

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E
DO ADOLESCENTE

**MICROBIOLOGIA DE ASPIRADO TRAQUEAL DE
CRIANÇAS TRAQUEOSTOMIZADAS E SUA
RELAÇÃO COM DADOS CLÍNICOS EM UM
HOSPITAL TERCIÁRIO DO BRASIL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GUSTAVO VASCONCELOS SEVERO

Porto Alegre
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E
DO ADOLESCENTE

**MICROBIOLOGIA DE ASPIRADO TRAQUEAL DE
CRIANÇAS TRAQUEOSTOMIZADAS E SUA
RELAÇÃO COM DADOS CLÍNICOS EM UM
HOSPITAL TERCIÁRIO DO BRASIL**

GUSTAVO VASCONCELOS SEVERO

ORIENTADOR: Professor Dr. Paulo José Cauduro Marostica

CO-ORIENTADORA: Professora Dra. Cláudia Schweiger

“A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre”

Porto Alegre
2019

CIP - Catalogação na
Publicação

Vasconcellos Severo, Gustavo
MICROBIOLOGIA DE ASPIRADO TRAQUEAL DE CRIANÇAS
TRAQUEOSTOMIZADAS E SUA RELAÇÃO COM DADOS CLÍNICOS EM
UM HOSPITAL TERCIÁRIO DO BRASIL / Gustavo Vasconcellos
Severo. -- 2019.

75 f.

Orientador: Paulo Jose Cauduro Maróstica.

Coorientadora: Cláudia Schweiger.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,
Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Crianças. 2. Traqueostomia. 3. Aspirado
traqueal. 4. Via aérea pediátrica. 5. Cultural de via
aérea. I. Cauduro Maróstica, Paulo Jose, orient. II.
Schweiger, Cláudia, coorient. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E
DO ADOLESCENTE

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

02/10/2019

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dr. Afonso Luis Barth

(Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Prof^a. Dr^a. Melissa Ameloti Gomes Avelino

(Departamento de Cirurgia, Universidade Federal de Goiás)

Prof. Dr. Paulo Roberto Antonacci Carvalho

(Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente - PPGSCA,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

DEDICATÓRIA

“Dedico a meus pais, às minhas avós, ao meu irmão, meus amigos próximos, meus professores e à minha companheira, vocês todos de alguma forma ajudaram a formar meu caráter, incentivaram minha curiosidade pela pesquisa e forneceram o suporte para que esse trabalho pudesse ser realizado.”

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos os que me incentivaram e contribuíram para que eu conseguisse chegar neste momento da minha vida, não é possível citar cada pessoa individualmente, pois ocuparia muitas páginas dessa dissertação, porém estas foram as de maior importância:

Minha namorada e companheira Adriana Kramer Fiala Machado que inúmeras vezes me escutou, teve paciência para realizar inúmeras consultorias estatísticas, desde as mais banais dúvidas até algumas das mais complexas, me ajudou com as análises do banco de dados (vantagens de ter uma mestra e doutoranda em Epidemiologia em casa), entendeu quando eu tinha de deixar de fazer atividades de lazer e viajar quase 300km para ficar envolvido com o mestrado, entre muitas outras coisas.

Minha família em especial minha mãe, meu pai e meu irmão por terem me dado toda a estrutura que tive para conseguir estudar, me formar e continuar estudando e interessado nas áreas da pesquisa e do ensino. Às minhas avós que foram a base para toda essa estrutura, em especial a Seny que sempre está disponível para ajudar ao menor esboço de pedido de socorro.

Às minhas duas professoras: Denise Manica que me ensinou e ajudou muito durante meu primeiro ano de residência e três anos depois me acolheu em um hospital diferente como se nunca tivesse existido todo esse intervalo de tempo; Claudia Schweiger que, mesmo estando à distância em certos períodos, forneceu todo suporte possível quando precisei, me incentivou a estudar e a gostar de via aérea pediátrica. Ambas são exemplos de profissionais qualificadas, de professoras e principalmente exemplos como

pessoa, aprendi e evolui muito com vocês e ficaria muito feliz se conseguisse me tornar pelo menos um terço do que vocês são hoje em dia.

Ao meu orientador Professor Marostica que me instruiu durante a dissertação, aguentou meu otimismo exacerbado, me deu puxões de orelha em que ele achava que estava sendo rude, mas que ao meu ver nunca passaram de conselhos sérios e importantes para o andamento do estudo. E por fim, ao grupo de pesquisa em via aérea pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, me ajudaram muito com dicas, conhecimentos diversos e sugestões para o enriquecimento dessa pesquisa. Sem a participação de todos vocês nada disso poderia ter ocorrido.

RESUMO

Objetivos: Verificar a prevalência de Bactérias Potencialmente Patogênicas (BPP) e seu perfil de resistência antimicrobiana em aspirados traqueais de crianças com traqueostomia; comparar desfechos clínicos entre pacientes colonizados e não-colonizados por BPP e com o número de bactérias colonizantes;

Métodos: Foram incluídos todos os pacientes entre 0-18 anos que foram submetidos à troca de cânula de traqueostomia pela equipe de otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre outubro de 2017 e dezembro de 2018. Durante o ato da troca de cânula foi realizado aspirado traqueal e a secreção foi encaminhada para exame cultural e teste de susceptibilidade a antibióticos. Os dados clínicos foram pesquisados no prontuário eletrônico dos pacientes.

Resultados: Foram elegíveis para o estudo 54 pacientes. Entretanto, o exame cultural não pôde ser realizado em 10 amostras devido à contaminação das mesmas por elementos de via aérea superior e foram considerados perdas. A prevalência de BPP no aspirado traqueal foi de 97,7% e somente em uma cultura não houve crescimento de BPP (2,3%); portanto, esta não foi incluída na comparação entre grupos. A mediana de idade foi de 3 anos e a mediana de idade na realização da traqueostomia foi de 9,3 meses. *Pseudomonas aeruginosa* foi a bactéria mais prevalente (56,9%) e apresentou resistência à gentamicina, à amicacina e ao cefepime em 36% 28% e 12% dos casos, respectivamente. A resistência da *P. aeruginosa* à gentamicina e ao cefepime teve associação com o número de classes de antibióticos utilizados nos 12 meses precedentes da coleta (ambos $p=0,04$) e também com o número de internações hospitalares no mesmo período de tempo, sendo mais prevalentes naqueles que internaram duas ou mais vezes ($p=0,03$ e $p=0,02$, respectivamente). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os pacientes

colonizados por *P. aeruginosa* e aqueles colonizados por outras cepas. *Staphylococcus aureus* foi encontrado em 9,1% das culturas, sendo que nenhum deles era *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA).

Conclusão: A prevalência de BPP foi de 97,7%, sendo que a principal bactéria colonizante foi a *P. aeruginosa* e não houve crescimento de MRSA. Além disso, os dados sugerem uma associação entre a resistência antimicrobiana da *P. aeruginosa* com o uso prévio de antibioticoterapia e com o número de internações hospitalares.

Palavras-chave: Crianças, traqueostomia, aspirado traqueal, via aérea pediátrica, cultural de via aérea

ABSTRACT

Tracheal aspirate bacterial cultures and antimicrobial resistance profile from children with tracheostomy: a study in a tertiary hospital in Brazil

Objectives: To verify the prevalence of Potentially Pathogenic Bacteria (PPB) and their antimicrobial resistance profile in tracheal aspirates of children with tracheostomy. To compare clinical outcomes between children with colonized and not colonized airway and the number of colonizing bacteria.

Methods: A cross-sectional study was conducted in patients aged 0-18 years who all underwent tracheostomy cannula change performed by the Otolaryngology Unit from Hospital de Clínicas de Porto Alegre between October, 2017 and December, 2018. Patients submitted, at the time of cannula change, to a tracheal aspirate through the tracheostomy. Then, the collected secretion was sent to bacteriological cultures and antimicrobial susceptibility testing. Clinical data were reviewed in the patients' electronic medical records.

Results: Fifty-four patients met the inclusion criteria for the study. However, in 10 patients the aspirates could not be cultured due to sample contamination with upper airway elements and were considered as losses. There was no bacterial growth in just one culture and it was not included for comparisons. PPB prevalence in tracheal aspirates was 97.7%. Median age of patients was 3 years-old and median age at the tracheostomy was 9.3 months-old. *Pseudomonas aeruginosa* was the most prevalent bacteria (56.9%) and it was resistant to gentamycin, amikacin and cefepime in 36%, 28% and 12% of the culture tests, respectively. *P. aeruginosa* resistance to gentamycin and to cefepime showed association with the number of antibiotic classes used in the 12 months before enrollment

(both $p=0.04$) and with 2 or more hospital admissions in the same period ($p=0.03$ and $p=0.02$, respectively). There was no difference between patients colonized with *P. aeruginosa* and those colonized by other bacteria. *Staphylococcus aureus* (SA) was isolated in 9.1% and there was no MRSA.

Conclusion: It was found a 97.7% prevalence of PPB in the cultured aspirates; the most prevalent bacterium was *P. aeruginosa* and there was no MRSA identification. Data suggest an association between *P. aeruginosa* antimicrobial resistance with previous use of antibiotic therapy and with the number of hospital admissions.

Keywords: children, tracheostomy, tracheal aspirate, airway, airway culture

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tracheostomized children tracheal aspirate results (n=54)	61
Figura 2 – <i>P. aeruginosa</i> antimicrobial susceptibility profile	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Patients’ main characteristics	59
Tabela 2 – Hospital admissions and length of stay	62
Tabela 3 – Main indications for tracheostomy	63
Tabela 4 – Prevalence of potentially pathogenic bacteria identified through tracheal aspirate cultures	64

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

aC – Antes de Cristo

ACHO - Ágar chocolate

AS - Ágar Sangue

AZ – Azida

BGNA - Bacilos Gram negativos aeróbios

BPP – Bactéria potencialmente patogênica

CGN - Cepa Gram negativa não-entérica

CLSI - *Clinical Laboratory Standarts Institute*

dC – Depois de Cristo

ESBL – Beta-lactamase de espectro estendido

EUA – Estados Unidos da América

IIQ – Intervalo interquartílico 25-75%

KPC - *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

MAC - MacConkey

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSSA – *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina

ORL – Otorrinolaringologista

RLT – Reconstrução laringotraqueal

ATS – *American Thoracic Society*

SUS - Serviço Único de Saúde

TET - Tubo endotraqueal

TQT – Traqueostomia

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

UTIP – Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica

VA – Via aérea

VAI – Via aérea inferior

VM – Ventilação mecânica

Vs. – *Versus*

TEG – Tecido de granulação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1	PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS	22
2.2	PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS QUANTO AS INDICAÇÕES DA TRAQUEOSTOMIA.....	22
2.3	MODIFICAÇÕES NA COLONIZAÇÃO DA VIA AÉREA APÓS REALIZAÇÃO DE TRAQUEOSTOMIA.....	23
2.4	PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO POR BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS	26
2.5	PRINCIPAIS BACTÉRIAS ENCONTRADAS NA VIA AÉREA DE PACIENTES TRAQUEOSTOMIZADOS.....	27
2.6	RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DAS PRINCIPAIS BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS ENCONTRADAS EM ASPIRADO TRAQUEAL DE CRIANÇAS TRAQUEOSTOMIZADAS	29
2.7	MOLDES LARINGOTRAQUEAIS E FORMAÇÃO DE GRANULAÇÃO EM VIA AÉREA.....	30
3	JUSTIFICATIVA	32
4	OBJETIVOS	33
4.1	OBJETIVO GERAL	33
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
5	MATERIAIS E MÉTODOS	34
5.1	DELINEAMENTO	34
5.2	AMOSTRAGEM	34
5.3	CÁLCULO DO TAMANHO DE AMOSTRA	34
5.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	34
5.5	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	35
5.6	LOGÍSTICA	35

5.7	DEFINIÇÃO DE BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS E DE COLONIZAÇÃO	35
5.8	TÉCNICA DE REALIZAÇÃO DOS EXAMES BACTERIOLÓGICO E BACTERIOSCÓPICO	36
5.9	RESULTADOS DO EXAME BACTERIOLÓGICO	36
5.10	TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA.....	37
5.11	DESFECHOS.....	37
5.12	REVISÃO DE PRONTUÁRIO E DADOS CLÍNICOS	37
5.13	ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5.14	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	38
	REFERÊNCIAS	40
6	ARTIGO	46
7	CONCLUSÃO	70
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
	ANEXO - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	72

1 INTRODUÇÃO

A traqueostomia (TQT) consiste em uma cirurgia de acesso à via aérea através da realização de uma abertura na traqueia e a colocação de uma cânula pelo estoma recém-formado. É um procedimento salvador de vidas, pois é classicamente usado para transpor uma obstrução de via aérea alta, a qual poderia causar parada respiratória e consequentemente a morte do indivíduo. Há vários relatos de seu uso ao longo da história em adultos, sendo os mais antigos que se tem conhecimento aquele do "*Ebers Papyrus*" e o do livro Hindu de medicina "*RigVeda*", os quais se acredita terem sido escritos no período de 1500 a.C. a 1500 d.C. Já em pacientes pediátricos, o primeiro caso de sucesso foi relatado em 1801 (GRILLO, 2003; MYER; COTTON, 1995).

Apesar da TQT existir há muitos séculos, o perfil de crianças que são submetidas a essa cirurgia mudou nas últimas décadas (WATTERS, 2017). A introdução das vacinas contra *H. influenzae* e *C. diphtheriae* nos anos de 1970 e 1980, junto com a modernização e a qualificação das Unidades de Terapia Intensiva (UTI) pediátricas e neonatais foram as prováveis responsáveis por essa importante mudança. Houve uma diminuição dos casos de obstrução de via aérea devido a causas inflamatórias agudas e um aumento na sobrevivência de pacientes graves, com alterações craniofaciais e/ou com patologias crônicas (cardiopulmonares, genéticas e neurológicas principalmente). Esses pacientes necessitam da TQT como medida de suporte para ventilação mecânica (VM) prolongada, para melhorar a higiene brônquica com aspiração de secreções ou até mesmo para evitar sequelas laríngeas devido à intubação orotraqueal, entre outras indicações (CARRON *et al.*, 2000; DURSUN; OZEL, 2011; LEWIS *et al.*, 2003; OGILVIE *et al.*, 2014; WATTERS, 2017)

A TQT necessita de cuidados de rotina intensivos, pois a oclusão da cânula por uma rolha de secreção ou mesmo uma decanulação acidental pode ter um desfecho grave (CARRON *et al.*, 2000; DIRECTORS, 2000). Faz parte dessa rotina a aspiração traqueal, a qual pode variar muito de frequência, dependendo da quantidade e das características da secreção. Também é necessário realizar trocas periódicas da cânula. Não existe, porém, um consenso sobre essa periodicidade, sendo sugerida pela *American Thoracic Society* (ATS) (DIRECTORS, 2000) que a troca seja semanal ou mensal com o propósito de impedir a formação de muco nas paredes da mesma e diminuir a formação de granulomas, a quantidade de formação de biofilmes bacterianos e infecções traqueais e/ou pulmonares. Por outro lado, as recomendações da ATS são baseadas na realidade dos serviços de saúde nos Estados Unidos e Canadá, a qual é bastante diferente daquela que o Serviço Único de Saúde (SUS) do Brasil tem que lidar. Devido à demanda de pacientes e a todos os custos que envolvem o procedimento da troca de cânula, seria impossível realizá-los tão frequentemente. Assim, no Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre a troca é realizada, em média, a cada três meses, seguindo diretrizes da Academia Brasileira de Otorrinolaringologia Pediátrica e Sociedade Brasileira de Pediatria (AVELINO *et al.*, 2017).

Os métodos de coleta utilizados para verificar a colonização bacteriana da via aérea de pacientes traqueostomizados variam conforme a população estudada, sendo os mais comuns o *swab* de orofaringe e a aspiração através da TQT ou através de tubo endotraqueal (TET). Mesmo utilizando métodos de coleta diferentes, estudos sempre demonstram uma alta prevalência de colonização bacteriana na via aérea de pacientes com TQT, a qual varia entre 76% e 100% (BROOK, 1979; NIEDERMAN *et al.*, 1984; POZZI *et al.*, 2014).

As bactérias mais frequentemente encontradas são a *P. aeruginosa* e o *S. aureus* (BROOK, 1979; MORAR *et al.*, 2002a; NIEDERMAN *et al.*, 1984; POZZI *et al.*, 2014). A presença dessas e de outras BPP está associada com formação de tecido de granulação e complicações infecciosas pós-laringotraqueoplastias (NOURAEI *et al.*, 2006; SIMONI; WIATRAC, 2004).

A prevalência de *S. aureus* variou de 51 a 74% em estudos realizados em países desenvolvidos, sendo que em um estudo americano foram encontradas cepas resistentes à meticilina em 56% de sua amostra (MCCALEB *et al.*, 2016; POZZI *et al.*, 2014; SANDERS *et al.*, 2018). Por outro lado, estudo realizado por El Cheikh *et al.* (2018), no Brasil, quando comparado com os estudos supracitados, mostrou menor prevalência de *S. aureus* (27,7%), assim como também não encontrou nenhum *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA).

Portanto, o conhecimento sobre quais microrganismos estão presentes nas TQTs e sua resistência antimicrobiana assim como o impacto clínico que isso determina é muito importante. Esse conhecimento pode propiciar o desenvolvimento de futuros estudos avaliando se o tratamento antimicrobiano e outras estratégias de manejo poderiam modificar desfechos desfavoráveis como a granulação de via aérea e as complicações infecciosas. Dessa forma, poderia prevenir eventos associados ao comprometimento na qualidade de vida da criança e, possivelmente, contribuir para a decanulação mais precoce naqueles pacientes elegíveis.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

A maioria dos estudos encontrados foi realizada nos Estados Unidos da América (EUA), seguida por países europeus; os demais tiveram localidades bem distintas (Israel, Canadá e Coréia do Sul) e somente um deles foi realizado no Brasil.

As características dos estudos encontrados foram diversos, provenientes de uma grande variedade de indivíduos estudados, tendo sido incluídas crianças em reabilitação por lesão neurológica aguda, em ventilação mecânica de curto e longo prazo, submetidas a cirurgias de reconstrução laringotraqueal, em internação hospitalar e em acompanhamento ambulatorial. Isso refletiu nos resultados que são semelhantes quanto às prevalências de colonização por BPP, porém diferem no quesito de qual bactéria é a mais prevalente, quanto às principais indicações de TQT e quanto à resistência antimicrobiana.

O principal método utilizado para análise dos desfechos foi a revisão de prontuário. A maioria dos estudos possui número pequeno de indivíduos estudados.

2.2 PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS QUANTO ÀS INDICAÇÕES DA TRAQUEOSTOMIA

A TQT é um meio de acessar a via aérea tanto de pacientes com afecções agudas como crônicas e, nesses últimos, geralmente vêm associadas com comorbidades clínicas importantes, o que torna essa população bastante heterogênea. Outro fator que corrobora para essa heterogeneidade é o fato de que o perfil das crianças estudadas depende das principais especialidades clínicas e cirúrgicas atuantes nos locais dos estudos.

De maneira geral, a realização da TQT ocorreu até o primeiro ano de vida (variação de mediana entre 0,28 a 1,01 anos) (AL-SAMRI *et al.*, 2010; MCCALEB *et al.*, 2016; MORAR *et al.*, 1998; SANDERS *et al.*, 2018), porém em um estudo ela foi realizada com maior frequência em crianças com mediana de 8 anos de idade (GRONHOJ *et al.*, 2017). Os principais motivos para realização da TQT variaram conforme a amostra estudada. Na maior parte dos artigos, a obstrução de via aérea associada ou não a alterações craniofaciais foi o fator mais prevalente, com variação de 58% a 77,7% (AL-SAMRI *et al.*, 2010; CLINE *et al.*, 2012; SANDERS *et al.*, 2018). Outras indicações vistas frequentemente foram alterações neurológicas, ventilação mecânica prolongada, insuficiência respiratória, doenças neuromusculares, paralisia cerebral, prematuridade, entre outras (AL-SAMRI *et al.*, 2010; CLINE *et al.*, 2012; GRONHOJ *et al.*, 2017; MCCALEB *et al.*, 2016; SANDERS *et al.*, 2018); porém, devido a diferentes subclassificações utilizadas pelos estudos, é difícil mostrar a variação de seus dados. Al-Samri *et al.* (2010) enfatizaram em seu estudo que crianças menores são submetidas à TQT devido a alterações craniofaciais enquanto as maiores por necessidade de ventilação mecânica prolongada.

Conforme exposto acima, existe grande heterogeneidade e complexidade em crianças que necessitam de TQT e isso é espelhado nos estudos presentes na literatura. Dessa maneira, a extrapolação dos resultados entre diferentes estudos é difícil.

2.3 MODIFICAÇÕES NA COLONIZAÇÃO DA VIA AÉREA APÓS REALIZAÇÃO DE TRAQUEOSTOMIA

Morar *et al.* (1998, 2000, 2002a, 2002b) estudaram o impacto que a TQT teria na via aérea de crianças e, para isso, conduziram coorte prospectiva que incluiu crianças em ventilação mecânica que necessitaram de TQT. Como método de coleta do material,

utilizaram o *swab* de orofaringe no momento da chegada do paciente à UTI pediátrica e o repetiram duas vezes por semana; também foram coletados aspirados traqueais via tubo endotraqueal (TET) ou via TQT, após realizada, uma vez por semana e novamente quando havia indicação clínica de coleta por suspeita de infecção. Em 1998, viram que a colonização da traqueia inicialmente durante ventilação via TET era de 71% e após a realização da TQT passou a 95%. Nesse mesmo estudo, encontraram que bactérias que foram identificadas previamente à TQT na cultura da orofaringe eram as principais causadoras de colonização (80%) e infecção (75%) do TET, enquanto que após a TQT, as mesmas foram responsáveis somente por 56% da colonização e 45% das infecções da TQT. Quando consideraram aquelas bactérias que não cresceram em culturas da orofaringe prévias, mas que foram encontradas na cultura do aspirado traqueal, a colonização era de 7% antes e de 35% após a realização da TQT. No estudo publicado no ano de 2000, comparando o uso de antibiótico tópico na TQT, sugeriram que essa intervenção poderia ajudar a prevenir infecção da via aérea inferior por bactérias exógenas, porém não substituiria os cuidados de higiene adequados. Em 2002, encontraram que a prevalência de colonização aumentou após a TQT, porém o número de infecções caiu pela metade, sendo causadas por bactérias encontradas na boca dos pacientes em 50% e 75% dos casos durante ventilação por TQT e TET, respectivamente, enquanto que as demais foram por bactérias adquiridas na enfermaria respiratória ou na UTI (MORAR *et al.*, 2002b). Em outro estudo nesse mesmo ano, viram que o *S. aureus* e *P. aeruginosa* eram as BPPs predominantes durante ambos tipos de ventilação, o primeiro não estava presente na cavidade oral ou orofaringe na admissão e era responsável pelas colonizações/infecções exógenas, já a segunda era a que mais causava infecção/colonização endógena (MORAR *et al.*, 2002a). Assim, concluíram que aspirados de rotina poderiam diferenciar infecção endógena de uma exógena e assim seria

possível guiar tratamentos com antibióticos específicos para cada situação, porém deixaram claro que a orofaringe e a via aérea inferior podem ser colonizadas separadamente.

Estudos realizados por Brown e Manning (1996) e Griese *et al.* (2004), demonstraram diferenças na colonização e na inflamação da via aérea após a TQT. O primeiro estudou a microbiota da subglote no momento da TQT para tentar verificar se a infecção poderia estar associada à formação de estenose subglótica; as principais bactérias encontradas foram aquelas consideradas como microbiota oral normal (*Neisseria spp* e *S. aureus* α -hemolítico) seguidas em menor frequência por BPP (*P. aeruginosa* e *Staphylococcus* coagulase negativo - 22% em ambos). Os autores não conseguiram verificar a relação da presença bacteriana com a estenose, porém observaram que existiu um limiar para colonização, já que todos pacientes que permaneceram por 10 dias ou mais com TET previamente à TQT tinham BPP na cultura e somente três dos oito naqueles com menos de 10 dias de TET prévios à TQT (BROWN; MANNING, 1996). O segundo estudo realizou lavado broncoalveolar no lobo inferior direito inserindo o broncoscópio através da TQT ou utilizando um cateter de mesmo calibre do endoscópio com a extremidade distal aberta naquelas crianças sem TQT (controles) e verificou que aquelas com TQT tinham maior número de células e neutrófilos, assim como de maior taxa de culturas positivas do que as sem TQT (81% vs. 20%). Outra diferença importante foi que todas as bactérias encontradas nas crianças com TQT eram consideradas potencialmente patogênicas, enquanto todas aquelas encontradas nas demais foram consideradas normais de via aérea superior (GRIESE *et al.*, 2004).

Sanders *et al.* (2018) estudaram os três meses anteriores e posteriores à TQT e observaram aumento na prevalência de *P. aeruginosa* (14% antes vs. 29% depois) e de

qualquer cepa Gram negativa não-entérica (consistiam em *P. aeruginosa*, *Stenotrophomonas* e cepas Gram negativas que não tiveram suas espécies descritas - 30% vs 47%) após a colocação da TQT.

Portanto, é esperado que aconteçam mudanças na via aérea de pacientes que são submetidos à TQT, porém ainda não está claro na literatura se o aumento nas bactérias colonizantes e na inflamação da via aérea decorrentes disso poderiam ter influências negativas na clínica dos pacientes.

2.4 PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO POR BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS

Brook (1979) nos EUA estudou crianças traqueostomizadas com internação prolongada e encontrou prevalência de 100% de bactérias aeróbias em aspirados traqueais, sendo que em 78% também houve crescimento de bactérias anaeróbias. Brown e Manning (1996), ao estudarem a microbiota da subglote no momento da TQT, encontraram prevalência de 100% de colonização, porém a maioria era por bactérias consideradas normais da microbiota oral. Al-Samri *et al.* (2010) no Canadá e Griese *et al.* (2004) na Alemanha, apesar de não diferenciarem a colonização da infecção de via aérea encontraram prevalências de colonização/infecção de 90% e de 81%, respectivamente; Pozzi *et al.* (2015), na Itália, ao estudarem pacientes com distúrbios neurológicos com TQT em uma clínica de reabilitação encontraram prevalência de 91% no início do acompanhamento e de praticamente 100% no final do estudo. No único estudo encontrado em população brasileira, El Cheikh *et al.* (2018) encontraram prevalência de 90% de BPP no aspirado traqueal.

Quanto ao número de espécies bacterianas encontradas, os culturais se mostraram na sua grande maioria polimicrobianos, Cline *et al.* (2012) encontraram que 47% dos pacientes tinham um, 34% tinham dois e 19% tinham três micróbios no primeiro exame cultural realizado e 47%, 43% e 11% no segundo cultural, respectivamente. Brown e Manning (1996) encontraram de 1 até 8 isolados diferentes no mesmo paciente. Assim, a prevalência elevada de bactérias na via aérea de pacientes pediátricos traqueostomizados está bastante descrita na literatura, assim como seu caráter polimicrobiano e parece não ter mudado com as décadas, já que se mantém acima de 70% desde os primeiros relatos na década de 1970 (BROOK, 1979; BROWN; MANNING, 1996; CLINE *et al.*, 2012; EL CHEIKH *et al.*, 2018)

2.5 PRINCIPAIS BACTÉRIAS ENCONTRADAS NA VIA AÉREA DE PACIENTES TRAQUEOSTOMIZADOS

As principais bactérias encontradas não variaram muito conforme os anos e com a localidade do estudo, tendo como principais achados a *P. aeruginosa* e o *S. aureus*. Brook (1979) encontrou mais frequentemente a *P. aeruginosa* em aspirados traqueais de crianças traqueostomizadas, seguida do *Streptococcus* α -hemolítico do grupo A, *Serratia marcescens*, *E. coli* e *S. aureus*; Morar e colaboradores (2002a) verificaram que após a realização de TQT houve infecções exógenas das quais 50% foram causadas por *S. aureus*, 46,7% por bacilos Gram negativos aeróbios (somente *P. aeruginosa* foi responsável por 23,3%) e 6,7% por MRSA. Griese *et al.* (2004) realizaram lavado broncoalveolar de crianças com TQT e encontraram como BPPs mais prevalentes *P. aeruginosa*, *H. influenzae* e *M. catharralis* (20,6% cada uma), seguidas de *S. pneumoniae* e *S. aureus* (14,3% cada um).

Al-Samri *et al.* (2010) revisaram prontuários de 72 crianças que realizaram TQT entre os anos de 1990 e 2007 e viram que as bactérias mais encontradas em exames culturais de aspirado traqueal foram *S. aureus* (60%), *P. aeruginosa* (50%), *S. maltophilia* (30%), *S. marcescens* (20%), *M. catarrhalis* (20%) e *S. pneumoniae* (20%); Cline *et al.* (2012) estudaram 47 pares de cultura consecutivas e encontraram como BPP mais prevalente a *P. aeruginosa* (55% na primeira e 40% na segunda) seguida por *S. aureus* (45% e 47%, respectivamente), *S. pneumoniae*, *S. marcescens* e *S. maltophilia* também foram isolados, porém com menos frequência.

Pozzi *et al.* (2015) encontraram *S. aureus* como a bactéria mais prevalente (73,8% dos pacientes), a mais encontrada no início da primeira reabilitação (66,7%) e também a mais adquirida na unidade de reabilitação (27,1 % vs. 6,3%); *P. aeruginosa* também foi bastante frequente (72,3%), seguida pela *K. pneumoniae* (32,3%), *E. coli* (20%) e *A. baumannii* (18,5%). Outras bactérias menos frequentemente encontradas foram a *S. maltophilia*, *K. oxytoca*, *M. morgani*, outras *Enterobacteriaceae* e outros *Staphylococci*.

No estudo de McCaleb *et al.* (2016), o micro-organismo mais abundante foi *P. aeruginosa* (>50%); *S. aureus* sensível à metilina (MSSA) foi mais prevalente no grupo de 0-1 anos e diminuiu quanto mais tempo da inserção do tubo de TQT, enquanto que a prevalência de MRSA aumentava. Gronhøj *et al.* (2017) encontraram *S. aureus* (58%) como patógeno mais frequente.

Sanders *et al.* (2018) encontraram que a prevalência de bactérias Gram negativas não-entéricas (inclusive *P. aeruginosa*) aumentou até os 11 anos de idade e que após a adolescência essa frequência se estabilizou. O inverso disso ocorreu com patógenos respiratórios (*Haemophilus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Moraxella spp.*), pois esses diminuíram sua frequência até os 11 anos de idade. Quando considerada a prevalência em

qualquer momento do estudo, bactérias Gram negativas não-entéricas foram encontradas em 63% (sendo *P. aeruginosa* em 49%), *S. aureus* em 51%, bactérias Gram negativas entéricas (*E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterococcus spp.* e *Enterobacter spp.*) em 34% e patógenos respiratórios em 31% dos pacientes. Ao encontro do que foi visto por Sanders *et al.* (2018), estudo brasileiro também encontrou *P. aeruginosa* e *S. aureus* como patógenos mais frequentes (EL CHEIKH *et al.*, 2018).

2.6 RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DAS PRINCIPAIS BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS ENCONTRADAS EM ASPIRADO TRAQUEAL DE CRIANÇAS TRAQUEOSTOMIZADAS

Poucos estudos avaliando resistência antimicrobiana nessa população foram encontrados. Na Itália, um estudo encontrou MRSA em 54,2% e *S. aureus* resistente à vancomicina em 8,3% das culturas; *P. aeruginosa* foi resistente a carbapenêmicos em 66%, a cefalosporinas em 46,8%, fluoroquinolonas em 34% e a aminoglicosídeos em 27,7% das vezes e foi resistente a mais de três classes de antibióticos (multirresistente) em 27,7% dos casos (POZZI *et al.*, 2014). No Brasil, El Cheikh *et al.* (2018) encontraram ambas as bactérias com prevalências menores de resistência quando comparadas ao estudo italiano; nenhum *S. aureus* encontrado foi resistente à vancomicina ou à meticilina, enquanto a *P. aeruginosa* teve 10% de resistência ao imipenem, ao meropenem e à ceftazidima e 20% à amicacina, ao aztreonam, à ciprofloxacina, à gentamicina e à levofloxacina.

Ribner (1987), ao estudar pacientes com culturas positivas para MRSA, verificou que a necessidade de TQT é um fator de risco independente para infecção/colonização por MRSA.

McCaleb *et al.* (2016) não encontraram associação entre o uso de antibióticos no mesmo ano das culturas e o crescimento de *P. aeruginosa* e MRSA. A prevalência de MRSA isolado em qualquer momento desse estudo foi de 56%. Eles também discutiram que as infecções por MRSA na população em geral estão aumentando nos EUA nas últimas décadas e que MRSA foi mais comumente encontrado que o MSSA em pacientes com TQT por mais de 5 anos.

Esses estudos mostram que apesar de as bactérias encontradas nas TQTs ao redor do mundo serem semelhantes, existe uma diferença muito importante quanto à resistência antimicrobiana entre os diferentes locais e que isso deve ser melhor explorado para tentarmos entendê-la.

2.7 MOLDES LARINGOTRAQUEAIS E FORMAÇÃO DE GRANULAÇÃO EM VIA AÉREA

Estudos semelhantes foram realizados para pesquisar a influência dos moldes de via aérea na colonização bacteriana da traqueia. Matt *et al.* (1991) tiveram como objetivo verificar a microbiota existente no tecido de granulação (TEG) presente durante a remoção de molde, cuja utilização servia para moldar a via aérea após cirurgia de reconstrução laringotraqueal. Esses autores observaram que no momento da retirada do molde a principal microbiota encontrada era a mesma da orofaringe. Já em laringoscopia de controle realizada duas semanas após a remoção do molde foram encontradas BPPs, principalmente *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Streptococcus* β -hemolítico não do grupo A. Estudo conduzido por Simoni e Wiatrak (2004) verificou que a microbiota que colonizava o próprio molde era pluribacteriana, isto é, colonizado em média por quatro bactérias (de duas a sete), inclusive por patógenos anaeróbios (*Bacteroides fragilis* e *Actinomyces spp.* em 26% da amostra) e fungos (*Candida spp.* em 57% dos casos). Além disso, indo ao

encontro do citado por Matt *et al.* (1991), as bactérias mais prevalentes foram a *P. aeruginosa* e o *S. aureus*. Portanto, não houve mudança importante nos patógenos ao longo desses treze anos que separam os estudos, porém ambos citam como limitação o número pequeno de indivíduos na amostra, que mais estudos são necessários para saber o papel das bactérias na granulação e também para adequar a antibioticoterapia pré-operatória para diminuir riscos cirúrgicos, cabe salientar que os estudos foram realizados em centros diferentes.

Na Coréia do Sul, ao estudarem sobre cirurgia de tireocricotraqueoplastia de deslizamento em 7 crianças, verificaram que houve deiscência da sutura com marcado enfisema cervical e necessidade de reintervenção cirúrgica em um caso no qual havia tecido necrótico infectado por MRSA, o que sugere a necessidade de se realizar estudos para estabelecer protocolos de profilaxia pré-cirúrgica adequados para cada região, para assim diminuir as complicações e a morbimortalidade de cirurgias de via aérea (KIM *et al.*, 2010).

3 JUSTIFICATIVA

A microbiota mais frequentemente encontrada em crianças com TQT já é conhecida na literatura (CARRON *et al.*, 2000; DURSUN; OZEL, 2011; LEWIS *et al.*, 2003; OGILVIE *et al.*, 2014), porém na sua maioria os estudos foram realizados em países de primeiro mundo e não se deve extrapolar esses dados para a nossa população, a qual é ambiental, cultural e socioeconomicamente diferente. O nosso sistema público de saúde não suporta os mesmos cuidados com a cânula de TQT que existe em países desenvolvidos. Como exemplo, não disponibiliza cuidados de enfermagem domiciliar para grande parte dos indivíduos e as trocas da cânula ocorrem com menor frequência, sendo desconhecida a influência desse contexto na colonização e na resistência antimicrobiana de nossas bactérias. Portanto, o conhecimento desses patógenos na colonização e na infecção da TQT e o impacto que elas causam a esses pacientes é de grande relevância. Comprovado esse impacto, a avaliação de desfechos clínicos relevantes a partir de estratégias de manejo deverá ser realizada em estudos futuros.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a prevalência das BPP em aspirado traqueal de crianças portadoras de TQT acompanhadas pelo Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar desfechos clínicos entre pacientes colonizados e não colonizados por BPP;
- b) Verificar se as diferentes bactérias encontradas na TQT podem estar associadas com características clínicas, como por exemplo, idade e motivo para realização de TQT, número de internações hospitalares, número de antibióticos usados no último ano, entre outras;
- c) Verificar a prevalência de resistência antimicrobiana dos principais germes encontrados;
- d) Comparar as características clínicas dos pacientes entre aqueles que possuem bactérias sensíveis com aqueles que possuem bactérias resistentes aos antibióticos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 DELINEAMENTO

Estudo transversal.

5.2 AMOSTRAGEM

Foram incluídos todos os pacientes de 0-18 anos traqueostomizados que realizaram a troca de cânula de rotina pelo Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre outubro de 2017 e dezembro de 2018.

5.3 CÁLCULO DO TAMANHO DE AMOSTRA

Levando-se em consideração que estudos mostram que a prevalência de colonização bacteriana em crianças traqueostomizadas varia de 76 a 100% (BROOK, 1979; NIEDERMAN *et al.*, 1984; POZZI *et al.*, 2014), estimamos uma prevalência de colonização de 88% e que a diferença da prevalência verdadeira na população e a estimada não excedesse 10%, com nível de significância de 5% (IC95%). Dessa maneira, o tamanho de amostra necessária seria de 42 pacientes. Considerando uma perda de 20%, o tamanho de amostra final foi calculado em 50 pacientes.

5.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos todos os pacientes traqueostomizados de 0 a 18 anos que realizaram trocas de cânula de TQT pelo Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de outubro de 2017 a dezembro de 2018. A coleta era realizada mesmo que o paciente possuísse sinais sugestivos de infecção de via aérea, mas que não estivessem em uso de antibioticoterapia.

5.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Planejamos a exclusão de pacientes em que houve impossibilidade técnica de coleta do aspirado traqueal.

5.6 LOGÍSTICA

Foi realizado aspirado traqueal por médicos da equipe de Otorrinolaringologia durante a troca da cânula de TQT, a qual era realizada na rotina assistencial. A troca foi realizada com anestesia local ou geral, o que dependia da colaboração da criança ou da presença de dificuldades técnicas durante procedimentos prévios ao estudo, conforme rotina assistencial.

Para a coleta do aspirado traqueal, foram instilados até 5 ml de solução fisiológica estéril pela cânula de TQT e aspirado com sonda estéril acoplada a frasco coletor de secreção de via aérea. Esse era enviado ao Setor de Microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para ser analisado através de exame bacterioscópico e bacteriológico com antibiograma, conforme descrito mais abaixo.

5.7 DEFINIÇÃO DE BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS E COLONIZAÇÃO

Foi definida como bactéria potencialmente patogênica aquelas que possuíam a capacidade de causar dano ao hospedeiro e como colonização quando houvesse crescimento de pelo menos um tipo de bactéria no exame bacteriológico do aspirado traqueal.

5.8 TÉCNICA DE REALIZAÇÃO DOS EXAMES BACTERIOLÓGICO E BACTERIOSCÓPICO

Os exames bacterioscópico e bacteriológico foram realizados da seguinte forma:

- Aspirado o material com auxílio de seringa e preparado um esfregaço fino e homogêneo (para o exame bacterioscópico). Meios de cultura Ágar chocolate (ACHO), Ágar Sangue (AS), Mac Conkey (MAC) e Azida (AZ), selecionados dependendo do que era visto pelo microbiologista no esfregaço, também foram utilizados (para o exame bacteriológico);
- Utilizada a técnica de esgotamento com auxílio de uma alça bacteriológica;
- As placas de ACHO, AS, COL e AZ foram incubadas em estufa, com 5% de CO₂, e a de MAC foi incubada em estufa a 35°C;
- Após 24h de incubação, se não houvesse crescimento, era incubado por mais 24h. Se houvesse crescimento nesse período, a morfologia das colônias era descrita e eram realizadas as provas de identificação e teste de sensibilidade a antibióticos, os quais foram realizados conforme padronização sugerida pelo *Clinical Laboratory Standarts Institute* (CLSI) (CLSI, 2015)

5.9 RESULTADOS DO EXAME BACTERIOLÓGICO

Como possíveis resultados estavam a ausência de crescimento de bactérias, o crescimento de uma ou de duas bactérias e o crescimento de três ou mais bactérias, o qual era chamado de microbiota múltipla.

Poderia existir a contaminação do exame bacteriológico por elementos de via aérea superior (células epiteliais, saliva e poucos leucócitos) que, quando presentes, a amostra era considerada inadequada e o paciente era excluído do estudo.

5.10 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA

O teste de sensibilidade antimicrobiana foi realizado sempre que pelo menos uma bactéria era identificada, utilizando os antibióticos padronizados na instituição para a mesma, conforme norma estabelecida pelo CLSI (CLSI, 2015). Quando o resultado do exame era microbiota múltipla, devido a dificuldades técnicas para realização do isolamento das bactérias, o exame cultural para identificação e consequentemente o antibiograma não eram realizados.

As amostras dos pacientes que tiveram contaminação foram recoletadas, caso os mesmos fossem submetidos à nova troca de cânula no período do estudo (sempre com consentimento dos pais), podendo então a cultura ser realizada e o paciente ser incluído.

5.11 DESFECHOS

O desfecho principal foi a prevalência de bactérias potencialmente patogênicas no aspirado traqueal. Também foi avaliado o número de bactérias presentes (uma, duas ou três bactérias) e a resistência antimicrobiana e comparados com dados clínicos dos pacientes. Para motivo de análise, foram agrupados aqueles que tinham sensibilidade intermediária e aqueles que tinham resistência aos antibióticos.

5.12 REVISÃO DE PRONTUÁRIO E DADOS CLÍNICOS

Os seguintes dados clínicos foram pesquisados no prontuário eletrônico do paciente:

- Sexo e idade;
- Idade no momento da TQT e na coleta do material;
- Tempo desde a realização da TQT;

- Motivos que levaram à realização da TQT;
- Cirurgias prévias de via aérea;
- Presença de disfagia;
- Comorbidades;
- Número de internações hospitalares, especificando-se aquelas em UTI por infecções de via aérea nos últimos 12 meses;
- Ciclos e classe de antibióticos utilizados nos últimos 12 meses. Como classes de antibiótico foram considerados penicilinas, cefalosporinas, macrolídeos, quinolonas, aminoglicosídeos, lincosaminas, glicopeptídeos, carbapenêmicos e sulfonamidas;
- Uso de válvula fonatória, ventilação não-invasiva e oxigênio suplementar nos últimos 12 meses;
- Tempo desde última troca de cânula;
- Marca e material da cânula;
- Alterações peri-traqueostoma.

5.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados em frequências absolutas e relativas para variáveis categóricas ou mediana com intervalo interquartil (entre percentis 25-75%) para as variáveis contínuas. Para a análise das variáveis categóricas, foi realizado o teste exato de Fischer, enquanto que para as variáveis contínuas, foram utilizados os testes Wilcoxon rank sum ou Kruskal-Wallis, utilizando o software Stata v13.1.

5.14 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi submetido à Plataforma Brasil, obtendo o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número 70669917.2.1001.5327, sendo

aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (projeto número 170372). Além disso, para participação da criança no estudo, foi necessária a aprovação dos pais ou responsáveis através de assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1).

REFERÊNCIAS

AL-SAMRI, M. *et al.* Tracheostomy in children: a population-based experience over 17 years. **Pediatric Pulmonology**, v. 45, n. 5, p. 487–493, 2010.

AVELINO, M. A. G. *et al.* First clinical consensus and national recommendations on tracheostomized children of the Brazilian Academy of Pediatric Otorhinolaryngology (ABOPe) and Brazilian Society of Pediatrics (SBP). **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 83, n. 5, p. 498–506, 2017.

BASSETTI, M.; NICCO, E.; MIKULSKA, M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. SUPPL. 1, p. S15–S19, 2009.

BROOK, I. Bacterial colonization, tracheobronchitis, and pneumonia following tracheostomy and long-term intubation in pediatric patients. **Chest**, v. 76, n. 4, p. 420–424, 1979.

BROWN, O. E.; MANNING, S. C. Microbial flora of the subglottis in intubated pediatric patients. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 35, n. 2, p. 97–105, 1996.

CABOT, G. *et al.* Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance and fitness under low and high mutation rates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 3, p. 1767–1778, 2016.

CARRON, J. D. *et al.* Pediatric tracheotomies: changing indications and outcomes. **The Laryngoscope**, v. 110, n. 7, p. 1099–1104, 2000.

CHAN, M. Global action plan on antimicrobial resistance. **World Health Organisation**,

p. 28, 2015.

CLINE, J. M. *et al.* Surveillance tracheal aspirate cultures do not reliably predict bacteria cultured at the time of an acute respiratory infection in children with tracheostomy tubes. **Chest**, v. 141, n. 3, p. 625–631, 2012.

DANTAS, R. C. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. **Journal of Medical Microbiology**, v. 63, p. 1679–1687, 2014.

DIRECTORS, A. B. OF. American Thoracic Society care of the child with a chronic tracheostomy. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, n. 1, p. 297–308, 2000.

DOUGLAS, C. M. *et al.* Paediatric tracheostomy - an 11 year experience at a Scottish paediatric tertiary referral centre. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 79, n. 10, p. 1673–1676, 2015.

DURSUN, O.; OZEL, D. Early and long-term outcome after tracheostomy in children. **Pediatrics International**, v. 53, n. 2, p. 202–206, 2011.

EL CHEIKH, M. R. *et al.* Microbiology of tracheal secretions: what to expect with children and adolescents with tracheostomies. **International Archives of Otorhinolaryngology**, v. 22, n. 1, p. 50–54, jan. 2018.

GRIESE, M. *et al.* Airway inflammation in children with tracheostomy. **Pediatric Pulmonology**, v. 37, n. 4, p. 356–361, abr. 2004.

GRILLO, H. C. Development of tracheal surgery: a historical review. Part 1: techniques of tracheal surgery. **Annals of Thoracic Surgery**, v. 75, n. 2, p. 610–619, 2003.

GRONHOJ, C. *et al.* Indications, risk of lower airway infection, and complications to pediatric tracheotomy: report from a tertiary referral center. **Acta Oto-Laryngologica**, v. 137, n. 8, p. 868–871, ago. 2017.

INSTITUTE, C. AND L. S. M02-A12: performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard—twelfth edition. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, v. 35, n. M02-A12, p. 73, 2015.

JONES, R. N. *et al.* Susceptibility rates in Latin American nations: report from a regional resistance surveillance program (2011). **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. 672–681, 2013.

KIM, S. M. *et al.* Slide thyrocriotracheoplasty for the treatment of high-grade subglottic stenosis in children. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 45, n. 12, p. 2317–2321, dez. 2010.

KIRBY, A.; HERBERT, A. Correlations between income inequality and antimicrobial resistance. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. 1–9, 2013.

LEWIS, C. W. *et al.* Tracheotomy in pediatric patients: a national perspective. **Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 129, n. 5, p. 523–529, 2003.

MAHADEVAN, M. *et al.* Pediatric tracheotomy: 17 year review. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 71, n. 12, p. 1829–1835, 2007.

MANICA, D. *et al.* Tracheostomy in children: a ten-year experience from a tertiary center in southern Brazil. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 83, n. 6, p. 627–632, 2017.

MATT, B. H. *et al.* Tracheal granulation tissue. A study of bacteriology. **Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 117, n. 5, p. 538–541, mai. 1991.

MCCALED, R. *et al.* Description of respiratory microbiology of children with long-term tracheostomies. **Respiratory Care**, v. 61, n. 4, p. 447–452, abr. 2016.

MORAR, P. *et al.* Impact of tracheotomy on colonization and infection of lower airways in children requiring long-term ventilation: a prospective observational cohort study. **Chest**, v. 113, n. 1, p. 77–85, jan. 1998.

MORAR, P. *et al.* Topical antibiotics on tracheostoma prevents exogenous colonization and infection of lower airways in children. **Chest**, v. 117, n. 2, p. 513–518, fev. 2000.

MORAR, P. *et al.* Oropharyngeal carriage and lower airway colonisation/infection in 45 tracheotomised children. **Thorax**, v. 57, n. 12, p. 1015–1020, 2002a.

MORAR, P. *et al.* Differing pathways of lower airway colonization and infection according to mode of ventilation (endotracheal vs tracheotomy). **Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 128, n. 9, p. 1061–1066, set. 2002b.

MYER, C. M. 3RD; COTTON, R. T. Historical development of surgery for pediatric laryngeal stenosis. **Ear, Nose & Throat Journal**, v. 74, n. 8, p. 560–564, 1995.

NIEDERMAN, M. S. *et al.* Respiratory infection complicating long-term tracheostomy. The implication of persistent Gram-negative tracheobronchial colonization. **Chest**, v. 85, n. 1, p. 39–44, 1984.

NOURAEI, S. A. R. *et al.* Bacterial colonization of airway stents: a promoter of granulation tissue formation following laryngotracheal reconstruction. **Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 132, p. 1086–1090, 2006.

OGILVIE, L. N. *et al.* Changes in pediatric tracheostomy 1982-2011: a Canadian tertiary children's hospital review. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 49, n. 11, p. 1549–1553,

2014.

ÖZMEN, S.; ÖZMEN, Ö. A.; ÜNAL, Ö. F. Pediatric tracheotomies: a 37-year experience in 282 children. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 73, n. 7, p. 959–961, 2009.

POZZI, M. *et al.* Prevalence of respiratory colonisations and related antibiotic resistances among paediatric tracheostomised patients of a long-term rehabilitation centre in Italy. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n. 1, p. 169–175, jan. 2014.

RIBNER, B. S. Endemic, multiply resistant *staphylococcus aureus* in a pediatric population: clinical description and risk factors. **American Journal of Diseases of Children**, v. 141, n. 11, p. 1183–1187, 1987.

SANDERS, C. D. *et al.* Tracheostomy in children: epidemiology and clinical outcomes. **Pediatric Pulmonology**, v. 53, n. 9, p. 1269–1275, set. 2018.

SIMONI, P.; WIATRAK, B. J. Microbiology of stents in laryngotracheal reconstruction. **The Laryngoscope**, v. 114, n. 2, p. 364–367, fev. 2004.

SMITH, R. S.; IGLEWSKI, B. H. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 56–60, 2003.

SOLOMON, D. H. *et al.* Characterization of bacterial biofilms on tracheostomy tubes. **Laryngoscope**, v. 119, n. 8, p. 1633–1638, 2009.

TOLTZIS, P. *et al.* Factors that predict preexisting colonization with antibiotic-resistant Gram-negative bacilli in patients admitted to a pediatric intensive care unit. **Pediatrics**, v. 103, n. 4, p. 719-723, 1999.

VERWAEST, C. *et al.* Randomized, controlled trial of selective digestive decontamination in 600 mechanically ventilated patients in a multidisciplinary intensive care unit. **Critical Care Medicine**, v. 25, n. 1, p. 63- 71., 1997.

WATTERS, K. Tracheostomy in infants and children. **Respiratory Care**, v. 62, n. 6, p. 799–825, 2017.

6 ARTIGO

**Tracheal aspirate bacterial cultures and antimicrobial resistance
profile from children with tracheostomy: a study in a tertiary hospital
in Brazil**

Gustavo Vasconcellos Severo^{1, 2} MD, Claudia Schweiger^{1, 2} PhD, Denise Manica¹ PhD,

Paulo Jose Cauduro Marostica^{2,3} PhD

1 From Serviço de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.

2. From Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente from Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

3. From Unidade de pneumologia pediátrica from Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.

This project was funded by Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) from Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

The authors have no funding, financial relationships, or conflicts of interest to disclose.

Send correspondence to Gustavo Vasconcellos Severo, MD, Clinica da Criança e do Adolescente, rua Barão de Santa Tecla 675, 96010140, Pelotas, Brazil E-mail: gugasevero@hotmail.com.

Abstract

Objectives: To verify the prevalence of Potentially Pathogenic Bacteria (PPB) and their antimicrobial resistance profile in tracheal aspirates of children with tracheostomy. To compare clinical outcomes between children with colonized and not colonized airway and the number of colonizing bacteria.

Methods: A cross-sectional study was conducted in patients aged 0-18 years who all underwent tracheostomy cannula change performed by the Otolaryngology Unit from Hospital de Clínicas de Porto Alegre between October, 2017 and December, 2018. Patients were submitted, at the time of cannula change, to a tracheal aspirate through the tracheostomy. Then, the collected secretion was sent to bacteriological cultures and antimicrobial susceptibility testing. Clinical data were reviewed in the patients' electronic medical records.

Results: Fifty-four patients met the inclusion criteria for the study. However, in 10 patients the aspirates could not be cultured due to sample contamination with upper airway elements and were considered as losses. There was no bacterial growth in just one culture and it was not included for comparisons. PPB prevalence in tracheal aspirates was 97.7%. Median age of patients was 3 years-old and median age at the tracheostomy was 9.3 months-old. *Pseudomonas aeruginosa* was the most prevalent bacteria (56.9%) and it was resistant to gentamycin, amikacin and cefepime in 36%, 28% and 12% of the culture tests, respectively. *P. aeruginosa* resistance to gentamycin and to cefepime showed association with the number of antibiotic classes used in the 12 months before enrollment (both $p=0.04$) and with 2 or more hospital admissions in the same period ($p=0.03$ and $p=0.02$, respectively). There was no difference between patients colonized with *P.*

aeruginosa and those colonized by other bacteria. *Staphylococcus aureus* (SA) was isolated in 9.1% and there was no MRSA.

Conclusion: It was found a 97.7% prevalence of PPB in the cultured aspirates; the most prevalent bacterium was *P. aeruginosa* and there was no MRSA identification. Data suggest an association between *P. aeruginosa* antimicrobial resistance with previous use of antibiotic therapy and with the number of hospital admissions.

Keywords: children, tracheostomy, tracheal aspirate, airway, airway culture

Level of Evidence: 4

INTRODUCTION

Although tracheostomy has been done for many centuries, the profile of children who are submitted to it has changed over the last few decades (1). There was a reduction in cases of airway obstruction due to inflammatory illnesses and an increase in the survival of patients with severe craniofacial problems and/or chronic diseases (cardiopulmonary, genetic and neurological). These patients usually undergo tracheostomy due to prolonged mechanical ventilation, to avoid sequels of orotracheal intubation, for pulmonary toilet, among other indications (1–5). Even with extensive tracheostomy care, the prevalence of bacterial colonization in the airway of these patients ranges from 76 to 100% (6,7). *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* are the most prevalent bacteria and their presence is associated with granulation tissue formation and post-surgical infectious complications (8–11). Little is known about the prevalence and the antimicrobial resistance profile of potentially pathogenic bacteria (PPB) in tracheostomized children's airway in developing countries and such knowledge

is very important to guide antimicrobial treatment protocols and to contribute to decannulation in eligible patients.

MATERIAL AND METHODS:

This study was submitted to Plataforma Brasil, it obtained the Certificate of Presentation for Ethical Appreciation number 70669917.2.1001.5327, and was approved by the Research Ethics Committee from Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

We performed tracheal aspirates in all patients younger than 18 years who had been submitted to tracheal cannula change by the Pediatric Airway Unit of Hospital de Clínicas de Porto Alegre between October, 2017 and December, 2018. Parent consent and approval were mandatory for the inclusion in this study. Exclusion criteria were technical issues which would prevent sample gathering. If the excluded patients underwent an additional cannula change, they would be invited to participate in the study again and secretions would be recollected at this point. Sample gathering was performed with aseptic technique immediately after the new cannula placement with saline instillation when necessary. The secretion was sent to the microbiology laboratory for cultural analyses.

Colonization was defined by the growth of at least one bacterium in the tracheal aspirate bacteriological exam. Cultural exams identified the strains when there was a growth of up to two colonizing bacteria. Technical issues of the sowing process prevented bacterial isolation when there were three or more strains at the same time, when it was classified as colonization by multiple microbiota. In this case bacteria identification and antibiogram could not be performed.

Primary outcome was the PPB prevalence in tracheal aspirates as well as the number of colonizing bacteria, the presence of *Pseudomonas aeruginosa* and the colonizing bacteria antimicrobial resistance. Bacteria with intermediate susceptibility and resistance were grouped for analysis purposes.

Medical records were reviewed for demographic and clinical data as sex, age, comorbidities, tracheostomy indications, airway surgeries and age at tracheostomy. Data from the medical records, taking in consideration the 12 months before study enrollment, as number of hospital and ICU admissions due to respiratory infections, length of hospital stay, use of antibiotic classes, non-invasive ventilation, speaking valve, supplementary oxygen, and last tracheostomy cannula change were also reviewed.

Categorical variables were presented as absolute and relative frequencies and analyzed using Fischer exact test. Continuous variables were presented as median (interquartile range) and analyzed using Wilcoxon rank sum test or Kruskal-Wallis test. All analyses were performed using Stata v13.1.

RESULTS

Fifty-four patients met the inclusion criteria for the study. There were 10 exam losses due to sample contamination with upper airway elements. Cultural tests were performed in 44 tracheal aspirates and in all but one there was a PPB growth (97.7% prevalence). As only one patient presented no bacteria in tracheal aspirate, she was not included in group comparisons. There was no significant difference between patients who met the inclusion criteria (n=54) and those with PPB growth (n=43) in all assessed variables ($p>0.05$).

Table 1 presents the main characteristics of those who were included in the analyses (n=43). Most patients were male (62.8%), younger than 1 year at tracheostomy

(55.8%) and presented pulmonary or neurologic diseases (65.1%). Patients' hospital admissions and length of stay are described in Table 2. Tracheostomy indications in this population are described in Table 3, being upper airway obstruction the most prevalent indication.

All culture results are shown in Figure 1. There was no statistically significant association with the number of tracheal colonizing bacteria or the presence of *P. aeruginosa* and clinical and demographic variables. Table 4 shows which PPB were found.

All *S. aureus* found were methicillin sensible, also presented susceptibility to chloramphenicol, doxycycline, gentamycin, levofloxacin, rifampicin and sulfamethoxazole/trimethoprim and resistance to clindamycin and erythromycin. *Klebsiella pneumoniae* were 100% susceptible to amikacin and meropenem and 50% resistant to the other tested antibiotics. *Stenotrophomonas maltophilia* and *Serratia marcescens* were both susceptible to all tested antibiotics. *P. aeruginosa* strains had the highest prevalence of resistance or intermediary susceptibility to gentamycin (36%), amikacin (28%) and cefepime (12%) (Figure 2).

P. aeruginosa amikacin resistance prevalence was 75% in patients older than 4 years, and 19% in the younger ones ($p=0.05$). This same bacterium resistance was more frequent in patients with 2 or more hospital admissions than in those with none or just one hospital admission (66.7%, 15.4% and 16.7%, respectively) ($p=0.08$).

The median number of different antibiotic classes previously used in patients with *P. aeruginosa* susceptible to cefepime was 0 (IQI 0-2) and it was 3 (IQI 3-4) among those with cefepime resistant strains ($p=0.04$). Similarly, patients with *P. aeruginosa* that was susceptible to gentamycin presented a median of antibiotic classes used of 0 (IQI 0-2) while it was 3 (IQI 1-4) among those with gentamycin resistant strains ($p=0.04$). In

addition, no *P. aeruginosa* resistance to cefepime was found among patients who did not use penicillins, while its prevalence was 42% among those who used it (p=0.02). Similarly, *P. aeruginosa* resistance to gentamycin was more frequent among those patients who used penicillins than among those who did not (71.4% vs. 22.2%, respectively) (p=0.06).

Cefepime resistant *P. aeruginosa* tended to be more frequent among patients who used cephalosporins (27.3%) and macrolides (50%) when compared to those who did not use such antibiotics (0% and 4.8%, respectively) (p=0.07 and p=0.06, respectively).

There was a higher prevalence of *P. aeruginosa* resistance to cefepime (p=0.02) and to gentamycin (p=0.03) inpatients with 2 or more hospital admissions (50% and 83.3%, respectively) when compared with those with none (0% and 23.1%) and with one hospital admission (0% and 16.7%, respectively). Furthermore, the median number of inpatient days in those with susceptible *P. aeruginosa* strains to cefepime was 0 (IQI 0-28 days), while in those with resistant strains it was 48 (IQI 23-70 days) (p=0.06).

DISCUSSION

Although tracheostomy has unquestionable benefits, it is followed by consequences, among which we can mention colonization and infection of the tracheostoma and also of the lower airway.

In this study, the main indications for tracheostomy were related to upper airway obstruction (83%), from which craniofacial malformations were the most prevalent, but none due to acute respiratory infections. These findings corroborate with last decades changes that have taken place in the profile of patients who currently need tracheostomy (more chronic patients and fewer acute infections) (5,12–15). The high prevalence of cases with upper airway obstruction can be explained by the high frequency of

craniofacial diseases referred to our center (15). These data might differ at different hospital settings.

Almost 100% of the patients were colonized by PPB as it is found in the current literature, in which, even using different colonization classifications and evaluation methods, the prevalence of colonization is always high, varying from 76% in tracheostomized adults in a rehabilitation clinic (7) to 100% in pediatric patients who needed tracheostomy due to prolonged tracheal intubation (6). Morar *et al.* (10) demonstrated that tracheostomy colonization can be independent of oropharyngeal colonization and it can be endogenous (pathogens related to initial oral microbiota) or exogenous (pathogens with no relation with initial oral microbiota).

The high prevalence of tracheostomy colonization can be associated with different factors such as loss of physiologic protection of the nose and other upper airway structures by directly exposing the trachea to environmental pathogens. In addition, the endotracheal cannula by itself can cause local inflammation, decrease local mucosal defense mechanisms and propitiate biofilm formation on its surfaces (16,17). Furthermore, tracheostomized children usually present severe associated comorbidities which may worsen their health status which in its turn propitiate the development of hospital bacteria adherence receptors in their oral mucosa (18).

P. aeruginosa was the most prevalent bacteria found in this study (56.8%). It is a non-fermenting Gram-negative bacillus and has important adaptative capacity to environmental challenges associated with minimal requirements for survival (19). These characteristics make it an important public health problem as it is frequently associated with nosocomial infections and is also associated with a considerable morbimortality index (19). Prevalence of *P. aeruginosa* was similar to that found in the literature ranging from 50% to 72%, the highest prevalence was found in an Italian study with

tracheostomized children followed at a neurologic rehabilitation center (9,11,20). A study performed at a Center-Western Brazilian hospital found a very similar proportion of *P. aeruginosa* when compared to our study (55%) (21).

Staphylococcus aureus is a typically aerobic Gram-positive coccus, and it usually is one of the two most prevalent bacteria colonizing tracheostomized children airways along with *P. aeruginosa* (11,17). This study and the one conducted by El Cheikh and colleagues (2018) (both performed in Brazil) have found *S. aureus* as the second most prevalent bacterium with a prevalence of 9.7% and 27.7%, respectively. These percentages were quite lower in studies performed in Italy (73.3%) (11), in Canada (60%) (20) and also in three US studies (45%, 50% and 52%) (10,17,22). Unlike studies from developed countries where MRSA prevalence is increasing (also in the community), there was no MRSA in neither Brazilian study (23). Curiously, a Latin American antimicrobial resistance vigilance program found an overall prevalence of MRSA infection in Brazil of 29%. However it evaluated not only respiratory infections (with or without tracheostomy), but also bloodstream, skin and skin structure infections generally from hospital laboratories which may have influenced such prevalence (24). Different interventions either for clinical or surgical treatment can take place in different reference centers and this could also have influenced such results.

According with a World Health Organization document the increase in antimicrobial resistance is happening worldwide and has direct health consequences by provoking longer hospital stays, increasing treatment costs and morbimortality. Furthermore, individual or community resistance in an organism can spread quickly and it is linked to antibiotic frequent use (25). Cabot and colleagues (2016) showed that the frequent use of anti-*Pseudomonas* antibiotic induces an emergency defense system due to survival pressure and triggers the activity of a proper-error DNA-polymerase which

produces multiple mutations, making *P. aeruginosa* resistant to such drugs. Among these mutations are the β -lactamase AmpC overexpression and structural modifications, modifications in a new DNA-gyrase (induced by ceftazidime), mutations in quinolone resistance-determining region and alterations in novel DNA gyrase (induced by ciprofloxacin), carbapenem porin oprD inactivation and alterations in the β -lactam binding site of penicillin-binding protein 3 (induced by meropenem), efflux pump overexpression (induced by ciprofloxacin and meropenem) which eliminates hazards found in bacteria cytoplasm. These mechanisms can be collectively called resistome (26,27).

In agreement with what was said above, our study found higher frequency of *P. aeruginosa* resistance to gentamycin and to cefepime in patients who used more antibiotic classes. In addition, patients who used penicillins had more prevalence of *P. aeruginosa* cefepime resistance than those which did not use it. Although a trend was observed, we did not have sufficient power to demonstrate this same association with other antibiotic classes.

Risk factors for colonization and infection by multiresistant strains are well known, such as income inequality, prolonged hospitalizations, invasive procedures, number of ICU admissions, living in chronic care facilities, contact with people with recent hospitalization and severity of comorbidities (28–30). A recent article demonstrated that patients with chronic growth of Gram-negative strains had more hospital and ICU admissions and prolonged hospitalizations (17). Likewise, our study found an association between *P. aeruginosa* gentamycin and cefepime resistance and the number of hospital admissions and demonstrated a trend of this same association with prolonged hospitalizations. However, we have to keep in mind that this is a cross sectional

study and can only show associations but it does not make it possible to determine causal relations.

Tracheostomy length of stay may influence which potential pathogenic bacteria will be found in cultural exams. McCaleb *et al.* (2016) showed that MSSA was usually isolated before MRSA in children tracheal aspirate and also showed that *P. aeruginosa* and other Gram-negative bacteria took even more time to be isolated than both MSSA and MRSA. Furthermore, a study conducted by Sanders and colleagues (2018) showed that *P. aeruginosa* and non-enteric Gram-negative strains increased their prevalence until patients were 11 years old when there was a plateau. Meanwhile other respiratory pathogens presented an inverse behavior, decreasing their occurrence down to a lower steady level at the same age (17). Therefore, it is well-known that long term use of tracheostomy exposes patients to more hospital admissions and broad-spectrum antibiotic therapy which could lead them to be colonized by PPB with higher prevalence of antimicrobial resistance than the overall population. In agreement with this thought, the current study found higher prevalence of *P. aeruginosa* resistance to amikacin in patients in use of tracheostomy for more than 4 years than in the ones with a shorter period.

Surveillance tracheal aspirates cultures are a controversial subject. Brook (1979) studied tracheostomized patients with prolonged hospital stays and suggested that routine tracheal aspirate cultures are reliable to guide future pneumonia treatments. However, Cline and colleagues (2012) do not agree with it. They compared tracheal aspirate cultures of patients at the time of hospital admission due to respiratory infection with the most recent tracheal aspirate culture that this same patient had which could be either in an outpatient setting (with or without signs of airway infection) or during hospitalization due to lower airway infection. It was observed that the antibiotic resistance pattern was frequently different when the same bacteria was encountered in both patients' cultures.

They concluded that these findings could suggest resistance acquisition or contamination by a new strain. Moreover, they also found that the antibiotic choice would not cover the current respiratory infection in 56% and 30% of times if it was based in a previous in-patient or outpatient culture result, respectively, but this associations were not statistically significant and the impact of that antibiotic choice was not presented (22).

The main limitation of this study was the lack of power to detect associations between the prevalence of bacterial colonization, the antimicrobial resistance and the patients' clinical outcomes. Moreover, there was a low prevalence of bacteria other than *P. aeruginosa* and *S. aureus* (Table 2), making it impossible to evaluate associations between them and clinical outcomes. Also, there were patient losses due to sample contamination by upper airway elements. Many of the patients had a lot of comorbidities, such as dysphagia, which was present in 72.2% and this could propitiate the appearance of saliva in the tracheal aspirate making it difficult to analyze the cultural exam. Other limitations were inherent of the retrospective chart reviews and also inherent of cross-sectional studies in which it is not possible to determine the direction of the associations. Furthermore, the study was performed at just one center and the extrapolation of such results to other populations demands care.

These findings are very significant and could generate new directions in tracheostomy care and infection management that might aggregate additional information and allow us to create more accurate treatment guidelines for specific acute airway infections in this population. Furthermore, airway reconstruction procedure antibiotic prophylaxis protocols could guide appropriate management of these patients, thus avoiding prolonged hospital stays and unnecessary use of wide range antibiotics, decreasing the medical costs and morbimortality.

CONCLUSION

This article presents the bacterial colonization profile of tracheal aspirates of children followed at a Brazilian tertiary hospital. It showed a 97.7% prevalence of PPB. Patients were mainly colonized by *P. aeruginosa* and none was colonized by MRSA. In addition, data suggest an association between *P. aeruginosa* antimicrobial resistance with previous use of antibiotic therapy and with the number of hospital admissions. However, more studies should be performed to verify the direction of these associations.

Table 1 – Patients’ main characteristics

Variables	Patients with PPB growth on tracheal aspirate
	cultures (n=43)
	n (%)
Sex	
Male	27 (62.8)
Female	16 (37.2)
Age (years)	
< 1	7 (16.3)
1 - 3.99	10 (23.3)
≥ 4	26 (60.4)
Median (IQI)	3 (2 – 3)
Age at the time of tracheostomy (years)	
< 1	24 (55.8)
1 - 3.99	13 (30.2)
≥ 4	6 (14.0)
Median in months (IQI)	9.3 (2.5 – 35.4)
Tracheostomy length of stay (years)	
< 1	13 (30.2)
1 - 3.99	18 (41.9)
≥ 4	12 (27.9)
Median (IQI)	3.2 (0.7 – 5.8)
Comorbidities	
Neurologic	21 (48.8)
Respiratory (without neurologic diseases)	7 (16.3)
Others	15 (34.9)
Number of concomitant comorbidities	

0	3 (7.0)
1	16 (37.2)
2+	17 (55.8)
Dysphagia	
Absence	13 (30.2)
Presence	30 (69.8)
Genetic syndrome	
Absence	20 (46.5)
Presence	23 (53.5)
Airway surgeries	
None	19 (44.2)
1	10 (23.3)
2+	14 (32.6)

IQ – Interquartile range 25-75%; PPB – Potential pathogenic bacteria;

Figure 1 - Tracheostomized children tracheal aspirate results (n=54)

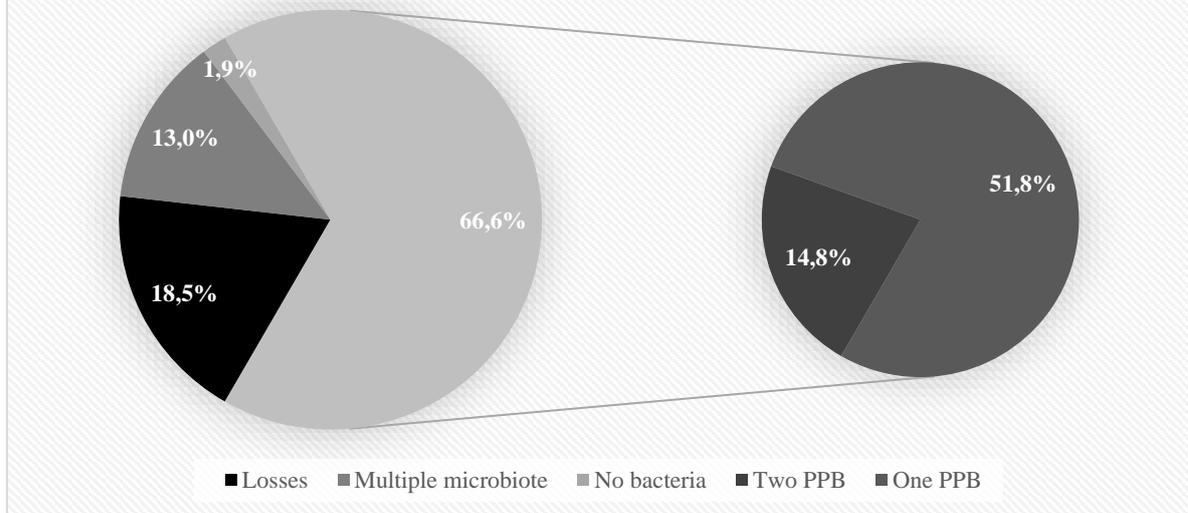


Table 2 – Hospital admissions and length of stay

	Patients with PPB growth on tracheal aspirate cultures (n=43)
	n (%)
Number of hospital admissions	
0	20 (46.5)
1	12 (27.9)
2+	11 (25.6)
Hospital length of stay (days)	
0	20 (47.6)
1-13.9	5 (11.9)
≥14	17 (40.5)
Median (IQ)	4.5 (0 – 48)
ICU length of stay (days)	
0	30 (69.8)
1 - 13.9	5 (11.6)
≥ 14	8 (18.6)
Median (IQ)	0 (0 – 1)
IQ – interquartile range 25-75%;	

Table 3 – Main indications for tracheostomy

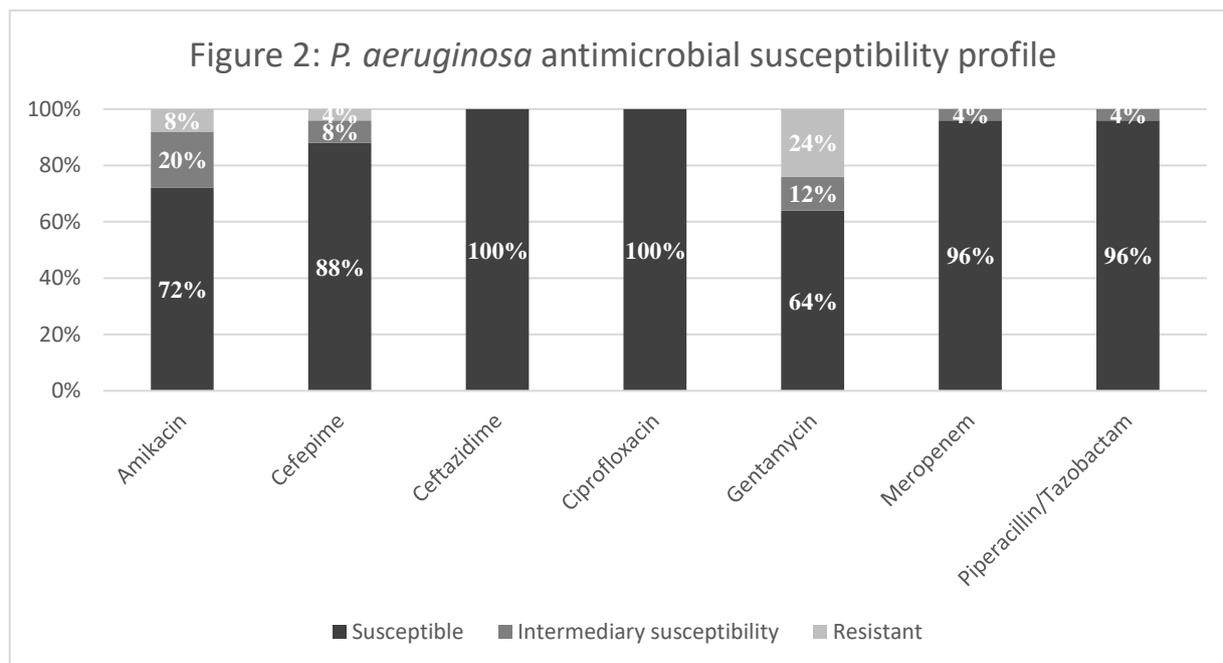
Patients with PPB growth on tracheal aspirate cultures (n=43)	
Number of concomitant tracheostomy indications†	
1	22 (52.4)
2	18 (42.9)
3+	2 (4.8)
Upper airway obstruction	
Craniofacial malformation	14 (32.6)
Glossoptosis	9 (20.9)
Pharyngomalacia	10 (23.3)
Post-intubation acute laryngeal lesions	8 (18.6)
Laryngomalacia	4 (9.3)
Vocal cord paralysis	4 (9.3)
Congenital laryngeal stenosis	1 (2.3)
Prolonged Mechanical Ventilation	7 (16.3)
Tracheomalacia	1 (2.3)
Pulmonary toilet	1 (2.3)
Others‡	5 (11.6)

† This variable has one missing data

‡ Mucopolysaccharidosis, infiltrative laryngeal lesion, extubation failure, laryngeal malformation.

Table 4 – Prevalence of potentially pathogenic bacteria identified through tracheal aspirate cultures

Bacteria	n=44 (100%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25 (56.8)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (9.1)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3 (6.8)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (4.5)
<i>Morganella morganii</i>	2 (4.5)
<i>Serratia marcescens</i>	2 (4.5)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (2.3)
<i>Citrobacter freundii</i>	1 (2.3)
<i>Haemophilus spp</i>	1 (2.3)
<i>Proteus mirabilis</i>	1 (2.3)
<i>Proteus penneri</i>	1 (2.3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 (2.3)



REFERENCES

1. Watters K. Tracheostomy in infants and children. *Respir Care*. 2017;62(6):799–825.
2. Carron JD, Derkay CS, Strope GL, Nosonchuk JE, Darrow DH. Pediatric tracheotomies: changing indications and outcomes. *Laryngoscope*. 2000;110(7):1099–104.
3. Dursun O, Ozel D. Early and long-term outcome after tracheostomy in children. *Pediatr Int*. 2011;53(2):202–6.
4. Lewis CW, Carron JD, Perkins JA, Sie KC. Y, Feudtner C. Tracheotomy in pediatric patients: a national perspective. *arch Otolaryngol head neck surg*. 2003;129(5):523–9.
5. Ogilvie LN, Kozak JK, Chiu S, Adderley RJ, Kozak FK. Changes in pediatric tracheostomy 1982-2011: A Canadian tertiary children's hospital review. *J Pediatr Surg*. 2014;49(11):1549–53.
6. Brook I. Bacterial colonization, tracheobronchitis, and pneumonia following

- tracheostomy and long-term intubation in pediatric patients. *Chest* [Internet]. 1979;76(4):420–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.76.4.420>
7. Niederman MS, Ferranti RD, Zeigler A, Merrill WW, Reynolds HY. Respiratory infection complicating long-term tracheostomy. The implication of persistent gram-negative tracheobronchial colonization. *Chest*. 1984;85(1):39–44.
 8. Nouraei SAR, Petrou MA, Randhawa PS, Singh A, Howard DJ, Sandhu GS. Bacterial Colonization of Airway Stents A Promoter of Granulation Tissue Formation Following Laryngotracheal Reconstruction. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006;132:1086–90.
 9. Simoni P, Wiatrak BJ. Microbiology of stents in laryngotracheal reconstruction. *Laryngoscope*. 2004 Feb;114(2):364–7.
 10. Morar P, Singh V, Makura Z, Jones A, Baines P, Selby A, *et al*. Differing pathways of lower airway colonization and infection according to mode of ventilation (endotracheal vs tracheotomy). *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2002 Sep;128(9):1061–6.
 11. Pozzi M, Pellegrino P, Galbiati S, Granziera M, Locatelli F, Carnovale C, *et al*. Prevalence of respiratory colonisations and related antibiotic resistances among paediatric tracheostomised patients of a long-term rehabilitation centre in Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 Jan;34(1):169–75.
 12. Douglas CM, Poole-Cowley J, Morrissey S, Kubba H, Clement WA, Wynne D. Paediatric tracheostomy-An 11 year experience at a Scottish paediatric tertiary referral centre. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015;79(10):1673–6.
 13. Özmen S, Özmen ÖA, Ünal ÖF. Pediatric tracheotomies: A 37-year experience in 282 children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2009;73(7):959–61.

14. Mahadevan M, Barber C, Salkeld L, Douglas G, Mills N. Pediatric tracheotomy: 17 year review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007;71(12):1829–35.
15. Manica D, Becker CF, Santos L, Abreu P, Manzini M, Sekine L. Tracheostomy in children: a ten-year experience from a tertiary center in southern Brazil_. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2017;83(6):627–32.
16. Solomon DH, Wobb J, Buttaro BA, Truant A, Soliman AMS. Characterization of bacterial biofilms on tracheostomy tubes. *Laryngoscope.* 2009;119(8):1633–8.
17. Sanders CD, Guimbellot JS, Muhlebach MS, Lin F-C, Gilligan P, Esther CRJ. Tracheostomy in children: Epidemiology and clinical outcomes. *Pediatr Pulmonol.* 2018 Sep;53(9):1269–75.
18. Morar P, Singh V, Makura Z, Jones AS, Baines PB, Selby A, *et al.* Oropharyngeal carriage and lower airway colonisation/infection in 45 tracheotomised children. *Thorax* [Internet]. 2002;57(12):1015–20. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1758797&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
19. Dantas RC, Ferreira ML, Gontijo-Filho PP, Ribas RM. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: Independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. *J Med Microbiol.* 2014;63:1679–87.
20. Al-Samri M, Mitchell I, Drummond DS, Bjornson C. Tracheostomy in children: A population-based experience over 17 years. *Pediatr Pulmonol.* 2010;45(5):487–93.
21. El Cheikh MR, Barbosa JM, Caixeta JAS, Avelino MAG. Microbiology of Tracheal Secretions: What to Expect with Children and Adolescents with Tracheostomies. *Int Arch Otorhinolaryngol.* 2018 Jan;22(1):50–4.
22. Cline JM, Woods CR, Ervin SE, Rubin BK, Kirse DJ. Surveillance tracheal

- aspirate cultures do not reliably predict bacteria cultured at the time of an acute respiratory infection in children with tracheostomy tubes. *Chest* [Internet]. 2012;141(3):625–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.10-2539>
23. Bassetti M, Nicco E, Mikulska M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2009;34(SUPPL. 1):S15–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(09\)70544-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(09)70544-8)
 24. Jones RN, Guzman-Blanco M, Gales AC, Gallegos B, Castro ALL, Martino MDV, *et al.* Susceptibility rates in Latin American nations: Report from a regional resistance surveillance program (2011). *Brazilian J Infect Dis* [Internet]. 2013;17(6):672–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2013.07.002>
 25. Chan M. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. *World Heal Organ* [Internet]. 2015;28. Available from: www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf
 26. Cabot G, Zamorano L, Moyà B, Juan C, Navas A, Blázquez J, *et al.* Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* Antimicrobial Resistance and Fitness under Low and High Mutation Rates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(3):1767–78.
 27. Smith RS, Iglewski BH. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Curr Opin Microbiol.* 2003;6(1):56–60.
 28. Toltzis P, Hoyen C, Spinner-block S, Salvator AE, Rice LB. Factors That Predict Preexisting Colonization With Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacilli in Patients Admitted to a Pediatric Intensive Care Unit. 1999;103(4): 719-723.
 29. Kirby A, Herbert A. Correlations between Income Inequality and Antimicrobial Resistance. *PLoS One.* 2013;8(8):1–9.

30. Verwaest C, Verhaegen J, Ferdinande P, Schetz M, Van den Berghe G, Verbist L, *et al.* Randomized, controlled trial of selective digestive decontamination in 600 mechanically ventilated patients in a multidisciplinary intensive care unit. *Crit Care Med.* 1997;25(1):63-71.
31. McCaleb R, Warren RH, Willis D, Maples HD, Bai S, O'Brien CE. Description of Respiratory Microbiology of Children With Long-Term Tracheostomies. *Respir Care.* 2016 Apr; 61(4):447–52.

7 CONCLUSÃO

Este trabalho apresenta o perfil de colonização traqueal de aspirados traqueais de crianças que são acompanhadas em um hospital terciário do Brasil. A prevalência de BPP foi de 97,7%, sendo que a *P. aeruginosa* foi a principal bactéria encontrada e não houve colonização por MRSA. Devido a quase totalidade de pacientes serem colonizados, não foi possível a comparação entre os colonizados e os não colonizados e também não houve associação entre o número de diferentes bactérias colonizantes e as características clínicas dos pacientes. Somado a isso, os resultados sugerem associação entre a resistência antimicrobiana da *P. aeruginosa* com o uso prévio de antibioticoterapia e também com o número de internações hospitalares, porém, mais estudos deveriam ser realizados para verificar a direção dessas associações.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tais achados são de grande importância e poderiam gerar novas direções nos cuidados com a traqueostomia e no manejo de infecções, permitindo a criação de diretrizes mais específicas para abranger os germes que causam infecções de via aérea nessa população. Apesar da população estudada ser diferente da dos outros estudos, as bactérias encontradas foram similares às já citadas na literatura. Além disso, protocolos de antibioticoterapia profilática para procedimentos de reconstrução de via aérea poderiam guiar o manejo desses pacientes, evitando internações hospitalares prolongadas e o uso desnecessário de antibióticos de amplo espectro, diminuindo assim os custos médicos e a morbimortalidade

**ANEXO – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO -
RESPONSÁVEIS**

Título do Projeto: Microbiologia de aspirado traqueal de crianças traqueostomizadas e sua relação com dados clínicos em um hospital terciário do Brasil

A criança pela qual você é responsável está sendo convidada a participar de uma pesquisa cujo objetivo é realizar uma descrição das principais bactérias encontradas na traqueostomia das crianças e verificar se alguma delas é causadora mais frequente de infecções e complicações. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você concordar com a participação na pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes: durante uma consulta, no ato da troca de cânula (realizados de rotina), iremos realizar um exame em que colocamos uma pequena quantidade de soro fisiológico estéril através da traqueostomia, a aspiramos e mandamos a secreção aspirada para o laboratório com a finalidade de analisar quais as bactérias que vivem ali e quais antibióticos que podem ser usados contra elas. Esse procedimento é chamado de aspirado traqueal e, em algumas situações clínicas, já é realizado como parte do atendimento no HCPA. Caso este exame já esteja sendo realizado de forma assistencial, nós iremos acessar o resultado diretamente no prontuário. Caso ele não seja solicitado, esse exame será realizado junto com a troca da cânula de traqueostomia, por médicos pesquisadores. As condições de realização do exame, como o tipo de anestesia dependerão de como a troca da cânula será realizada na rotina. Também iremos acessar o prontuário para ver as condições de saúde da criança (como por exemplo motivo da traqueostomia, infecções e

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 72 de 75

tratamentos realizados) e, se possível, comparar o exame atual com um já realizado antes na rotina.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa relacionados ao aspirado traqueal são: se o paciente estiver acordado, pode ocasionar um desconforto temporário devido ao reflexo de tosse, uma queda temporária e rápida no oxigênio do sangue, que melhora após a aspiração, e mais raramente uma queda mais persistente do oxigênio no sangue que necessita de oxigênio inalatório por um curto período de tempo para retornar ao normal. Em poucos casos, existe um pequeno risco de aumentar a chance de desenvolver pneumonia a curto prazo (risco diminuído por ser utilizado soro fisiológico estéril e ser realizado apenas uma vez). Quando é feito com anestesia geral, não causa tosse e o restante permanece semelhante.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são diretos, pois pode identificar mais rapidamente bactérias possivelmente causadoras de infecção, a partir dessas informações que serão encaminhadas ao seu médico assistente, poderão ser solicitadas consultas de rotina mais frequentes do que o normal para prevenir ou diagnosticar essas complicações. Além disso, há benefícios indiretos ao participante, pois pode aumentar o conhecimento geral sobre as bactérias que vivem na traqueostomia e identificar aquelas que mais causam complicações.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e não haverá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Rubrica do responsável _____ Rubrica do pesquisador _____ Página 73 de 75

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, o participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, os nomes não aparecerão na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Professor doutor Paulo José Cauduro Maróstica, pelo telefone (51) 33598213, com o pesquisador Mestrando Gustavo Vasconcellos Severo, pelo telefone 33598249 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e seu responsável e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura (se aplicável)

Nome completo do responsável

Assinatura

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 74 de 75

Nome e assinatura do pesquisador que aplicou o Termo

Local e Data:

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 75 de 75