

**Introdução:** As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são grave problema de saúde pública em unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN) e as mãos de profissionais de saúde são vias de contaminação e transferência de bactérias. Descreveu-se o perfil de colonização bacteriana por microrganismos Gram Negativos presentes nas mãos de profissionais de saúde na UTIN de um hospital de referência materno infantil, do norte do Brasil, em 2017. **Métodos:** Estudo descritivo realizado a partir da coleta de 92 *swabs* de mãos de profissionais de saúde logo após os mesmos terem realizado procedimentos com pacientes. Foram realizados isolamento, identificação e teste de suscetibilidade aos antimicrobianos nas bactérias identificadas. **Resultados:** Das 92 amostras 51,08% foram positivas para microrganismos Gram negativo resultando em 100 cepas. As espécies mais prevalentes foram *Pseudomonas stutzeri* 18,0%, *Klebsiella pneumoniae* 15,0%, *Pantoea spp* 13,0%, *Acinetobacter baumannii complex* 12,0%, *Enterobacter cloacae complex* 7,0%, *Pseudomonas spp.* 6,0% e *Serratia marcescens* com 5,0%. Quanto a frequência de resistência aos antimicrobianos a *Pseudomonas* e *Acinetobacter* tiveram o maior percentual para Cefuroxima (90,6% a 89,4%), Cefuroxima Axetil (90,6% a 89,4%) e Cefoxitina (54,3% a 96,8%). O *Acinetobacter* apresentou resistência a Ampicilina (90,6%) e Meropenem (3,1%). Já a resistência da *Pseudomonas* ao Imipenem e ao Meropenem foi de 1,7%, cada. O gênero *Klebsiella* apresentou 100% de resistência a Ampicilina, seguido de Ampicilina/Sulbactam, Cefuroxima, Cefuroxima Axetil, Ceftriaxona e Gentamicina com 25%, cada. Foi detectada resistência antimicrobiana aos carbapenêmicos (Imipenem, Meropenem e Ertapenem) em cepas de *Enterobacter cloacae complex* (AMP-SAM-CXA-CFO-IMP), *Serratia marcescens* (AMP-SAM-PIT-CXM-CXA-CFO-CAZ-CRO-CPM-IMP-MPM-GEN-CIP-ERT-CS), *Pseudomonas spp* (AMP-CXM-CXA-CFO-IMP-MPM-CIP-CS) e *Pantoea spp* (AMP-SAM-PIT-CXM-CXA-CFO-CAZ-CRO-CPM-IMP-MPM-GEN-CIP-ERT). **Conclusão:** Detectou-se alta prevalência de contaminação por bactérias Gram negativas de importância epidemiológica nas mãos dos profissionais na UTIN com variados perfis de resistência antimicrobiana, inclusive aos carbapenêmicos. Essa diversidade favorece a contaminação e infecção de pacientes, podendo ocasionar o aumento da mortalidade neonatal na região por IRAS. Sugere-se a estimulação e orientação dos profissionais de saúde quanto a higienização adequada das mãos.