2017;215(Suppl 1):S28. doi:10.1093/INFDIS/JIW282
298. Novovic K, Filipic B, Veljovic K, Begovic J, Mirkovic N, Jovicic B. Environmental waters and blaNDM-1 in Belgrade, Serbia: endemicity questioned. *Sci Total Environ*. 2015;511:393-398. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2014.12.072
299. Baizat M, Zaharie G, Iancu M, Muresan D, Hășmășanu M, Procopciuc LM. Potential Clinical Predictors of Suspected Early and Late Onset Sepsis (EOS and LOS) in Preterm Newborns: a Single Tertiary Center Retrospective Study. *Clin Lab*. 2019;65(7):1299-1308. doi:10.7754/CLIN.LAB.2019.190105
300. RISK FACTORS FOR NEONATAL SEPSIS IN NEONATAL INTENSIVE CARE UNIT: EVIDENCE STUDY FATORES DE RISCO PARA SEPSE NEONATAL EM UNIDADE DE

TERAPIA: ESTUDO DE EVIDÊNCIA. Accessed April 27, 2022. <http://revistas.ufpr.br/cogitare/>

301. Macdonald A, Green J. Necrotising enterocolitis and neonatal sepsis: A literature review. *Journal of Neonatal Nursing*. 2018;24(2):80-85. doi:10.1016/J.JNN.2017.08.001
302. Vaishnavi C. Translocation of gut flora and its role in sepsis. *Indian J Med Microbiol*. 2013;31(4):334-342. doi:10.4103/0255-0857.118870
303. Horbar JD, Soll RF, Edwards WH. The Vermont Oxford Network: a community of practice. *Clin Perinatol*. 2010;37(1):29-47. doi:10.1016/J.CLP.2010.01.003
304. Battersby C, Longford N, Costeloe K, Modi N. Development of a Gestational Age-Specific Case Definition for Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *JAMA Pediatr*. 2017;171(3):256-263. doi:10.1001/JAMAPEDIATRICS.2016.3633
305. Collins A, Weitkamp JH, Wynn JL. Why are preterm newborns at increased risk of infection? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2018;103(4):F391. doi:10.1136/ARCHDISCHILD-2017-313595
306. Taylor RS. Probiotics to prevent necrotizing enterocolitis: Too cheap and easy? *Paediatrics & Child Health*. 2014;19(7):351. doi:10.1093/PCH/19.7.351
307. Boirivant M, Strober W. The mechanism of action of probiotics. *Curr Opin Gastroenterol*. 2007;23(6):679-692. doi:10.1097/MOG.0B013E3282F0CFFC
308. Zhang GQ, Hu HJ, Liu CY, Shakya S, Li ZY. Probiotics for Preventing Late-Onset Sepsis in Preterm Neonates: A PRISMA-Compliant Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Medicine*. 2016;95(8). doi:10.1097/MD.0000000000002581
309. Wieërs G, Verbelen V, van den Driessche M, et al. Do Probiotics During In-Hospital Antibiotic Treatment Prevent Colonization of Gut Microbiota With Multi-Drug-Resistant Bacteria? A Randomized Placebo-Controlled Trial Comparing *Saccharomyces* to a Mixture of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Saccharomyces*. *Frontiers in Public Health*. 2021;8:1039. doi:10.3389/FPUH.2020.578089/BIBTEX
310. Su GL, Ko CW, Bercik P, et al. AGA Clinical Practice Guidelines on the Role of Probiotics in the Management of Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology*. 2020;159(2):697-705. doi:10.1053/J.GASTRO.2020.05.059
311. Poindexter B, Cummings J, Hand I, et al. Use of Probiotics in Preterm Infants. *Pediatrics*. 2021;147(6). doi:10.1542/PEDS.2021-051485
312. Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, lo Vecchio A, Shamir R, Szajewska H. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59(1):132-152. doi:10.1097/MPG.0000000000000375
313. Chrzanowska-Liszewska D, Seliga-Siwecka J, Kornacka MK. The effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG supplemented enteral feeding on the microbiotic flora of preterm infants-double blinded randomized control trial. *Early Hum Dev*. 2012;88(1):57-60. doi:10.1016/J.EARLHUMDEV.2011.07.002
314. Villamor-Martinez E, Cavallaro G, Raffaelli G, et al. Chorioamnionitis as a risk factor for retinopathy of prematurity: An updated systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2018;13(10). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0205838
315. Villamor-Martinez E, Álvarez-Fuente M, Ghazi AMT, et al. Association of Chorioamnionitis With Bronchopulmonary Dysplasia Among Preterm Infants: A Systematic Review, Meta-analysis, and Metaregression. *JAMA Network Open*. 2019;2(11):e1914611-e1914611. doi:10.1001/JAMANETWORKOPEN.2019.14611
316. Londhe VA, Maisonet TM, Lopez B, et al. Conditional deletion of epithelial IKK $\beta$  impairs alveolar formation through apoptosis and decreased VEGF expression during early mouse lung morphogenesis. *Respiratory Research*. 2011;12(1):1-16. doi:10.1186/1465-9921-12-134/FIGURES/8

317. Bhandari V. Postnatal inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2014;100(3):189-201. doi:10.1002/BDRA.23220
318. Polglase GR, Hillman NH, Ball MK, et al. Lung and systemic inflammation in preterm lambs on continuous positive airway pressure or conventional ventilation. *Pediatr Res*. 2009;65(1):67-71. doi:10.1203/PDR.0B013E318189487E
319. Tillema MS, Lorenz KL, Weiss MG, Dries DJ. Sublethal endotoxemia promotes pulmonary cytokine-induced neutrophil chemoattractant expression and neutrophil recruitment but not overt lung injury in neonatal rats. *Biol Neonate*. 2000;78(4):308-314. doi:10.1159/000014285
320. Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017;2017(3). doi:10.1002/14651858.CD004454.PUB3/PDF/FULL
321. Olaloko O, Mohammed R, Ojha U. Evaluating the use of corticosteroids in preventing and treating bronchopulmonary dysplasia in preterm neonates. *Int J Gen Med*. 2018;11:265-274. doi:10.2147/IJGM.S158184
322. Al-Essa M, Azad R v., Rashwan N. Threshold stage of retinopathy of prematurity: maternal and neonatal risk factors. *Ann Saudi Med*. 2000;20(2):129-131. doi:10.5144/0256-4947.2000.129
323. Araz-Ersan B, Kir N, Akarcay K, et al. Epidemiological analysis of retinopathy of prematurity in a referral centre in Turkey. *Br J Ophthalmol*. 2013;97(1):15-17. doi:10.1136/BJOPHTHALMOL-2011-301411
324. Huang J, Meng J, Choonara I, et al. Antenatal infection and intraventricular hemorrhage in preterm infants: A meta-analysis. *Medicine*. 2019;98(31). doi:10.1097/MD.00000000000016665
325. van de Bor M, Verloove-Vanhorick SP, Brand R, Ruys JH. Patent ductus arteriosus in a cohort of 1338 preterm infants: a collaborative study. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 1988;2(4):328-336. doi:10.1111/J.1365-3016.1988.TB00227.X
326. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, et al. Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr*. 1996;129(1):72-80. doi:10.1016/S0022-3476(96)70192-0
327. Gonzalez A, Sosenko IRS, Chandar J, Hummler H, Claire N, Bancalari E. Influence of infection on patent ductus arteriosus and chronic lung disease in premature infants weighing 1000 grams or less. *J Pediatr*. 1996;128(4):470-478. doi:10.1016/S0022-3476(96)70356-6
328. Vucovich MM, Cotton RB, Shelton EL, et al. Aminoglycoside-mediated relaxation of the ductus arteriosus in sepsis-associated PDA. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2014;307(5):H732. doi:10.1152/AJPHEART.00838.2013
329. Shea-Donohue T, Notari L, Sun R, Zhao A. Mechanisms of smooth muscle responses to inflammation. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24(9):802-811. doi:10.1111/J.1365-2982.2012.01986.X
330. Groeneveld ABJ. Vascular pharmacology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Vascul Pharmacol*. 2002;39(4-5):247-256. doi:10.1016/S1537-1891(03)00013-2
331. Stephens BE, Gargus RA, Walden R v., et al. Fluid regimens in the first week of life may increase risk of patent ductus arteriosus in extremely low birth weight infants. *J Perinatol*. 2008;28(2):123-128. doi:10.1038/SJ.JP.7211895
332. Liu C, Zhu X, Li D, Shi Y. Related Factors of Patent Ductus Arteriosus in Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;8:880. doi:10.3389/FPED.2020.605879/BIBTEX
333. Meropol SB, Stange KC, Jacobs MR, Weiss JK, Bajaksouzian S, Bonomo RA. Bacterial Colonization and Antibiotic Resistance in a Prospective Cohort of Newborn Infants During the First Year of Life. *Open Forum Infectious Diseases*. 2016;3(4). doi:10.1093/OFID/OFW221
334. Johnson J, Quach C. Outbreaks in the neonatal ICU: a review of the literature. *Curr Opin Infect Dis*. 2017;30(4):395-403. doi:10.1097/QCO.0000000000000383

335. Levy SSS, Mello MJG, Gusmão-filho FAR, Correia JB. Colonisation by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella* spp. in a paediatric intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*. 2010;76(1):66-69. doi:10.1016/J.JHIN.2010.03.008
336. Lee J, Banerjee D. Metabolomics and the Microbiome as Biomarkers in Sepsis. *Crit Care Clin*. 2020;36(1):105-113. doi:10.1016/J.CCC.2019.08.008
337. Stewart CJ, Marrs ECL, Nelson A, et al. Development of the preterm gut microbiome in twins at risk of necrotising enterocolitis and sepsis. *PLoS One*. 2013;8(8). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0073465
338. Valverde A, Grill F, Coque TM, et al. High rate of intestinal colonization with extended-spectrum-beta-lactamase-producing organisms in household contacts of infected community patients. *J Clin Microbiol*. 2008;46(8):2796-2799. doi:10.1128/JCM.01008-08
339. Hilty M, Betsch BY, Bögli-Stuber K, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. *Clin Infect Dis*. 2012;55(7):967-975. doi:10.1093/CID/CIS581
340. Viau RA, Hujer AM, Marshall SH, et al. "Silent" dissemination of *Klebsiella pneumoniae* isolates bearing K. pneumoniae carbapenemase in a long-term care facility for children and young adults in Northeast Ohio. *Clin Infect Dis*. 2012;54(9):1314-1321. doi:10.1093/CID/CIS036
341. Birgand G, Armand-Lefevre L, Lolom I, Ruppe E, Andremont A, Lucet JC. Duration of colonization by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae after hospital discharge. *Am J Infect Control*. 2013;41(5):443-447. doi:10.1016/J.AJIC.2012.05.015
342. ÖstholmBalkhed Å, Tärnberg M, Nilsson M, Nilsson LE, Hanberger H, Hällgren A. Duration of travel-associated faecal colonisation with ESBL-producing Enterobacteriaceae - A one year follow-up study. *PLoS One*. 2018;13(10). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0205504
343. Rodríguez-Revuelta MJ, López-Cerero L, Serrano L, Luna-Lagares S, Pascual A, Rodríguez-Baño J. Duration of Colonization by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Healthy Newborns and Associated Risk Factors: A Prospective Cohort Study. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5(12). doi:10.1093/OFID/OFY312
344. Ben-David D, Masarwa S, Navon-Venezia S, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in post-acute-care facilities in Israel. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32(9):845-853. doi:10.1086/661279
345. Yang Z, Sun Q, Chen S, Ding S, Zhang R, Zhu K. Genomic and Phenotypic Analysis of Persistent Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates from a 5-Year Hospitalized Patient. *Microb Drug Resist*. 2021;27(8):1117-1125. doi:10.1089/MDR.2020.0225
346. Korach-Rechtman H, Hreish M, Fried C, et al. Intestinal Dysbiosis in Carriers of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *mSphere*. 2020;5(2). doi:10.1128/MSPHERE.00173-20
347. Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC Antimicrob Resist*. 2021;3(3). doi:10.1093/JACAMR/DLAB092
348. Souna D, Amir AS, Bekhoucha SN, Berrazeg M, Drissi M. Molecular typing and characterization of TEM, SHV, CTX-M, and CMY-2  $\beta$ -lactamases in *Enterobacter cloacae* strains isolated in patients and their hospital environment in the west of Algeria. *Medecine et maladies infectieuses*. 2014;44(4):146-152. doi:10.1016/J.MEDMAL.2014.01.008
349. Silago V, Kovacs D, Samson H, et al. Existence of Multiple ESBL Genes among Phenotypically Confirmed ESBL Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Concurrently Isolated from Clinical, Colonization and Contamination Samples from Neonatal Units at Bugando Medical Center, Mwanza, Tanzania. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(5). doi:10.3390/ANTIBIOTICS10050476
350. Carvalho I, Chenouf NS, Carvalho JA, et al. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* harboring extended spectrum  $\beta$ -lactamase encoding genes isolated from human septicemias. *PLoS One*. 2021;16(5). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0250525



351. Peco-Antić A, Paripović D, Buljugić S, et al. In vivo susceptibility of ESBL producing *Escherichia coli* to ceftriaxone in children with acute pyelonephritis. *Srp Arh Celok Lek.* 2012;140(5-6):321-325. doi:10.2298/SARH1206321P
352. Bedenić B, Vraneš J, Hofmann-Thiel S, et al. Characterization of the extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and determination of the virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children. *Wien Klin Wochenschr.* 2012;124(15-16):504-515. doi:10.1007/S00508-012-0210-5
353. Bedenić B, Randegger C, Stobberingh E, Hächler H. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases from *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in Zagreb, Croatia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2001;20(7):505-508. doi:10.1007/PL00011293
354. Vranic-Ladavac M, Bosnjak Z, Beader N, Barisic N, Kalenic S, Bedenic B. Clonal spread of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Croatian hospital. *J Med Microbiol.* 2010;59(Pt 9):1069-1078. doi:10.1099/JMM.0.019778-0
355. Ibrahimagić A, Bedenić B, Kamberović F, Uzunović S. High prevalence of CTX-M-15 and first report of CTX-M-3, CTX-M-22, CTX-M-28 and plasmid-mediated AmpC beta-lactamase producing Enterobacteriaceae causing urinary tract infections in Bosnia and Herzegovina in hospital and community settings. *J Infect Chemother.* 2015;21(5):363-369. doi:10.1016/J.JIAC.2015.01.003
356. Chong Y, Ito Y, Kamimura T. Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Genet Evol.* 2011;11(7):1499-1504. doi:10.1016/J.MEEGID.2011.06.001
357. Brkić S, Božić D, Stojanović N, et al. Antimicrobial Susceptibility and Molecular Characterization of Carbapenemase-Producing *Enterobacter* spp. Community Isolates in Belgrade, Serbia. *Microb Drug Resist.* 2020;26(4):378-384. doi:10.1089/MDR.2019.0224
358. Aires CAM, Pereira PS, Rocha-De-Souza CM, Silveira MC, Carvalho-Assef APDA, Asensi MD. Population Structure of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Surveillance Rectal Swabs in Brazil. *Microb Drug Resist.* 2020;26(6):652-660. doi:10.1089/MDR.2019.0166
359. Jelic M, Butic I, Plecko V, et al. KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Croatia: A Nationwide Survey. *Microb Drug Resist.* 2016;22(8):662-667. doi:10.1089/MDR.2015.0150
360. ben Tanfous F, Alonso CA, Achour W, Ruiz-Ripa L, Torres C, ben Hassen A. First Description of KPC-2-Producing *Escherichia coli* and ST15 OXA-48-Positive *Klebsiella pneumoniae* in Tunisia. *Microb Drug Resist.* 2017;23(3):365-375. doi:10.1089/MDR.2016.0090
361. Tacconelli E. Antimicrobial use: risk driver of multidrug resistant microorganisms in healthcare settings. *Curr Opin Infect Dis.* 2009;22(4):352-358. doi:10.1097/QCO.0B013E32832D52E0

## LISTA SKRAĆENICA

A amikacin  
AS Apgar skor  
AMC amoksisicilin-klavulanska kiselina  
BPD bronhopulmonalna displazija  
CTX cefotaksim  
CZD ceftazidim  
CTR ceftriakson  
CHL hloramfenikol  
COL kolistin  
CP cefepim  
CIP ciprofloksacin  
CRE enterobakterije rezistentne na karbapeneme  
C-reaktivni protein CRP  
CPAP terapija kontinuiranim pozitivnim pritiskom  
DAP perzistentni duktus arteriozusa  
ESBL beta laktamaze proširenog spektra delovanja  
EMTM novorođenčad ekstremno male telesne mase sa PTM manje od 1000 g  
G gentamicin  
GBS –  $\beta$  hemolitički streptokok grupe B  
GN gestaciona nedelja  
HFOV visoko frekventna ventilacija  
IVH intraventrikularna hemoragija  
KPC *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaze  
MEM meropenem  
MDR multirezistentne bakterija  
MBLs metalo- $\beta$ -laktamaza  
MV mehanička ventilacija  
MTM novorođenčad male telesne mase sa PTM manje od 2500 g  
NCPAP nazalna terapija kontinuiranim pozitivnim pritiskom  
NEK nekrotični enterokolitis  
NS neonatalna sepsa  
OXA oksacilinaze  
OIN odeljenje intenzivne nege  
PTM telesna masa na rođenju  
ROP retinopatija prematuriteta  
RDS respiratorni distress sindrom  
TZP trimetoprim-sulfametoksazol  
SIRS sindroma sistemskog inflamatornog odgovora (engl. systemic inflammatory response syndrome - SIRS)  
TPI totalna parenteralna ishrana  
VUK venski umbilikalni kateter  
VMTM novorođenčad veoma male telesne mase sa PTM manje od 1500 g

## BIOGRAFIJA

Marija Milić, rođena je 20.01.1978. godine u Požarevcu, u kojem je završila osnovnu školu i Požarevačku gimnaziju. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1996. i na njemu diplomirala 30.05.2003. godine, sa prosečnom ocenom 8,4.

Magistarske studije iz imunologije upisala je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2004. godine. Magistarsku tezu, čiji je mentor bila prof dr Marija Mostarica-Stojković, pod nazivom "Uticaj eksperimentalne infekcije helmintom *Trichinella spiralis* na pojavu i tok eksperimentalnog autoimunskog encefalomijelitisa kod DA pacova" odbranila je 2010. godine.

Specijalističke studije iz pedijatrije upisala je 2007.godine, a 2014. položila specijalistički ispit sa odličnom ocenom.

Nakon završenog opšteg lekarskog staža, zaposlena od 2005. u Institutu za primenu nuklearne energije na odeljenju za imunologiju i imunoparazitologiju.

Od februara 2007. godine zaposlena je u Institutu za neonatologiju, Kralja Milana 50, Beograd do januara 2022. Od januara 2022.godine zaposlena u Ginekološko akušerskoj klinici "Narodni front".

Doktorske akademske studije upisala 2017/18 god na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu u okviru studijskog programa Mikrobi i infekcija.

Do sada ima publikovana tri rada u međunarodnim časopisima (M22), jedan M21, kao i jedan rad u istaknutom nacionalnom časopisu (M52).

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Марија Милић

Број индекса 2017/5175

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Колонизација гастроинтестиналног тракта превремено рођене деце  
мултирезистентним ентеробактеријама – успостављање, одржавање колонизације и  
генотипска карактеризација сојева“

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину другихлица.

**Потпис аутора**

У Београду, 4.3.2022.



## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Марија Милић

Број индекса 2017/5175

Студијски програм Микроби и инфекција

Наслов рада Колонизација гастроинтестиналног тракта превремено рођене деце мултирезистентним ентеробактеријама – успостављање, одржавање колонизације и генотипска карактеризација сојева“

Ментор проф др Вера Мијач

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис аутора**

У Београду, 4.3.2022.



---

### Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

---

Колонизација гастроинтестиналног тракта превремено рођене деце мултирезистентним ентеробактеријама – успостављање, одржавање колонизације и генотипска карактеризација сојева“

---

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, 4.3.2022.

Потпис аутора



1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.