

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Faculdade de Odontologia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)

**ESTUDO *in vivo* DA AVALIAÇÃO DA AÇÃO
ANTIMICROBIANA DE UM PROTOCOLO DE
DESCONTAMINAÇÃO ORAL
EM CRIANÇAS HOSPITALIZADAS NO CENTRO DE TERAPIA
INTENSIVA, HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO, RS**

Relatório Final

Apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, como requisito da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso e para graduação no curso de Odontologia da Universidade de Passo Fundo

Aluna: Andressa Welter

Orientadora: Profa. Dra. Juliane Bervian

Passo Fundo, abril de 2019.

Sumário:

1. TÍTULO	3
2. EQUIPE EXECUTADORA	3
2.1 ALUNO	3
2.2 ORIENTADOR	3
3. RESUMO	3
4. PROBLEMA DE PESQUISA	4
5. JUSTIFICATIVA	5
6. REVISÃO DE LITERATURA	6
7. OBJETIVOS	12
7.1. Objetivos gerais	12
7.2. Objetivos específicos	12
8. MATERIAIS E MÉTODOS	12
8.1 TIPO DE ESTUDO	12
8.2 LOCAL DA PESQUISA	12
8.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	13
8.4 COLETA DE DADOS	13
8.5 ANÁLISE DAS AMOSTRAS COLETADAS	16
8.6 Considerações Éticas	19
8.7 Riscos e Benefícios	19
9. RESULTADOS	19
9.1 ANÁLISE DE NORMALIDADE	19
9.2 ANÁLISE DESCRITIVA DOS DADOS GERAIS E CLÍNICOS DOS PACIENTES	19
9.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS QUANTIFICAÇÕES DE UNIDADE FORMADORA DE COLONIAS	20
10. DISCUSSÃO	21
11. CONCLUSÃO	25
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
13. AVALIAÇÃO E ASSINATURA DO ORIENTADOR	29
ANEXOS	30

1. TÍTULO

Estudo *in vivo* da avaliação da ação antimicrobiana de um protocolo de descontaminação oral em crianças hospitalizadas no Centro de Terapia Intensiva, Hospital São Vicente de Paulo.

2. EQUIPE EXECUTADORA

2.1. Aluno

Nome: Andressa Welter

Matrícula: 148538

2.2. Orientador

Nome: Prof. Dra. Juliane Bervian

Matrícula: 5688

3. RESUMO

A higiene bucal é de grande importância para a saúde geral do indivíduo. A falta de higiene oral, ou a higiene oral deficiente, leva a colonização do biofilme oral por micro-organismos patogênicos, principalmente patógenos respiratórios. O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vivo*, o potencial de redução da carga microbiana de um protocolo de descontaminação oral em crianças internadas no Centro de Tratamento em Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP) do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). Para isso, amostras microbiológicas, foram coletadas em diferentes tempos do protocolo de descontaminação bucal: antes da descontaminação e após este procedimento. O método de cultura foi empregado para avaliar a eficácia do protocolo de descontaminação na carga microbiana bucal. Foi verificado que o protocolo de descontaminação bucal não se mostrou estatisticamente efetivo na redução da carga microbiana total e de *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas aeruginosa* ($p > 0,05$). Embora encontrada uma grande diferença das medianas de redução entre as coletas iniciais e finais estas não se mostraram estatisticamente significantes ($p > 0,05$). Contudo, ao se tratar do micro-organismo *Staphylococcus aureus* houve uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Com isto, conclui-se que o protocolo de descontaminação oral com digluconato de clorexidina 0,12% em pacientes pediátricos internados em Centro de Tratamento e Terapia Intensiva (CTI) mostrou efetividade contra o micro-organismo *Staphylococcus*

aureus, contudo, ao se tratar dos micro-organismos *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*, este protocolo não garante uma efetiva redução microbiana, denotando a necessidade de mais estudos clínicos.

Palavras-chaves:

Clorexidina, microrganismos, odontopediatria, *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

4. PROBLEMA DE PESQUISA

As crianças hospitalizadas necessitam de cuidados e orientações específicas para as diferentes situações. A literatura aponta que crianças hospitalizadas apresentam debilidade sistêmica e, portanto, maior vulnerabilidade ao desenvolvimento de doenças bucais. Os efeitos das doenças bucais não são limitados, podendo levar a quadros infecciosos, resultando em comprometimento do quadro sistêmico (Amaral *et al.*, 2006).

Segundo Gift e Atchison (1995), saúde bucal é parte da saúde geral, essencial para o bem-estar das pessoas e à qualidade de vida. Bonecker *et al.* (2010), destacam que condições críticas de saúde bucal podem ter um impacto significativo na saúde geral de bebês, crianças e adolescentes e levá-los a ter problemas biopsicossociais, além de comprometimento no crescimento e desenvolvimento físico.

A promoção de saúde bucal coletiva em ambiente hospitalar, proporcionando conhecimento, motivando pacientes internados e seus acompanhantes na geração de bons hábitos, visa à assistência integral e mais humanizada do paciente hospitalizados. Essas ações têm se mostrado importantes na incorporação da higiene bucal dos pacientes à rotina hospitalar, reduzindo o biofilme dentário e, conseqüentemente, o risco de infecções provenientes da microbiota bucal (Mattevi *et al.*, 2011).

Independentemente do uso de alimentação por tubo enteral, intubação endotraqueal ou ventilação mecânica, as crianças hospitalizadas são cada vez mais suscetíveis a mudanças no ambiente bucal (Piau *et al.*, 2016)

Diante disso, um protocolo de descontaminação intra-bucal é efetivo no controle da microbiota bucal de crianças hospitalizadas?

5. JUSTIFICATIVA

A manutenção de uma boa higiene oral é imprescindível para uma saúde local e sistêmica satisfatória. Além disso, a falta ou até a má higiene pode resultar em doenças bucais com repercussão sistêmica. Para pacientes internados em Centro de Tratamento em Terapia Intensiva (CTI) o cuidado diário com a higiene oral torna-se ainda mais relevante. A preocupação com estes pacientes, principalmente com crianças internadas em CTI pelo fato da grande maioria desenvolver doenças infecciosas, como por exemplo, a pneumonia nosocomial, nos mostra a importância da implantação de um protocolo de higienização oral em pacientes hospitalizados.

A saúde bucal é mantida regularmente comendo e bebendo, bem como manutenção mecânica e farmacológica diária da boca, por exemplo, escovando dentes com pasta de dente, flúor e fio dental (Johnstone *et al.*, 2010). Portanto, pelo fato de crianças hospitalizadas não possuírem este controle de higiene oral diário, muitas podem desenvolver uma variedade de micro-organismos na cavidade bucal. Sendo assim de grande importância a realização de um protocolo de higienização oral para estas crianças.

Dentro de 48 horas de internação hospitalar, a flora orofaríngea de pacientes com problemas críticos sofre uma mudança de organismos predominantemente Gram-positivos para organismos predominantemente Gram-negativos, criando uma flora mais virulenta (Munro; Grap, 2004). Estes micro-organismos podem migrar para os pulmões, assim, causando uma pneumonia adquirida no hospital. Estes micro-organismos, portanto, podem ser reduzidos ou até mesmo eliminados com a aplicação de protocolo de higienização oral. Baseado nestas considerações, o estudo se justifica para a utilização de protocolos de descontaminação oral efetivos e de baixo custo.

6. REVISÃO DE LITERATURA

Há muito se suspeita da relação de doenças bucais e sistêmicas sendo as primeiras citações científicas desta relação datada em 2.100 a.C. Desde então, muito se tem estudado e inúmeras pesquisas vêm se desenvolvendo com os resultados evidenciando cada vez mais esta possível relação (Morais, *et al.*, 2006). Segundo Mattevi *et al.*, (2011), a promoção de saúde bucal coletiva em ambiente hospitalar, proporcionando conhecimento, motivando pacientes internados e seus

acompanhantes na geração de bons hábitos, visa a assistência integral e mais humanizada do paciente hospitalizado.

Rocha e Ferreira (2014) dizem que apesar de se saber da importância da intervenção odontológica no contexto hospitalar e das políticas públicas em saúde determinarem a participação do cirurgião-dentista nos três níveis de atenção à saúde da população, a presença desse profissional na equipe hospitalar é ainda muito restrita. Porém, a presença de um cirurgião-dentista torna-se importante para a concretização da saúde integral dos pacientes hospitalizados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), pois estes pacientes necessitam de cuidados rigorosos devido a um quadro clínico caracterizado por imunodeficiência, fato que os tornam mais susceptíveis à instalação de infecções bucais e/ou sistêmicas, agravando o seu estado de saúde geral. Na maioria dos casos, pacientes hospitalizados em UTI encontram-se totalmente dependentes para a realização de higiene bucal adequada e eficiente, necessitando, assim, do suporte profissional devidamente capacitado ou bem orientado para adequação ou reestabelecimento da qualidade do meio bucal destes pacientes (Amaral, *et al.*, 2013).

As diferentes manobras abordadas para auxiliar as crianças com doenças críticas e a progressão desta doença, pode ter por finalidade uma disfunção na cavidade oral. Esta disfunção pode produzir um desequilíbrio de bactérias bucais comensais, quando se sabe que crianças saudáveis abrigam em sua cavidade oral mais de 250 cepas de bactérias comensais, esse desequilíbrio faz com que a cavidade oral se torna um adequado ambiente para possíveis agentes patogênicos (Johnstone *et al.*, 2010). Assim, a saúde bucal tem o potencial de influenciar a saúde sistêmica durante uma doença crítica na infância (Ullman *et al.*, 2011), tornando assim, de extrema importância a higiene bucal nesses pacientes.

Também pode ser levada em consideração que, a higiene bucal afeta significativamente o bem-estar das crianças. Para tanto, é parte integrante dos cuidados intensivos dessas crianças intubadas e ventiladas mecanicamente na Unidade de Tratamentos Intensivos Pediátricos (UTIP) a realização da higiene oral, que dependem da equipe de profissionais da área para atender suas necessidades básicas diárias (Johnstone *et al.*, 2010).

Com o objetivo de saber a frequência e o tipo de cuidados bucais fornecidos, as atitudes, as crenças, o conhecimento e treinamento em cuidados bucais de enfermeiros, Binkley e colaboradores entrevistaram 556 pessoas onde 97% dos

entrevistados eram enfermeiros registrados. Noventa e dois por cento dos entrevistados percebem o cuidado bucal como uma alta prioridade. Os principais métodos de cuidados bucais envolvem o uso de espuma, hidratantes e enxaguantes bucais. As escovas de dente e a pasta de dente foram utilizadas com pouca frequência por quase 80% dos entrevistados. A maioria dos enfermeiros indicou a necessidade de padrões de cuidados orais comprovadamente comprovados e desejava aprender mais. Concluíram então que os métodos de cuidados bucais não foram consistentes com os protocolos atuais de pesquisa e cuidados bucais. Orlandini e Lazzari, 2012 nos mostraram que a higiene oral em pacientes internados não tem constituído uma preocupação evidente, tanto na assistência quanto nas práticas de educação em saúde para grande porcentagem dos profissionais de enfermagem.

Na prática de cuidados intensivos pediátricos e adultos, a pneumonia é conhecida como uma grande ameaça para pacientes ventilados mecanicamente. Scannapieco *et al.*, (1999) procuraram mostrar através de um estudo vários mecanismos para explicar o papel potencial da ação de bactérias orais causadoras da patogênese da infecção respiratória. 1) aspiração de patógenos orais como *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, etc., para o pulmão; 2) as enzimas associadas à doença periodontal na saliva podem modificar as superfícies da mucosa e promover a adesão e colonização por patógenos respiratórios; 3) as enzimas associadas à doença periodontal podem destruir as películas salivares em bactérias patogênicas e 4) as citocinas oriundas dos tecidos periodontais podem alterar o epitélio respiratório para promover a infecção por patógenos respiratórios. Segundo Sands, *et al.*, (2016), várias espécies dentro do biofilme polimicrobiano da placa dentária têm sido associadas a doenças bucais, incluindo periodontite e cárie dentária, e estão cada vez mais associadas a infecções e distúrbios sistêmicos.

A conexão anatômica entre a cavidade oral e os sistemas respiratório e circulatório permite, em alguns casos, patógenos colonizar a orofaringe para causar infecções sistêmicas (Munro *et al.*, 2006), isso pode incluir organismos Gram-negativos, alguns dos quais são responsáveis por infecções sistêmicas (Piau *et al.*, 2016). O estabelecimento da pneumonia nosocomial ocorre com a invasão bacteriana, especialmente bastonetes Gram-negativos (*Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.* e *Proteus mirabilis*) (Morais *et al.*, 2006). Sendo que Scannapieco *et al.*, (2009) mostraram que os principais agentes patogênicos respiratórios

potenciais incluem *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, espécies de *Acinetobacter*.

A placa dentária e a mucosa oral são frequentemente colonizadas por estes agentes patogênicos respiratórios potenciais. Além disso, patógenos respiratórios potenciais da placa dentária de pacientes internados em UTI são geneticamente idênticos às cepas de culturas broncoscópicas tomadas no momento em que se suspeitava pneumonia. Esses achados sugerem que a placa dental pode ser um reservatório importante de agentes patogênicos respiratórios potenciais que causam pneumonia associada ao ventilador mecânico (Scannapieco *et al.*, 2009). Esta hipótese pode ser afirmada com um estudo de Oliveira *et al.*, (2007) onde puderam constatar que a presença de patógenos respiratórios no biofilme bucal de pacientes internados em UTI pode servir de reservatório para micro-organismos associados com pneumonia nosocomial, através da realização de culturas feitas de amostras do aspirado traqueal para identificar os micro-organismos responsáveis pela pneumonia nosocomial. Neste estudo as bactérias mais encontradas no aspirado traqueal dos pacientes foram *S. pneumoniae* (23,3%), *P. aeruginosa* (20%) , *S. aureus* (13,3%), *Klebsella pneumoniae* (13,3%), *Candida albicans* (6,6%), *Streptococcus α-hemolítico* (6,6%), *Staphylococcus* sp. 6,6%, *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii complex* (*A. calcoaceticus*) em 1 paciente (3,3% do total de pacientes), *Eschericia coli* (*E.coli*) (3,3%) , *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*)(3,3%).

O tempo prolongado de internação de pacientes em UTIs influencia diretamente no aumento destes agentes patógenos respiratórios, uma vez que são capazes de colonizar o biofilme bucal. Sachdev *et al.*, (2013) puderam concluir que a contagem bacteriana total de placa dental aumenta durante a hospitalização em UTI. Esse achado, juntamente com a colonização da placa dentária pela bactéria da pneumonia associada à saúde (HAP), fortalece a evidência de uma deterioração da saúde bucal na UTI e um fator de risco para resultados negativos de saúde e qualidade de vida.

Outras pesquisas também relatam a modificação da composição do biofilme dental depois de determinados períodos de internação hospitalar, a exemplo disso Morais e colaboradores em 2006, evidenciaram que dentro de 48 horas de internação hospitalar, a flora orofaríngea de pacientes com problemas críticos sofre uma mudança de organismos predominantemente Gram-positivos para organismos predominantemente Gram-negativos, criando uma flora mais virulenta. Esta flora

bacteriana pode então migrar para os pulmões e resultar em uma pneumonia adquirida no hospital. O risco é mais pronunciado quando o acesso ao trato respiratório é prejudicado por intubação.

Considerando que o biofilme bucal desempenha um importante papel no processo de desenvolvimento de doenças respiratórias em pacientes internados em UTIs, muito se questiona a eficácia da aplicação tópica oral de anti-sépticos, como por exemplo, o digluconato de clorexidina para prevenção das doenças respiratórias. Nicolosi *et al.*, (2014) realizaram um estudo onde tiveram por objetivo determinar o efeito da escovação de dentes usando 0,2% de enxaguante oral de digluconato de clorexidina na prevenção de pneumonia associada ao ventilador após cirurgia cardiovascular. Através deste estudo, puderam concluir que a higiene bucal e enxaguantes bucais com clorexidina sob supervisão de um dentista resultaram efetivos na redução da incidência de pneumonia associada a ventilação mecânica (PAVM).

Um crescente número de evidências mostra que a mortalidade e a morbidade podem ser reduzidas pela implementação de uma série de estratégias preventivas, incluindo a otimização da higiene bucal. Embora vários estudos tenham defendido o uso de vários enxaguatórios bucais na redução da colonização da placa dentária, um protocolo de higiene bucal padronizado, que inclui o uso de limpeza mecânica com uma escova de dente, pode ser um fator na redução da colonização da placa dentária com patógenos respiratórios, (Berry *et al.*, 2011). Pacientes que são submetidos a escovação dentária, apresentam uma redução significativa no tempo de ventilação mecânica e tendência a redução a incidência de PAVM e tempo de permanência da UTI. (Vidal *et al.*, 2017). Isto pode ser comprovado através do estudo de Pharm *et al.*, (2017), no qual afirmam que um protocolo que inclui escovação dentária, uso de clorexidina e aspiração melhora significativamente a saúde bucal em comparação com a limpeza com clorexidina isolada. A clorexidina torna-se indispensável nesse processo de descontaminação oral uma vez que, é de particular interesse como desinfetante oral devido à sua substantividade (capacidade para se ligar aos tecidos orais com posterior liberação lenta e, portanto, um período de ação relativamente longo).

Embora não existam recomendações específicas para seu uso em crianças, a clorexidina tem sido amplamente utilizada em algumas populações pediátricas, e alguns clínicos começaram a usar este anti-séptico em pacientes na Unidade de

Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP), com base em dados de pesquisas realizadas em populações adultas (Kusahara *et al.*, 2017). Através da avaliação do papel da clorexidina gel 1% na prevenção da PAVM em crianças em ambiente de UTIP, Sebastian *et al.*, (2012) puderam concluir que a aplicação do gel de clorexidina a 1%, não impediu o desenvolvimento de PAVM em crianças de 3 meses a 15 anos internadas na UTIP. Também concluíram que esta aplicação não teve efeito sobre a duração da ventilação, permanência em UTIP ou hospital e mortalidade. Em contrapartida, Piau *et al.*, (2016) elaboraram um estudo com o objetivo de avaliar a colonização microbiana oral antes e após a implementação de um protocolo de higiene bucal em crianças internadas em uma unidade de terapia intensiva pediátrica (PICU) usando crianças saudáveis não hospitalizadas como grupo controle. Dois grupos foram analisados neste estudo clínico: grupo G1 (crianças dentadas admitidas na UTIP); e grupo G2 (crianças não hospitalizadas, saudáveis e dentadas). O grupo G1 foi submetido a avaliações orais antes (G1i) e após (G1f) um protocolo de higiene bucal de três dias usando 0,12 por cento de clorexidina aplicada em intervalos de 12 horas. Várias bactérias patogênicas foram identificadas no grupo G1i, que foi significativamente maior do que no grupo G2 ($p < 0,001$). Bactérias patogênicas estavam presentes na cavidade oral de quase todas as crianças hospitalizadas e diminuíram significativamente após a incorporação de um protocolo apropriado de higiene bucal nos cuidados diários.

No entanto, nem todos os estudos sobre uso de clorexidina mostraram uma redução na incidência de pneumonia. Scannapieco *et al.* (2009), realizaram um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo que testou o digluconato de clorexidina tópico com 0,12% ou o placebo (veículo sozinho), aplicado uma ou duas vezes por dia por enfermeiros do paciente. Foi medida a quantificação da colonização da cavidade oral por agentes patogênicos respiratórios (dentes / prótese / mucosa bucal). Neste estudo, pode-se observar que a clorexidina reduziu o número de *Staphylococcus aureus*, mas não o número total de entéricos, *Pseudomonas* ou *Acinetobacter* na placa dentária de indivíduos com teste. Observou-se uma redução não significativa na taxa de pneumonia em grupos tratados com clorexidina em comparação com o grupo placebo.

A resistência de tais patógenos respiratórios ao uso de clorexidina deve ser enfatizado. Sands *et al.* (2016), demonstraram através do uso de tecnologia baseada em DNA contemporâneas, que os patógenos potenciais estavam entre os

microrganismos mais predominantes no biofilme bucal, sendo que estes uma vez estabelecidos dentro do biofilme, podem ser difíceis de se eliminar completamente, mesmo com a extubação. Outro fator é que a maioria das espécies Gram-negativas são resistentes a múltiplos antibióticos, proporcionando possíveis influências sobre o efeito da clorexidina (Kusahara *et al*, 2017).

Diante da presente revisão de literatura, verifica-se a emergência da tradução da pesquisa em prática para melhorar a qualidade dos cuidados e diminuir o número de microrganismos bucais bem como a incidência de pneumonia associada ao uso do ventilador mecânico. Podemos constatar as inúmeras controversas sobre o uso de um anti-séptico, digluconato de clorexidina, em protocolos de descontaminação oral em paciente internado em UTIs. Também devemos destacar que as práticas de saúde bucal no ambiente hospitalar, particularmente nas UTIs devem incluir não apenas a manutenção da higiene bucal, mas também outras medidas de cuidado da saúde bucal, dentre elas, verifica-se a umidade e hidratação dos lábios e a utilização de laserterapia (Silveira *et al.*, 2014; Piau *et al.*, 2016,). Os profissionais devem auxiliar pacientes hospitalizados com o objetivo de melhorar o bem-estar geral do paciente e qualidade de vida, independentemente da condição de saúde daquele momento, que pode ser temporal.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivos Gerais:

- Avaliar, *in vivo*, o potencial de redução da carga microbiana de um protocolo de descontaminação oral em crianças internadas no Centro de Tratamento em Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP) do Hospital são Vicente de Paulo.

7.2 Objetivos Específicos:

- Verificar a capacidade de um protocolo de descontaminação oral em crianças internadas no Centro de Tratamento em Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP) do Hospital são Vicente de Paulo (HSVP), na redução de microrganismos responsáveis pelo desenvolvimento da pneumonia nosocomial, *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.
- Avaliar as características clínica e gerais de pacientes internados na CTIP;

- Verificar o crescimento de microrganismos específicos como o *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. antes e após o protocolo de descontaminação oral pela utilização de meios de cultura específicos.

8. MATERIAL E MÉTODOS

8.1 Tipo de estudo

Este estudo é um estudo clínico experimental, realizado *in vivo*.

8.2 Local da Pesquisa

As coletas clínicas foram realizadas no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), no Centro de Tratamento e Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP), na cidade de Passo Fundo- RS. O HSVP é um hospital de grande porte do interior do RS, considerado referência em sua região e estado. Possuindo a única CTIP da região, com uma alta rotatividade de pacientes nesta unidade que possui treze leitos. Além do grande número de internações semanais, a CTIP do HSVP apresentava no momento do nosso estudo cinco pacientes com doenças crônicas, o que o faziam moradores da CTIP.

As amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade de Passo Fundo. Este laboratório tem por finalidade a realização de atividades didáticas práticas para alunos de diferentes cursos dentro da instituição. Conta com uma sala de esterilização, sala específica para manuseio de amostras em fluxo laminar, sala para preparo de amostras e sala para análise microscópica. Além disso, paralelas as atividades acadêmicas, o laboratório oferece oportunidade para que alunos e professores veiculados a instituição desenvolvam pesquisas científicas.

8.3 População e Amostra

Todas as crianças internadas na CTI do HSVP durante o período do estudo foram inicialmente participantes. A inclusão ou exclusão era realizada de acordo com os seguintes critérios:

Critérios de Inclusão: Para inclusão dos indivíduos na pesquisa os mesmos deveriam ter entre 0 e 14 anos de idade. Além disso, foram incluídos apenas pacientes que estavam internados em um período de 24h ou mais.

Critérios de Exclusão: foram excluídos da amostra pacientes sem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1), também foram excluídos pacientes que possuíam a chance de desenvolver uma parada cardiorrespiratória ao serem manipulados, mesmo com o consentimento dos responsáveis. Em toda visita da equipe de pesquisadores à CTI, a equipe médica era consultada e os pacientes com alto grau de instabilidade eram excluídos dos procedimentos naquele dia. Isto não implicaria na estabilidade e a aplicação do protocolo em um outro momento, esta avaliação se mantinha diariamente, e apenas alterava o número amostral do estudo.

Após os critérios sido respeitados e o TCLE assinado, um questionário foi aplicado aos pais/responsáveis pela criança (Anexo 2).

8.4 Coleta de dados

Parte I (coleta do raspado e aplicação do protocolo de descontaminação)

A avaliação do paciente e a coleta das amostras ocorreu no leito do setor do Centro de Tratamento de Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP) do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). Foram coletadas amostras de raspado lingual em crianças internadas, seguiu a metodologia do fluxograma relatado na **Figura 1**.

Houve uma coleta inicial, anterior ao protocolo de descontaminação e outra após a execução do protocolo. Para esta coleta inicial foi necessário que as crianças estivessem internadas em um tempo de no mínimo 24h.

As amostras foram avaliadas antes (Coleta Inicial) e após (Coleta Final) o protocolo de descontaminação oral de três dias (de 12h em 12h). Estas amostras foram coletadas durante as primeiras 24h da permanência na CTIP, às 36h e às 48h.

Durante a implantação do protocolo de descontaminação oral nas crianças hospitalizadas, a descontaminação foi feita em toda a cavidade oral, ou seja, em todos os dentes (se havia dentição), tecidos moles orais, incluindo mucosa bucal, a gengiva, soalho da boca e língua.

O protocolo envolveu a aplicação de uma esponja para higiene oral estéril embebida em digluconato de clorexidina 0.12% sem álcool em toda a área já citada. Quando havia dentição, foram usadas escovas de dente com cerdas apropriadas para

a idade e dimensão da boca de cada criança (**Figura 2**). Após a descontaminação oral foi realizada a aspiração de fluido oral.

A amostragem foi realizada antes da rotina de cuidados bucais diários. Todas as etapas foram realizadas por um único investigador calibrado. Após as coletas, as amostras foram enviadas imediatamente ao laboratório para processamento.

Na CTI/ HSVP as amostras de raspado lingual foram coletadas com auxílio de um *swab* em cada criança do estudo. A área desse raspado foi definida com a utilização de aparato metálico com área correspondente à 2cm^2 ; objetivando que cada coleta tenha a mesma extensão de área raspada (**Figura 2**). O swab foi removido com cuidado da cavidade bucal e sua ponta, cortada com uma tesoura íris estéril, foi colocada imediatamente em um eppendorf com $1000\mu\text{L}$ de VMGA (Viability maintaining microbiostatic médium) III (transportador).

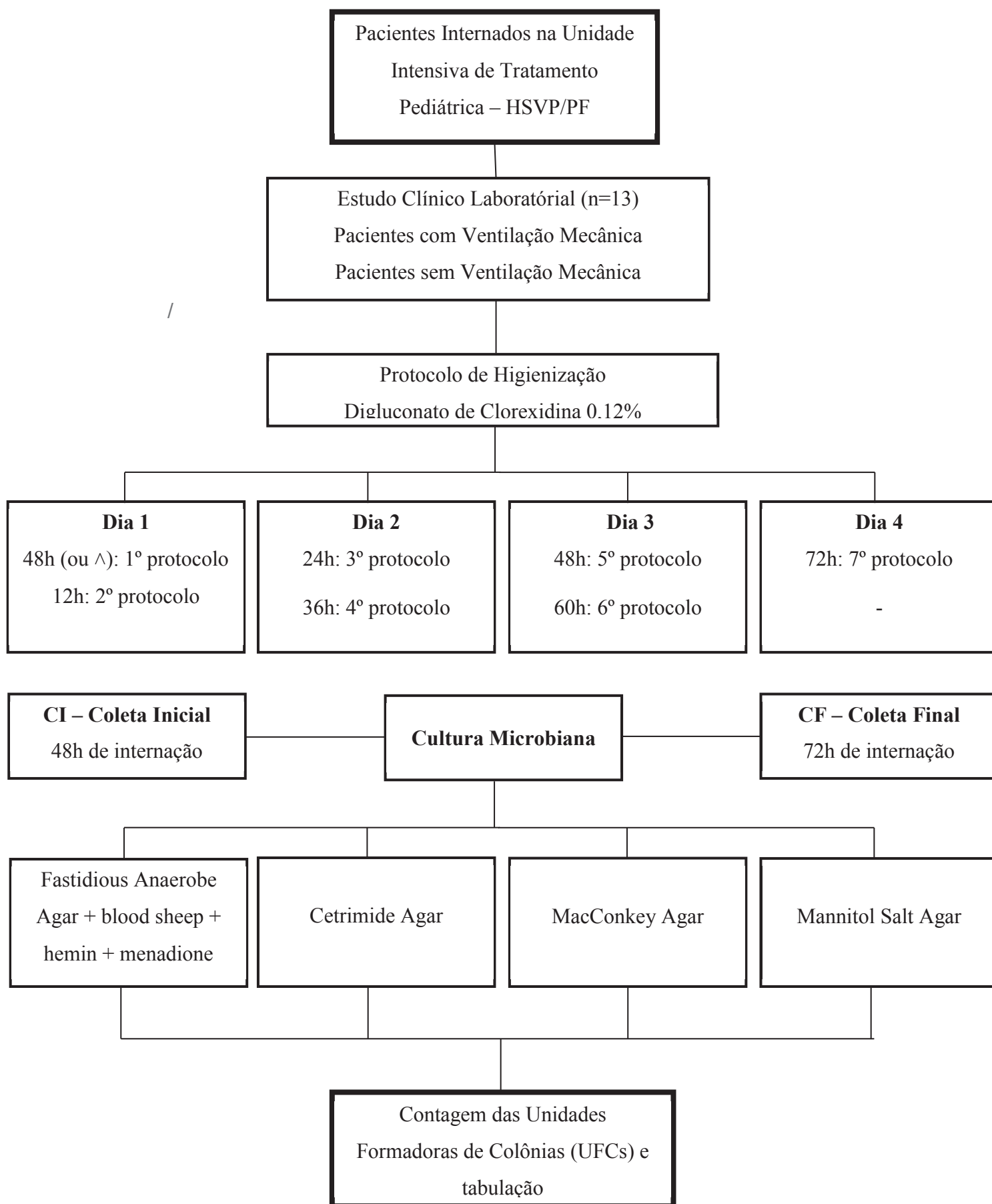


Figura 1. Fluxograma: Esquema da metodologia executada.

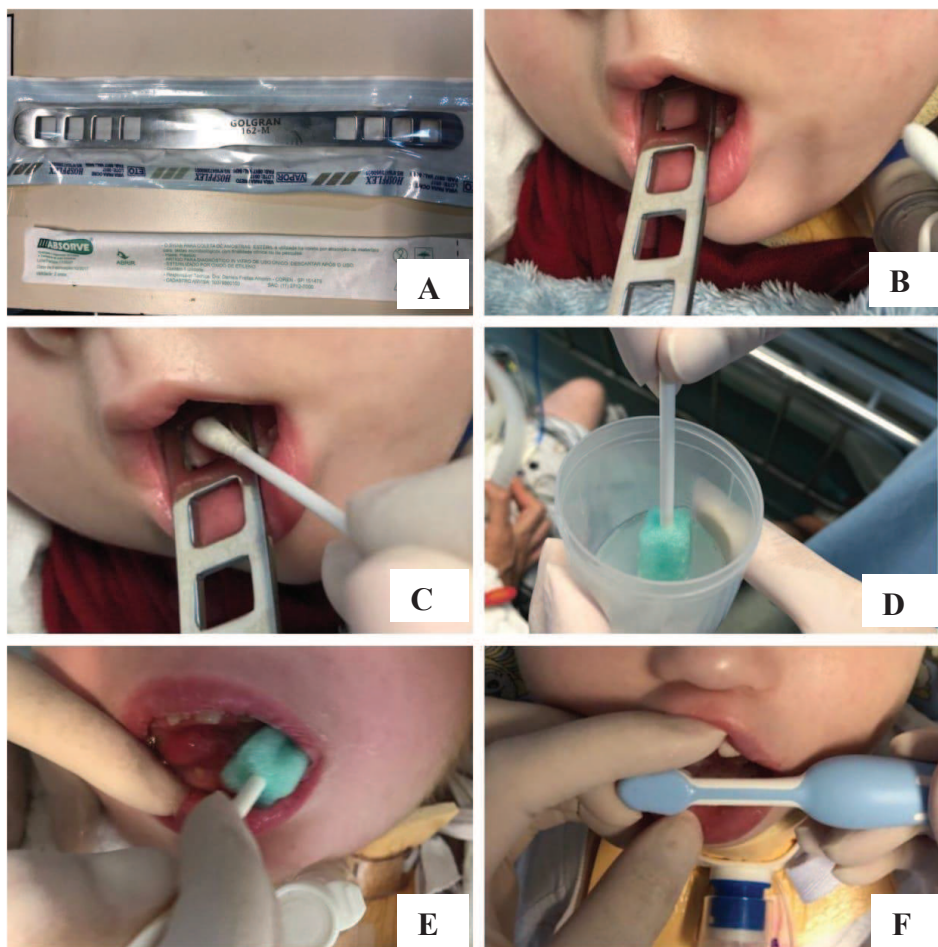


Figura 2. Sequência de coleta, in vivo: A) aparato metálico para definição da área coletada e swab; B) definição da área para coleta; C) coleta com swab; D) dente swab embebido em digluconato de clorexidina 0,12%; E) higiene da cavidade bucal com dente swab; F) higiene da cavidade bucal com escova dental.

Parte II (procedimentos laboratoriais)

8.5 Análise das amostras coletadas

As análises das amostras foram feitas na Universidade de Passo Fundo (UPF) no laboratório de microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas, na cidade de Passo Fundo / RS.

Para a análise das amostras foram utilizadas placas de Petri com meios de cultura para que os micro-organismos pudessem crescer e serem analisados. Para a análise das amostras iniciais, as placas que possuíam o esfregaço das crianças que não fazem uso de ventilação, foram analisadas todas as bactérias presentes, já as placas que possuíam o esfregaço das crianças que fazem uso da ventilação, foram analisadas todas as bactérias presentes e ainda foi feita a análise específica dos micro-organismos *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Na análise das amostras finais, as placas foram analisadas da mesma forma, porém,

com o intuito de se detectar uma redução nos micro-organismos tanto das crianças sem ventilação, quanto das crianças que possuíam ventilação. Durante o procedimento de análise clínica das amostras o avaliador foi cegado para que assim não ocorresse nenhum viés nos resultados.

Após a coleta das amostras de raspado lingual, foi feita a homogeneização dessas amostras em um misturador tipo vortex durante 15 segundos (**Figura 3**). Para a diluição seriada foi pipetada uma alíquota de 100 μ L de VMGA III no eppendorf indicado como 10^{-1} que possui o FAB. Posteriormente foi pipetada uma alíquota de 100 μ L do eppendorf 10^{-1} no eppendorf 10^{-2} e assim sucessivamente até chegar no eppendorf 10^{-4} (**Figura 3**). Ao final, os quatro eppendorfs possuíam as bactérias diluídas.

Para o plaqueamento que corresponde à coleta inicial que foram analisados todos os microorganismos encontrados na cavidade oral e a final que foi analisado a eficácia do protocolo, foram utilizadas placas de Petri onde cada placa continha FAA Fastidious Anaerobe Ágar acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado suplementado por hemina (5mg/L) e vitamina K1 (1mg/L), que foi o meio de cultura não seletivo. Com o eppendorf indicado como 10^{-1} , já feita a diluição seriada, foi pipetada uma alíquota de 50 μ L na placa de Petri e então foi plaqueada com o auxílio de uma alça para plaqueamento (**Figura 3**).

Para identificação de bactérias mais frequentes na pneumonia nosocomial, foi realizado o plaqueamento em placas de Petri com meios específicos e restritos para o crescimento de tais micro-organismos. Uma alíquota de 50 μ L correspondente à amostra mãe foi plaqueada em cada meio. Para *Acinetobacter spp.* o meio foi Ágar Mac Conkey, *Staphylococcus aureus* o meio foi Ágar manitol sal e para *Pseudomonas aeruginosa* o meio foi Ágar Cetremida.

Todas as-placas foram incubadas a 37 °C em atmosfera de 10% de H₂, 10% de CO₂ e 80% de N₂ até 14 dias, para permitir a detecção de micro-organismos anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos. Após a incubação, cada placa de FAA foi examinada em lupa estereoscópica em um aumento de 3x para contagem de unidade formadora de colônias (UFC). Uma amostra foi considerada positiva se foram encontradas 10⁴ UFC / ml ou mais de um PRP (Agente Patogênico Respiratório Potencial). (**Figura 4**).

Todo custo do estudo foi patrocinado pela aluna responsável pelo TCC.

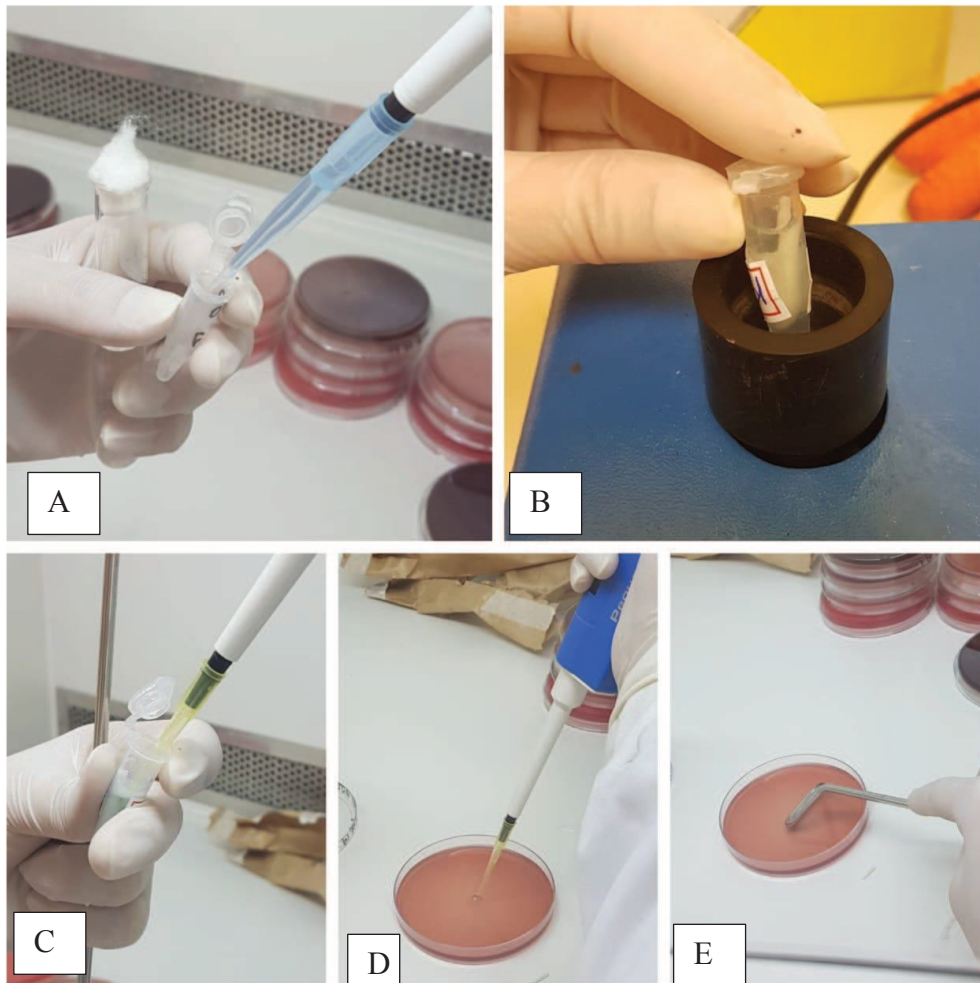


Figura 3. Esquema de plaqueamento. a) Transferência de 100uL da amostra principal para demais micro tubos da diluição seriada; b) Agitação do micro tubo para melhor dispersão dos micro-organismos; c) Pipetagem de 50uL para plaqueamento; d) Deposição do volume da amostra em placa de cultura pré-produzida; e) Plaqueamento dos micro-organismos com alça de Drigalski em meio de cultura.

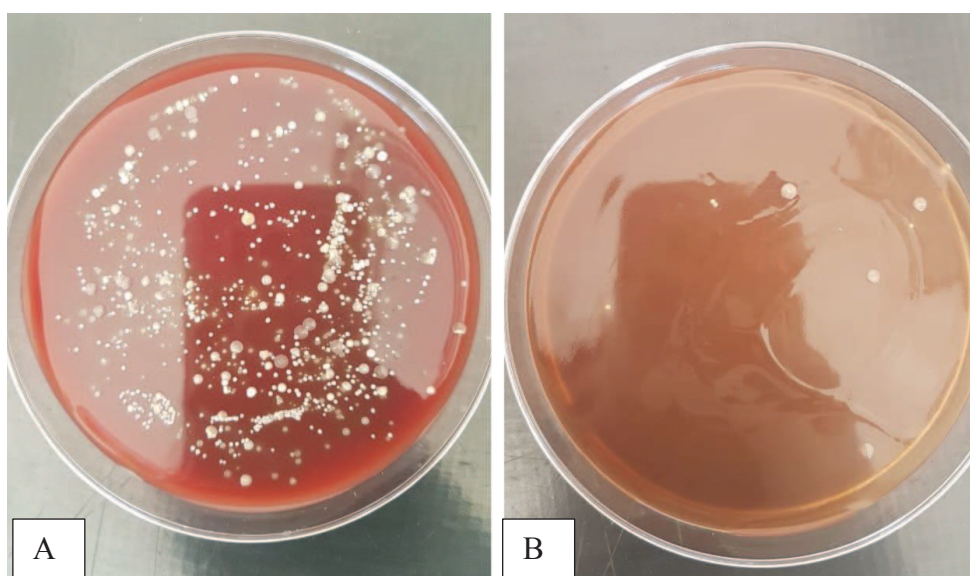


Figura 4. Quantificação de unidade formadora de colônias (UFC). A) Análise e quantificação das UFC da placa das amostras inicial. B) Análise e quantificação das UFC na placa das amostras finais.

8.6 Considerações Éticas

Para o desenvolvimento deste trabalho o mesmo foi enviado ao Comitê de Ética do HSVP e, o Comitê da UPF, tendo suas respectivas aprovações (Anexo 3 e 4). As crianças somente foram avaliadas após o termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelos pais e/ou responsáveis.

8.7 Riscos e Benefícios

O risco que o sujeito do estudo foi submetido foi pela aplicação do protocolo de descontaminação e a coleta de material realizado. O mesmo seguiu criteriosamente os passos indicados, teve cuidados de aspiração e de manejo do paciente, e estava rotineiramente monitorado pela equipe médica e equipe responsável pelo estudo. Diante da sequência inegável e necessária de procedimentos invasivos, ficou claro aos responsáveis que, caso identificassem alguma ação, atitude ou consequência que não foi agradável de qualquer natureza, física, moral ou intelectual nos avise que faremos o possível para corrigir e reverter o dano.

Acredita-se que o paciente teve como benefício imediato a aplicação do protocolo de descontaminação, uma vez que, segundo a literatura atual, isso significa diminuição da contaminação bucal, diminuição dos microrganismos e consequentemente diminuição de possíveis doenças associadas a condição hospitalar e sistêmica da criança.

9. RESULTADOS

9.1 Análise de Normalidade

Para a análise de normalidade, os dados obtidos pelas quantificações pela técnica de Unidades Formadoras de Colônias, foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk. Os dados diferiram de uma distribuição normal, sendo categorizados como anormais ($p=0.0082$).

9.2 Análise Descritiva dos Dados Gerais e Clínicos dos Pacientes

Os resultados da pesquisa refletem o período de julho/2018 a fevereiro/2019 na CTI/HSVP, assim como a aplicabilidade dos critérios de inclusão e exclusão ao estudo, desta forma foi alcançado um número de 13 sujeitos.

Os dados gerais e características clínicas dos pacientes na Unidade de Terapia Intensiva do HSVP estão expressos na **Tabela 1**. Apresentando um total de treze pacientes, sete eram do sexo masculino (7/13) e seis do sexo feminino (6/13). Deste grupo, nove pacientes realizavam a sua primeira internação (9/13) e apenas quatro pacientes já haviam sido internados anteriormente (4/13). A maioria dos pacientes internados estava respirando com auxílio de ventilação mecânica (10/13), sendo somente três pacientes sem auxílio (3/13). Todos os pacientes estavam sob tratamento com a utilização de antibióticos sistêmicos (13/13). Com relação a presença de dentição, onze pacientes apresentavam pelo menos um ou mais dente na cavidade bucal (11/13), e apenas dois não tinham nenhum dente irrompido (2/13).

Tabela 1. Características gerais da amostra, idade, sexo e dados clínicos dos pacientes internados (n=13) HSVP, Passo Fundo, RS, 2019.

VARIÁVEL	AMOSTRAS	
Idade	Média (desvio padrão): 5,67 (3,70)	
	Frequência (%)	
Sexo	Masculino	7 (53,84%)
	Feminino	6 (46,15%)
Primeira Internação	Sim	9 (69,23%)
	Não	4 (30,76%)
Ventilação Mecânica	Sim	10 (76,92%)
	Não	3 (23,07%)
Antibioticoterapia	Sim	13 (100,00%)
	Não	0 (0,00%)
Dentição presente	Sim	11 (84,61%)
	Não	2 (15,38%)

9.3 Análise Estatística das Quantificações de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

Após análise exploratória dos dados de UFC em diferentes meios de cultura bacteriana, os mesmos foram analisados pelo teste não paramétrico de Friedman para comparação entre os momentos das coletas. Na **Tabela 2**, observa-se que houve diminuição significativa de UFCs contabilizadas no meio Mannitol Salt Agar entre os períodos das coletas ($p < 0,05$). Em contrapartida, nos meios de cultura Fastidious Anaerobe Agar, Cetrimide Agar e MacConkey Agar a contabilização de UFCs entre os momentos das coletas não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$).

Tabela 02. Mediana (valor mínimo e máximo) das unidades formadoras de colônia (UFC) em função do meio de cultura e tempo, cultura microbiana (n=13) HSVP, Passo Fundo, RS, 2019.

Cultura Microbiana	Coletas do Raspado Lingual		p valor
	Coleta Inicial	Coleta Final	
Fastidious Anaerobe Ágar*	196,000 (1,200 – 1,568,000) A	22,000 (1,200 – 77,000) A	0,7815
Cetrimide Agar**	0,00 (0,00 – 66,000) A	0,00 (0,00 – 89,000) A	0,1655
Mannitol Salt Agar***	2,600 (0,00 – 105,200) A	0,00 (0,00 – 22,800) B	0,0265
MacConkey Agar****	10,000 (0,00 – 616,000) A	3,000 (0,00 – 26,000) A	0,1655

Medianas seguidas letras distintas na horizontal diferem entre si ($p \leq 0,05$).

* Meio de cultura não seletivo para todos microrganismos

** Meio utilizado para *Pseudomonas aeruginosa*

***Meio utilizado para *Staphylococcus aureus*

****Meio utilizado para *Acinetobacter* spp

10. DISCUSSÃO

O presente estudo procurou avaliar, o poder de descontaminação oral do digluconato de clorexidina a 0,12% em crianças internadas na CTIP do HSVP. Levando em consideração que patógenos respiratórios, quando encontrados na cavidade bucal, são os mesmos patógenos presentes na orofaringe de pacientes acometidos pela Pneumonia Associada a Ventilação Mecânica (PAVM), podemos destacar a importância de um protocolo de higiene seguro e eficaz. Como a PAVM é uma das complicações mais comuns adquiridas por pacientes em CTIs, com a implementação de um protocolo simples de higiene oral, como abordagem preventiva, é possível promovermos uma significativa melhora no quadro clínico desses pacientes. (Ullman *et al.*, 2011, Sands, *et al.*; 2016, Piau *et al.*, 2016, Pharm *et al.*, 2017).

Em nosso estudo, o protocolo elegido não se mostrou estatisticamente efetivo na redução da carga microbiana total ($p > 0,05$). Esses resultados colaboram com os encontrados em estudos anteriores que utilizaram o digluconato em diferentes concentrações, resultando numa baixa da redução da carga microbiana, no entanto

não estatisticamente significativa. Sabastian *et al.*, 2012, concluíram que, o gel de clorexidina a 1% não conseguiu demonstrar qualquer redução significativa nas taxas de PAVM em crianças internadas na UTI. Villar e colaboradores em 2016, concluíram que nas concentrações mais baixas testadas (0,12 e 0,2%), a clorexidina não conseguiu prevenir o desenvolvimento de PAVM, porém, o efeito protetor da clorexidina só foi alcançado quando sua frequência de uso foi aumentada para 4 vezes numa porcentagem de 2%. Mesmo sendo um pequeno número de ensaios que testaram a segurança e eficácia da clorexidina 4 vezes ao dia a 2%, este estudo nos apresenta a hipótese de que pode haver uma significativa relação quanto a concentração e o número de vezes ao dia que a clorexidina é usada para tal finalidade. Podendo assim, hipoteticamente, justificar a ausência de redução estatisticamente significativa da microbiota total entre as nossas duas etapas de coletas.

Kusahara *et al.*, em um estudo semelhante ao nosso, com digluconato de clorexidina a 0,12% em população infantil, mostraram resultados estatísticos similares aos nossos, onde demonstraram que a intervenção de cuidados bucais na amostra de crianças sob cuidados intensivos não reduziu significativamente a presença de micro-organismos nas culturas analisadas.

Em um estudo recente, porém em adultos e utilizando a clorexidina na sua forma em gel, Vidal *et al.*, 2016, demonstraram que o uso de escovação dentária associada a clorexidina gel 0,12% não promoveu diferença estatisticamente significativa. Em contra partida, Piau *et al.*, (2016), nos apontam uma redução estatisticamente significativa da presença de bactérias patogênicas, utilizando a mesma porcentagem que utilizamos em nosso estudo em crianças avaliadas em dois diferentes grupos, sendo o Grupo 1 (G1) crianças internadas na UTIP e o Grupo 2 (G2) crianças não hospitalizadas e saudáveis. Com este estudo, puderam concluir que o número de crianças positivas para bactérias patogênicas, das internadas na UTIP, diminuiu significativamente após a implementação do protocolo de higiene oral e consequentemente a taxa de colonização bacteriana destas crianças diminuiu após as medidas de higiene bucal e tornaram-se semelhantes à das crianças saudáveis.

As espécies Gram-negativas que são particularmente resistentes aos agentes biocidas, como por exemplo, a clorexidina, incluem a *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* Em nosso estudo, o protocolo elegido não se mostrou estatisticamente efetivo na redução destes micro-organismos, *Acinetobacter spp.* e

Pseudomonas aeruginosa ($p > 0,05$). Acreditamos que a manutenção destes microrganismos na cavidade oral possivelmente seja decorrentes de suas características estruturais e a sua possível capacidade elevada de formação de biofilmes. Em concordância ao presente estudo, alguns trabalhos têm mostrado que a dificuldade de eliminação de tais espécies pode ser decorrente de seus perfis resistentes a antibióticos e da mesma forma a anti-sépticos (Sands *et al.*, 2017; Scannapieco *et al.*, 1999).

Sands *et al.*, (2016), citaram, através do uso de tecnologia baseadas em DNA, a *Pseudomonas aeruginosa* como sendo um colonizador rápido em meio nutricional e podendo efetivamente superar o crescimento de outras espécies microbianas, talvez apresentando-se como uma espécie predominante neste cenário. Assim, podemos explicar a grande dificuldade de eliminarmos esses patógenos respiratórios Gram-negativos em nosso estudo, sendo que todos os pacientes que constituíram nossas amostras faziam uso de antibioticoterapia (13/100%). Estes micro-organismos identificados em nossas amostras são resistentes a antibióticos múltiplos, proporcionando possível influência no efeito da clorexidina.

Em nosso estudo, ao se tratar do micro-organismo *Staphylococcus aureus* houve uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Este achado colabora com o estudo de Scannapieco *et al.*, (2009), onde seus resultados se mostraram bastante similares aos nossos. O digluconato de clorexidina tópica oral, reduziu o número de *Staphylococcus aureus* viáveis na placa dentária de pacientes que possuíam ventilação mecânica- UTI. No entanto neste estudo, a clorexidina não diminuiu o número de total ou a proporção de outros patógenos respiratórios, *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*, na placa dentária. Isso nos faz acreditar que o micro-organismo *Staphylococcus aureus* é vulnerável a desinfecção por clorexidina diferente dos outros patógenos respiratórios estudados por nós.

Foi possível observar clinicamente em nosso estudo que a saúde bucal é diretamente afetada pela doença crítica da infância. Ullman *et al.*, (2011), puderam constatar que metade das crianças criticamente doentes apresentam disfunção oral manifestadas de inúmeras maneiras, são elas: desenvolvimento de úlceras, placa dentária, cavidades, lábios rachados, diminuição do fluxo salivar ou inflamação e infecção generalizada. Todas essas alterações provocam uma alteração das defesas imunológicas na cavidade oral facilitando a adesão de organismos patogênicos. Isto nos leva a entender o motivo de crianças que estão em estado crítico, internas na

CTIP, serem altamente acometidas por patógenos respiratórios. Todas estas disfunções citas das vistas como um meio oportuno para estes micro-organismos se fixarem.

Pacientes hospitalizados, internados em UTIs, sendo eles adultos ou pediátricos, são uma preocupação de saúde pública por conta dos altos custos de cuidados e o aumento de morbidade e mortalidade. Um achado importante em nosso estudo foi o alto índice de pacientes que necessitam da ventilação mecânica quando internados na CTIP (76,92%). Uma vez que, a grande maioria dos internados vai fazer o uso da ventilação mecânica, podemos fazer uma relação ao alto índice de pacientes que desenvolvem a PAVM, e conseqüentemente o aumento dos custos, da morbidade e mortalidade desta população. Outro dado importante que podemos constatar com nosso estudo, é que 69,23% dos pacientes coletados, estavam na sua primeira internação na CTIP, ou seja, 30,76% nos pacientes coletados, já haviam sido internados outras vezes na CTIP, aumentando assim suas chances de desenvolver a PAVM.

Alterações microbianas ocorrem na placa dentária de pacientes sob ventilação mecânica e incluem a colonização por patógenos respiratórios, sendo a presença destes patógenos na placa dental um fator de risco para a PAVM. (Sands *et al.*, 2017). Em nosso estudo, 84,61% dos pacientes apresentavam dentição, os tornando assim mais susceptíveis a placa dentária e conseqüentemente a PAVM. Por este motivo, é importante salientar a importância de manter uma reforçada higiene bucal durante a ventilação mecânica, podendo assim, limitar o reservatório de patógenos respiratórios dentro da placa dentária destes pacientes.

Embora o tamanho de nossas amostras não tenha sido suficientemente grande para uma redução estatisticamente significativa na incidência de PAVM em nossos pacientes, houve uma forte tendência para menos casos de PAVM clinicamente. Acreditamos que seja aceitável a hipótese de que com a melhora da saúde bucal possamos diminuir a prevalência de colonização orofaríngea por patógenos respiratórios e, assim, possamos reduzir o risco de PAVM.

Embora as técnicas de cultura microbiana sejam consideradas padrão ouro para avaliação de protocolos de descontaminação oral, há o conhecimento que para avaliação de culturas positivas, há a necessidade de um grande número de células bacterianas viáveis. Logo, com o objetivo de aperfeiçoar técnicas de cultura, a metodologia molecular tem apresentado eficácia no reconhecimento de patógenos

relacionados a diferentes doenças orais. Sendo assim, é extremamente significativa a relevância da associação de tais técnicas a fim de colaborar e até mesmo esclarecer os resultados obtidos com o presente estudo. Além disso, nosso estudo apresentou uma variabilidade extensa entre os dados obtidos. Assim, é importante a realização de maior número de coletas clínicas a fim de estabelecer uma representabilidade maior à situação clínica encontrada. Para tanto, é necessário o desenvolvimento de mais estudos com um número maior de amostras.

11. CONCLUSÃO

Concluimos que o protocolo de descontaminação oral com digluconato de clorexidina 0,12% em pacientes pediátricos internados em CTIP mostrou efetividade contra o micro-organismo *Staphylococcus aureus*, contudo, ao se tratar dos micro-organismos *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*, este protocolo não garante uma efetiva redução microbiana, denotando a necessidade de mais estudos clínicos.

Levando em consideração as inúmeras dificuldades para a descontaminação oral destes pacientes, podemos ressaltar a grande importância da presença diária do cirurgião dentista na CTIP/HSVP, visto que, essa presença pode resultar em ganho na melhora do quadro clínico geral dos pacientes, e redução do custo financeiro necessários nas internações de doenças associadas.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, C. O. F.; MARQUES, J. A.; BOVOLOTO, M. C.; PARIZ, A. G. S.; OLIVEIRA, A.; STRAIOTO, F.G. Importância do cirurgião-dentista em Unidade de Terapia Intensiva: avaliação multidisciplinar. *Revista da associação Paulista de Cirurgões Dentistas*.v.67, n.2, p.107-111, 2013.

AMARAL, K.C.; TENÓRIO, M.D.H.; DANTAS, A.B. Condição de saúde bucal de crianças internas em hospitais da cidade de Maceió-AL. *Odontologia Clínico-Científica*, v. 5, n. 4, p. 267-273, 2006.

BERRY, A. M.; DAVIDSON, P. M.; MASTERS, J.; ROLLS, K.; OLLERTON, R. Effects of three approaches to standardized oral hygiene to reduce bacterial colonization and ventilator associated pneumonia in mechanically ventilated patients: A randomised control trial. *International Journal of Nursing Studies*. v. 48, p.681–688, 2011.

BINKLEY, C.; FURR, L. A.; CARRICO, R.; MCCURREN, C. Survey of oral care practices in US intensive care units. *Am J Infect Control*, v. 32, n. 3, p. 161-9, 2004.

BONECKER, M. J. S.; MODESTO, A.; WALTER, L. R. F. Programas de atenção odontológica para bebês, crianças e adolescentes. In: Massara MLA, Rédua PC (Coord): *Manual de referência para procedimentos clínicos em Odontopediatria*. São Paulo: Santos. p. 246, 2010

GIFT, H. C.; ATCHISON, K. A. Oral health, health, and health – related quality of life. *Med Care*, v. 33, n. 11, p. 57- 77, 1995.

SILVEIRA, F. M. M.; MELO, J. C. N.; KOZMHINSKY, V. Prática odontológica especializada e hospitalar. In: GOES, P. S. A.; KRIGER, L.; MOYSÉS, S. J.; MOYSÉS, S. T. *Gestão da Prática em Saúde Bucal*. Editora Arte Medicas Ltda, 2014. p. 85-93.

JOHNSTONE, L.; SPENCE, D.; MCCLAIN, J. K. Oral Hygiene Care in the Pediatric Intensive Care Unit: Practice Recommendations. *Pediatric Nursing*. v. 36, n. 2, march-april, p.85-96, 2010.

KUSAHARA, D. M.; FRIEDLANDER, L. T.; PETERLINI, M. A. S.; PEDREIRA, M. L. G. Oral care and oropharyngeal and tracheal colonization by Gram-negative pathogens in children. *Nursing in Critical Care*. v. 17, n. 3, p. 115-122, 2012.

MATTEVI, G. S.; FIGUEIREDO, D. R.; PATRÍCIO, Z. M.; RATH, I. B. S. A Participação do Cirurgião-Dentista em Equipe de Saúde Multidisciplinar na Atenção à Saúde da Criança no Contexto Hospitalar. *Ciência & Saúde Coletiva*. v.16 n.10 p. 4229-4236, 2011

MORAIS, T.M.N.; SILVA, A.; AVIS, A.L.R.O.; SAUZA, P.H.R.; KNOEL, E.; CAMARGO, L.F.A. A Importância da Atuação Odontológica em Pacientes Internados em Unidade de Terapia Intensiva. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*. v. 18, n.4, outubro-dezembro, p.412-417, 2006.

MUNRO, L. C.; GRAP, M. J.; Oral Health and Care in the Intensive Care unit: state of the Science. *American Journal of Critical Care*. v.13 n.1 p. 25-34, 2004.

NICOLOSI, L. N.; DEL CARMEN RUBIO, M.; MARTINEZ, C. D.; GONZALEZ, N. N.; CRUZ, M. E. Effect of oral hygiene and 0.12% chlorhexidine gluconate oral rinse in preventing ventilator-associated pneumonia after cardiovascular surgery. *Respir Care*, v. 59, n. 4, p. 504-9, 2014.

OLIVEIRA, L.C.B.; CARNEIRO, P.P.M.; FISCHER, R.G.; TINOCO, E.M.B. Presence of Respiratory Pathogens in the Oral Biofilm of Patients with Nosocomial Pneumonia. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*. v. 19, n.4, outubro-dezembro, 2007.

ORLANDINI, G.M; LAZZARI, C.M; *et al.*, Conhecimento da equipe de enfermagem sobre higiene oral em pacientes criticamente enfermos, *Rev Gaúcha Enferm*. v.33 n.3 p.34-41, 2012.

PIAU, C. G. B. C.; AZEVEDO, T. D. P. L.; MIRANDA, A. F.; PINHEIRO, J. A. P.; BEZERRA, A. C. B. Oral Microbial Colonization in Pediatric Intensive Care Unit Patients. *Journal of Dentistry for Children*. 83:2, 2016.

PHARM, J. O.; RAYBAUD, E.; CHABANNE, R.; COSSERANT, B.; FAURE, J. S.; GUÉRIN, R.; CALVET, L. *et al.* Comparative study of 2 oral care protocols in intensive care units. *American Journal of Infection Control*, v. 45, n. 9, p. 245-250, 2017.

ROCHA, A. L.; FERREIRA, E. F. Odontologia hospitalar: a atuação do cirurgião dentista em equipe multiprofissional na atenção terciária. *Arq Odontol*, Belo Horizonte, v. 50, n.4, p. 154-160, out/dez 2014.

SACHDEV, M.; READY, D.; BREALEY, D.; RYU, J.; BERCADES, G.; NAGLE, J.; BORJA-BOLUDA, S.; AGUDO, E.; PETRIE, A.; SUVAN, J.; DONOS, N.; SINGER, M.; NEEDLEMAN, I. Changes in dental plaque following hospitalisation in a critical care unit: an observational study. *Crit Care*, v. 17, n. 5, p. R189, 2013.

SANDS, K. M.; TWIGG, J. A.; LEWIS, M. A. O.; WISE, M. P.; MARCHESI, J. R.; SMITH, A.; WILSON, M. *et al.* Microbial profiling of dental plaque from mechanically ventilated patients. *Journal of Medical Microbiology*. v. 65, p. 147-159, dec. 2016.

SANDS, K. M.; WILSON, M. J.; LEWIS, M. A. O.; WISE, M. P.; PALMER, N.; HAYES, A. J.; BARNES, R. A.; *et al.* Respiratory pathogen colonization of dental plaque, the lower airways, and endotracheal tube biofilms during mechanical ventilation. *Journal of Critical Care*. v. 37, p. 30-37, 2017.

SCANNAPIECO, F.A. Role of oral bacteria in respiratory infection. *J Periodontol*, v. 70, n.7, p. 793-002, 1999.

SCANNAPIECO, F. A.; YU, J.; RAGHAVENDRAN, K.; VACANTI, A.; OWENS, S. I.; WOOD, K.; MYLOTTE, J. M. A randomized trial of chlorhexidine gluconate on oral bacterial pathogens in mechanically ventilated patients. *Crit Care*, v. 13, n. 4, p. R117, 2009.

SEBASTIAN, M.; LODHA, R.; KAPIL, A.; KABRA, S. Oral mucosal decontamination with chlorhexidine for the prevention of ventilator-associated

pneumonia in children -A randomized, controlled trial. *Pediatric Critical Care Medicine*. V. 13, n. 5, p. 305-310, set., 2012.

ULLMAN, A.; LONG, D.; LEWIS, P. The oral health of critically ill children: an observational cohort study. *Journal of Clinical Nursing*. v. 20, p. 3070–3080, março 2011.

VIDAL, C. F. L.; VIDAL, A. K. L.; MONTEIRO JR., J. G. M.; CAVALCANTI, A.; HENRIQUES, A. P. C.; OLIVEIRA, M.; GODOY, M.; *et al.* Impact of oral hygiene involving toothbrushing versus chlorhexidine in the prevention of ventilator-associated pneumonia: a randomized study. *BMC Infectious Diseases*. v. 17, n. 112, p. 2-9, 2017.

13. AVALIAÇÃO E ASSINATURA DO ORIENTADOR

A aluna teve um envolvimento além das expectativas com o TCC. Foi desde o início a mentora do trabalho, buscou e defendeu todas as dificuldades que surgiram no caminho. Por se tratar de um ensaio clínico, *in vivo*, a dedicação e o respeito do protocolo foram fundamentais para a finalização do mesmo. Nota quantitativa dez (10).

Profa Dra Juliane Bervian

ANEXOS

1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Faculdade de Odontologia

Curso de Odontologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Seu (sua) filho (a) está sendo convidado (a) a participar da pesquisa sobre **“Avaliação da ação antimicrobiana de protocolos de descontaminação oral e identificação de micro-organismos associados à pneumonia nosocomial em crianças internadas no HSVP”**, de responsabilidade da pesquisadora Profa Dra Juliane Bervian.

Esta pesquisa justifica-se devido ao fato de crianças hospitalizadas não possuírem controle de higiene oral diário, muitas podem desenvolver uma variedade de micro-organismos na cavidade bucal. Sendo assim de grande importância a realização de um protocolo de higienização oral para estas crianças.

O objetivo desta pesquisa é avaliar, in vivo, o potencial de redução da carga microbiana de um protocolo de descontaminação oral em crianças internadas no Centro de Tratamento em Terapia Intensiva (CTI).

A participação de seu (sua) filho (a) na pesquisa será em 1 encontro, pela parte da tarde, com duração aproximada de 15 minutos.

Seu (sua) filho (a) poderá sentir um pouco de desconforto, se for identificado algum sinal de desconforto psicológico ou físico da sua participação na pesquisa, a pesquisadora compromete-se em orientá-lo (a) e encaminhá-lo (a) para os profissionais especializados na área.

Ao participar da pesquisa, seu (sua) filho (a) terá os seguintes benefícios:

- a) Cavidade oral higienizada;
- b) Avaliação odontológica;
- c) Benefícios futuros com o resultado da pesquisa;

Você terá a garantia de receber esclarecimentos sobre qualquer dúvida relacionada a pesquisa. A participação de seu (sua) filho (a) nessa pesquisa não é obrigatória e você pode desistir por ele (a) a qualquer momento, retirando seu consentimento.

Você não terá qualquer despesa para participar da presente pesquisa e não receberá pagamento pela sua participação no estudo.

As suas informações serão coletadas, registradas e posteriormente destruídas. Os dados relacionados à sua identificação não serão divulgados.

Os resultados da pesquisa serão divulgados, mas você terá a garantia do sigilo e da confidencialidade dos dados.

Caso você tenha dúvidas sobre o comportamento dos pesquisadores ou sobre as mudanças ocorridas na pesquisa que não constam no TCLE, e caso se considera prejudicado (a) na sua dignidade e autonomia, você pode entrar em contato com a pesquisadora Andressa Welter pelo fone (55) 999534691, ou com o curso de Odontologia, ou também pode consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da UPF, pelo telefone (54) 3316-8157, no horário das 08h às 12h e das 13h30min às 17h30min, de segunda a sexta-feira.

Dessa forma, se você concorda em **participar da pesquisa como consta nas explicações e orientações acima**, coloque seu nome no local indicado abaixo.

Desde já, agradecemos a sua colaboração e solicitamos a sua assinatura de autorização neste termo, que será também assinado pelo pesquisador responsável em duas vias, sendo que uma ficará com você e outra com o (a) pesquisador (a).

Passo Fundo, ___ de _____ de 2018.

Nome do (a) participante: _____

Assinatura: _____

Nome do (a) pesquisador (a): _____

Assinatura: _____

2. Instrumento de Coleta para os dados clínicos

DADOS ESPECÍFICOS DO PACIENTE

1) Nome: _____

2) Gênero: M () F ()

3) Idade: _____

4) Antibioticoprofilaxia: NÃO () SIM ()

Medicamentos: _____

5) Primeira internação: NÃO () SIM ()

Quantas vezes ficou internado (a): _____

6) Faz uso de ventilação mecânica: NÃO () SIM ()

Quanto tempo está com a ventilação mecânica: _____

7) Características da boca:


a) Apresenta dentição: NÃO () SIM () nº: _____

b) Índice CEPOD:

	18	17	16	15	14	13	12	11	01	02	03	04	05	06	07	08
Coroa																
Raiz																
Trat.																

	48	47	46	45	44	43	42	41	71	72	73	74	75	76	77	78
Coroa																
Raiz																
Trat.																

3. CEP HSVP

HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO 
 Comissão de Pesquisas e Pós-Graduação (CPPG)

Passo Fundo, 11 de julho de 2017.

Parecer

Autor(a)(s): Mateus Ari de Andrade e Juliane Bervian.

Orientador (a): Dra. Juliane Bervian.

Responsável HSVP: Dr. José Ivo Scherer.

Caros Pesquisadores

A Comissão de Pesquisas e Pós Graduação do Hospital São Vicente de Paulo analisou seu projeto de pesquisa intitulado: "AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL DE CRIANÇAS INTERNADAS NA PEDIATRIA DO HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO" e **aprovou** o estudo, salientando que este pode ser iniciado a partir dessa data.

Queremos lembrar a necessidade de o pesquisador manter o Centro de Gerenciamento (CGP-HSVP) atualizado, sobre o desenvolvimento científico dentro do Hospital, informando sobre a aprovação na Plataforma Brasil e incluindo o HSVP como Instituição co-participante na folha de rosto do CONEP, informando também sobre as publicações ou apresentações dos resultados desta pesquisa (relatórios parciais e finais deverão ser encaminhados a este setor).

A comissão agradece a iniciativa em pesquisar no Hospital Ensino São Vicente de Paulo, deseja um ótimo trabalho aos pesquisadores lembrando que sejam cumpridas as normas regulamentares do HSVP (a pesquisa não deve produzir riscos aos pacientes e ao Hospital).

Atenciosamente,



Dr. Hugo Lisboa
 Coordenador CPPG-HSVP



Valéria Sumye Milani
 CPPG

Centro de Gerenciamento
 de Pesquisas (CGP-HSVP)

4. CEP UPF

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação Da Saúde Bucal De Crianças Internadas Na Pediatria Do Hospital São Vicente De Paulo

Pesquisador: Juliane Bervian

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 74863517.0.0000.5342

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.591.396

Apresentação do Projeto:

O projeto foi apresentado na íntegra para apreciação do CEP.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a saúde bucal de crianças internadas no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há qualquer risco durante a realização deste estudo, pois se trata da aplicação de um questionário e breve avaliação de saúde bucal. Todas as informações colhidas que dizem respeito a dados pessoais serão confidenciais e será mantido sigilo. Quanto aos benefícios, possibilitará observar e esclarecer as crianças e seus responsáveis quanto à higiene bucal e promoção de saúde bucal em âmbito hospitalar e domiciliar. Todos participantes da pesquisa serão beneficiados com orientação de higiene e de cuidados para a saúde

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Manter uma boca saudável é importante para o bem-estar geral dos indivíduos, os cuidados diários preventivos, bem como a necessidade de tratamentos restauradores adequados, ajudam a prevenir e minimizar o desenvolvimento de problemas futuros. O objetivo deste trabalho é avaliar a saúde bucal de crianças internadas na pediatria do Hospital São Vicente De Paulo na cidade de Passo Fundo – RS. Na metodologia de um estudo transversal com delineamento observacional, será aplicado um questionário aos pais e realizado um exame clínico nas crianças internadas. Os

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo

Bairro: Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900

UF: RS **Município:** PASSO FUNDO

Telefone: (54)3316-8157

E-mail: cep@upf.br

Estudo *in vivo* da avaliação da ação antimicrobiana de um protocolo de descontaminação oral em crianças hospitalizadas no Centro de Terapia Intensiva, Hospital São Vicente de Paulo, RS.

Andressa Welter ¹

Ezequiel Gabrielli ²

Matheus Albino Souza ³

Juliane Bervian ⁴

¹ Graduanda em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

² Doutorando em Clínica Odontológica/Endodontia, Departamento de Endodontia, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, SP, Brasil.

³ Professor titular, Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

⁴ Professor titular, Departamento de Odontopediatria, Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

Correspondência:

Juliane Bervian

Departamento de Odontologia, Divisão de Odontopediatria

Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo – UPF.

Avenida Brasil Leste, 285 – São José, Passo Fundo -RS

(54) 999831864

E-mail: jbervian@upf.br

RESUMO

OBJETIVO: O presente estudo teve como objetivo avaliar, *in vivo*, o potencial de redução da carga microbiana de um protocolo de descontaminação oral em crianças internadas no Centro de Tratamento em Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP) do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). **MATERIAL E MÉTODOS:** A descontaminação oral foi realizada com digluconato de clorexidina 0.12%. Amostras microbiológicas, foram coletadas em diferentes tempos do protocolo de descontaminação bucal: antes (Coleta Inicial) e após (Coleta Final) ao protocolo de descontaminação oral que foi de três dias (de 12h em 12h). Para esta coleta inicial foi necessário que as crianças estivessem internadas em um tempo de no mínimo 24h. O método de cultura foi empregado para avaliar a eficácia do protocolo de descontaminação na carga microbiana bucal. **RESULTADOS:** O protocolo de descontaminação bucal não se mostrou estatisticamente efetivo na redução da carga microbiana total e de *Acinetobacter* spp e *Pseudomonas aeruginosa* ($p>0,05$). Contudo, ao se tratar do microrganismo *Staphylococcus aureus* houve uma redução estatisticamente significativa ($p<0,05$) entre os diferentes momentos das coletas. **CONCLUSÃO:** O protocolo de descontaminação oral com digluconato de clorexidina 0,12% em pacientes pediátricos internados em CTIP efetividade contra o microrganismo *Staphylococcus aureus*, contudo, ao se tratar dos micro-organismos *Acinetobacter* spp e *Pseudomonas aeruginosa*, este protocolo não garante uma efetiva redução microbiana, denotando a necessidade de mais estudos clínicos.

Palavras-chaves: Clorexidina, microrganismos, odontopediatria, *Acinetobacter* spp *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

INTRODUÇÃO

As crianças hospitalizadas necessitam de cuidados e orientações específicas para as diferentes situações clínicas. Promover uma saúde bucal coletiva no ambiente hospitalar, ou seja, envolvendo o paciente internado e seus acompanhantes, desenvolve a motivação para realização de bons hábitos. Visando à assistência integral e mais humanizada do paciente hospitalizados. Essas ações têm se mostrado importantes na incorporação da higiene bucal dos pacientes à rotina hospitalar, reduzindo o biofilme dentário e, conseqüentemente, o risco de infecções provenientes da microbiota bucal [1].

A conexão anatômica entre a cavidade oral e os sistemas respiratório e circulatório permite, em alguns casos, patógenos colonizarem a orofaringe viabilizando a instauração de uma infecção sistêmica [2, 3, 4], podendo incluir organismos Gram-negativos, alguns dos quais são responsáveis por infecções sistêmicas [5]. O estabelecimento da pneumonia nosocomial ocorre com a invasão bacteriana, especialmente bastonetes Gram-negativos (*Acinetobacter* spp, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp e *Proteus mirabilis*) [6]. Sendo que Scannapieco *et al.*, 2009. [4] mostraram que os principais agentes patogênicos respiratórios potenciais incluem *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, espécies de *Acinetobacter*.

Estes micro-organismos podem migrar para os pulmões, assim, causando uma pneumonia adquirida no hospital, portanto, os mesmos podem ser reduzidos ou até mesmo erradicados com a aplicação de protocolo de higienização oral [3]. A presença de patógenos respiratórios no biofilme bucal de pacientes internados em UTI pode servir de reservatório para micro-organismos associados com pneumonia nosocomial. [7]

Considerando que o biofilme bucal desempenha um importante papel no processo de desenvolvimento de doenças respiratórias infecciosas em pacientes internados em UTIs, muito se questiona a eficácia da aplicação tópica oral de anti-sépticos, como por exemplo, o digluconato de clorexidina para prevenção das doenças respiratórias[8]. Um protocolo de higiene bucal padronizado, que inclui o uso de limpeza mecânica com uma escova de dente, pode ser um fator na redução da colonização da placa dentária com patógenos

respiratórios, [9]. Pacientes que são submetidos a escovação dentária, apresentam uma redução significativa no tempo de ventilação mecânica e tendência a redução a incidência de PAVM (pneumonia associada a ventilação mecânica) e tempo de permanência da UTI [10].

Embora não existam recomendações específicas para seu uso em crianças, a clorexidina tem sido utilizada em algumas populações pediátricas, e alguns clínicos começaram a usar este anti-séptico em pacientes na Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP), com base em dados de pesquisas realizadas em populações adultas [11]. Alguns estudos mostram que o efeito da escovação de dentes usando 0,2% de enxaguante oral de digluconato de clorexidina na prevenção de pneumonia associada ao ventilador após cirurgia cardiovascular, sob supervisão de um dentista, resultaram efetivos na redução da incidência de pneumonia associada a ventilação mecânica (PAVM) [8]. No entanto, nem todos os estudos sobre uso de clorexidina mostraram uma redução na incidência de pneumonia [4, 12].

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar, *in vivo*, o potencial de redução da carga microbiana de um protocolo de descontaminação oral, com digluconato de clorexidina a 0, 12% juntamente com a desinfecção mecânica, em crianças internadas no Centro de Tratamento em Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP) do Hospital São Vicente de Paulo.

MATERIAIS E MÉTODOS

População e Amostra

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de estudo em Pesquisa Local (Protocolo 2.591.396). As coletas clínicas foram realizadas no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), no Centro de Tratamento e Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP), na cidade de Passo Fundo- RS. O HSVP é um hospital de grande porte do interior do RS, considerado referência em sua região e estado. Todas as crianças internadas na CTI do HSVP durante o período do estudo foram inicialmente participantes. Critérios de inclusão: pacientes entre 0 e 14 anos de idade e apenas pacientes que estavam internados em um período de 24h ou mais. Critérios de exclusão: pacientes sem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e também pacientes que possuíam a chance de desenvolver uma parada cardiorrespiratória

ao serem manipulados, mesmo com o consentimento dos responsáveis. Após os critérios sido respeitados e o TCLE assinado, um questionário foi aplicado aos pais/responsáveis pela criança.

Coleta de Dados

A avaliação do paciente e a coleta das amostras ocorreu no leito do setor do Centro de Tratamento de Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP) do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). Foram coletadas amostras de raspado lingual em crianças internadas, seguiu o fluxograma relatado (**Figura 1**).

Houve uma coleta inicial, anterior ao protocolo de descontaminação e outra após a execução do protocolo. As amostras foram avaliadas antes (Coleta Inicial) e após (Coleta Final) o protocolo de descontaminação oral de três dias (de 12h em 12h). Estas amostras foram coletadas durante as primeiras 24h da permanência na CTIP e às 72h.

Durante a implantação do protocolo de descontaminação oral nas crianças hospitalizadas, a descontaminação foi feita em toda a cavidade oral, ou seja, em todos os dentes (se havia dentição), tecidos moles orais, incluindo mucosa bucal, a gengiva, soalho da boca e língua. O protocolo envolveu a aplicação de uma esponja para higiene oral estéril embebida em digluconato de clorexidina 0.12% sem álcool em toda a área já citada. Quando havia dentição, foram usadas escovas de dente com cerdas apropriadas para a idade e dimensão da boca de cada criança (**Figura 2**). Após a descontaminação oral foi realizada a aspiração de fluido oral.

A amostragem foi realizada antes da rotina de cuidados bucais diários. Todas as etapas foram realizadas por um único investigador calibrado. Após as coletas, as amostras foram enviadas imediatamente ao laboratório para processamento.

Na CTI/ HSVP as amostras de raspado lingual foram coletadas com auxílio de um *swab* em cada criança do estudo. A área desse raspado foi definida com a utilização de aparato metálico com área correspondente à 2cm^2 , objetivando que cada coleta tenha a mesma extensão de área raspada (**Figura 2**). O swab foi removido com cuidado da cavidade bucal e sua ponta, cortada com uma tesoura íris estéril, foi colocada imediatamente em um eppendorf com $1000\mu\text{L}$ de VMGA (Viability Maintaining Microbiostatic Medium) III (transportador).

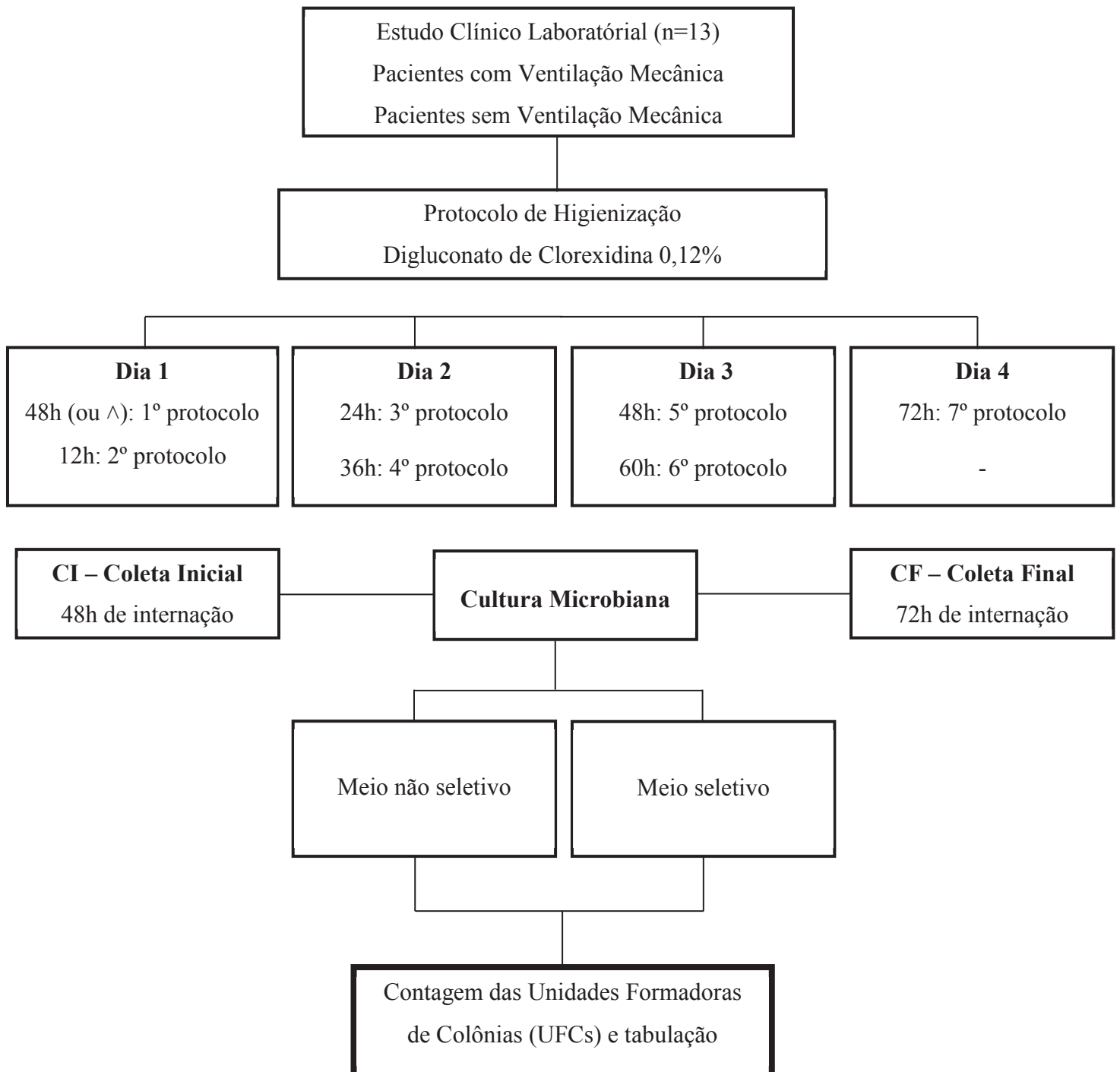


Figura 1. Fluxograma: Esquema da metodologia executada.



Figura 2. Sequência de coleta, in vivo: A) aparato metálico para definição da área coletada e swab; B) definição da área para coleta; C) coleta com swab; D) dente swab embebido em digluconato de clorexidina 0,12%; E) higiene da cavidade bucal com dente swab; F) higiene da cavidade bucal com escova dental.

Análise das amostras coletadas

Para a análise de normalidade, os dados obtidos foram submetidos ao teste de Shapiro

Wilk. Os dados diferiram de uma distribuição normal, sendo categorizados como anormais ($p=0.0082$).

As análises das amostras foram feitas na Faculdade de Passo Fundo (UPF) no laboratório de microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas, na cidade de Passo Fundo / RS. Para a análise das amostras foram utilizadas placas de Petri com meios de cultura para

que os microrganismos pudessem crescer e serem analisados. Para a análise das amostras iniciais, as placas que possuíam o esfregaço das crianças que não fazem uso de ventilação, foram analisadas todas as bactérias presentes, já as placas que possuíam o esfregaço das crianças que fazem uso da ventilação, foram analisadas todas as bactérias presentes e ainda foi feita a análise específica dos micro-organismos *Acinetobacter* spp, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Na análise das amostras finais, as placas foram analisadas da mesma forma, porém, com o intuito de se detectar uma redução nos micro-organismos tanto das crianças sem ventilação, quanto das crianças que possuíam ventilação. Durante o procedimento de análise clínica as amostras o avaliador foi cegado para que assim não ocorresse nenhum viés nos resultados.

Após a coleta das amostras de raspado lingual, foi feita a diluição da amostra. Para o plaqueamento que corresponde à coleta inicial que foram analisados todos os microrganismos encontrados na cavidade oral e a final que foi analisado a eficácia do protocolo, foram utilizadas placas de Petri quando cada placa continha meio não seletivo. Para identificação de bactérias mais frequentes na pneumonia nosocomial, foi realizado a plaqueamento em placas de Petri com meios específicos e restritos para o crescimento de tais micro-organismos.

Todas as placas foram incubadas a 37 °C até 14 dias, para permitir a detecção de micro-organismos anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos. Após a incubação, cada placa foi examinada e realizado então a contagem de unidades formadoras de colônias.

RESULTADOS

Análise Estatística

Os resultados da pesquisa refletem o período de julho/2018 a fevereiro/2019 na CTI/HSVP, assim como a aplicabilidade dos critérios de inclusão e exclusão ao estudo, desta forma foi alcançado um número de 13 sujeitos.

Os dados gerais e características clínicas dos pacientes na Unidade de Terapia Intensiva do HSVP estão expressos na **Tabela 1**. Apresentando um total de treze pacientes,

sete eram do sexo masculino (7/13) e seis do sexo feminino (6/13). Deste grupo, nove pacientes realizavam a sua primeira internação (9/13) e apenas quatro pacientes já haviam sido internados anteriormente (4/13). A grande maioria dos pacientes internados estava respirando com auxílio de ventilação mecânica (10/13), sendo somente três pacientes sem auxílio (3/13). Todos os pacientes estavam sob tratamento com a utilização de antibióticos sistêmicos (13/13). Com relação a presença de dentição, onze pacientes apresentavam pelo menos algum dente na cavidade bucal (11/13), e apenas dois não tinham nenhum dente irrompido (2/13).

Tabela 1. Características gerais da amostra, idade, sexo e dados clínicos dos pacientes internados (n=13) HSVP, Passo Fundo, RS, 2019.

VARIÁVEL	AMOSTRAS	
Idade	Média (desvio padrão): 5,67 (3,70)	
	Frequência (%)	
Sexo	Masculino	7 (53,84%)
	Feminino	6 (46,15%)
Primeira Internação	Sim	9 (69,23%)
	Não	4 (30,76%)
Ventilação Mecânica	Sim	10 (76,92%)
	Não	3 (23,07%)
Antibioticoterapia	Sim	13 (100,00%)
	Não	0 (0,00%)
Dentição presente	Sim	11 (84,61%)
	Não	2 (15,38%)

Análise Estatística das Quantificações de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

Após análise exploratória dos dados de UFC em diferentes meios de cultura bacteriana, os mesmos foram analisados pelo teste não paramétrico de Friedman para comparação entre os momentos das coletas. Na **Tabela 2**, observa-se que houve diminuição significativa de UFCs contabilizadas no meio Mannitol Salt Agar entre os períodos das coletas ($p < 0,05$). Em contrapartida, nos meios de cultura Fastidious Anaerobe

Agar, Cetrimide Agar e MacConkey Agar a contabilização de UFCs entre os momentos das coletas não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$).

Tabela 02. Mediana (valor mínimo e máximo) das unidades formadoras de colônia (UFC) em função do meio de cultura e tempo, cultura microbiana (n=13) HSVP, Passo Fundo, RS, 2019.

Cultura Microbiana	Coletas do Raspado Lingual		p valor
	Coleta Inicial	Coleta Final	
Fastidious Anaerobe Ágar*	196,000 (1,200 – 1,568,000) A	22,000 (1,200 – 77,000) A	0,7815
Cetrimide Agar**	0,00 (0,00 – 66,000) A	0,00 (0,00 – 89,000) A	0,1655
Mannitol Salt Agar***	2,600 (0,00 – 105,200) A	0,00 (0,00 – 22,800) B	0,0265
MacConkey Agar****	10,000 (0,00 – 616,000) A	3,000 (0,00 – 26,000) A	0,1655

Medianas seguidas letras distintas na horizontal diferem entre si ($p\leq 0,05$).

* Meio de cultura não seletivo para todos microrganismos

** Meio utilizado para *Pseudomonas aeruginosa*

***Meio utilizado para *Staphylococcus aureus*

****Meio utilizado para *Acinetobacter* spp

DISCUSSÃO

O presente estudo procurou avaliar, o poder de descontaminação oral do digluconato de clorexidina a 0,12% em crianças internadas na CTIP do HSVP. Levando em consideração que estes patógenos respiratórios, quando encontrados na cavidade bucal, são os mesmos patógenos presentes na orofaringe de pacientes acometidos pela Pneumonia Associada a Ventilação Mecânica (PAVM), podemos destacar a importância de

um protocolo de higiene seguro e eficaz. Como a PAVM é uma das complicações mais comuns adquiridas por pacientes em CTIs, com a implementação de um protocolo simples de higiene oral, como abordagem preventiva, é possível promovermos uma significativa melhora no quadro clínico desses pacientes [13, 14, 5, 15].

Em nosso estudo, o protocolo elegido não se mostrou estatisticamente efetivo na redução da carga microbiana total ($p>0,05$). Esses resultados colaboram com os encontrados em estudos anteriores que utilizaram o digluconato em diferentes concentrações, resultando numa baixa da redução da carga microbiana, no entanto não estatisticamente significante. Sabastian *et al.*, 2012 [12], concluíram que, o gel de clorexidina a 1% não conseguiu demonstrar qualquer redução significativa nas taxas de PAVM em crianças internadas na UTI. Villar e colaboradores em 2016 [16], concluíram que nas concentrações mais baixas testadas (0,12 e 0,2%), a clorexidina não conseguiu prevenir o desenvolvimento de PAVM, porém, o efeito protetor da clorexidina só foi alcançado quando sua frequência de uso foi aumentada para 4 vezes numa porcentagem de 2%. Mesmo sendo um pequeno número de ensaios que testaram a segurança e eficácia da clorexidina 4 vezes ao dia a 2%, este estudo nos apresenta a hipótese de que pode haver uma significativa relação quanto a porcentagem e o número de vezes ao dia que a clorexidina é usada para tal finalidade. Podendo assim, hipoteticamente, justificar a ausência de redução estatisticamente significante da microbiota total entre as nossas duas etapas de coletas.

Em um estudo semelhante ao nosso, com digluconato de clorexidina a 0,12% em população infantil, os resultados estatísticos foram similares. Kusahara *et al.*, 2012 [11], demonstraram que a intervenção de cuidados bucais na amostra de crianças sob cuidados intensivos não reduziu significativamente a presença de micro-organismos nas culturas analisadas.

Em um estudo recente, porém em adultos e utilizando a clorexidina na sua forma em gel, Vidal *et al.*, 2016 [10], demonstraram que o uso de escovação dentária associada a clorexidina gel 0,12% não promoveu diferença estatisticamente significante. Em contra partida, Piau *et al.*, 2016 [5], nos apontam uma redução estatisticamente significativa da presença de bactérias patogênicas, utilizando a mesma porcentagem que utilizamos em nosso estudo em crianças avaliadas em dois diferentes grupos, sendo o Grupo 1 (G1)

crianças internadas na UTIP e o Grupo 1 (G2) crianças não hospitalizadas e saudáveis. Com este estudo, puderam concluir que o número de crianças positivas para bactérias patogênicas, as internadas na UTIP, diminuiu significativamente após a implementação do protocolo de higiene oral e conseqüentemente a taxa de colonização bacteriana destas crianças diminuiu após as medidas de higiene bucal e tornaram-se semelhantes à das crianças saudáveis.

As espécies Gram-negativas que são particularmente resistentes aos agentes biocidas, como por exemplo, a clorexidina, incluem a *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. Em nosso estudo, o protocolo elegido não se mostrou estatisticamente efetivo na redução destes micro-organismos, *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* ($p>0,05$). Acreditamos que a manutenção destes microrganismos na cavidade oral possivelmente seja decorrentes de suas características estruturais e a sua possível capacidade elevada de formação de biofilmes. Em concordância ao presente estudo, alguns trabalhos têm mostrado que a dificuldade de eliminação de tais espécies pode ser decorrente de seus perfis resistentes a antibióticos e da mesma forma a anti-sépticos [17, 3].

Sands *et al.*, 2016 [14], citaram, através do uso de tecnologia baseadas em DNA, a *Pseudomonas aeruginosa* como sendo um colonizador rápido em meio nutricional e podendo efetivamente superar o crescimento de outras espécies microbianas, talvez apresentando-se como uma espécie predominante neste cenário. Assim, podemos explicar a grande dificuldade de eliminarmos esses patógenos respiratórios Gram-negativos em nosso estudo, sendo que todos os pacientes que constituíram nossas amostras faziam uso de antibioticoterapia (13/100%). Estes micro-organismos identificados em nossas amostras são resistentes a antibióticos múltiplos, proporcionando possível influência no efeito da clorexidina.

Em nosso estudo, ao se tratar do micro-organismo *Staphylococcus aureus* houve uma redução estatisticamente significativa ($p<0,05$). Este achado colabora com o estudo de Scannapieco *et al.*, 2009 [4], onde seus resultados se mostraram bastante similares aos nossos. O digluconato de clorexidina tópica oral, reduziu o número de *Staphylococcus aureus* viáveis na placa dentária de pacientes que possuíam ventilação mecânica- UTI. No entanto neste estudo, a clorexidina não diminuiu o número de total ou a proporção de outros

patógenos respiratórios, *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*, na placa dentária. Isso nos faz acreditar que o microrganismo *Staphylococcus aureus* é vulnerável a desinfecção por clorexidina diferente dos outros patógenos respiratórios estudados por nós.

Foi possível observar clinicamente em nosso estudo que a saúde bucal é diretamente afetada pela doença crítica da infância. Ullman *et al.*, 2011 [13], Puderam constatar que metade das crianças criticamente doentes apresentam disfunção oral manifestadas de inúmeras maneiras, são elas: desenvolvimento de úlceras, placa dentária, cavidades, lábios rachados, diminuição do fluxo salivar ou inflamação e infecção generalizada. Todas essas alterações provocam uma alteração das defesas imunológicas na cavidade oral facilitando a adesão de organismos patogênicos. Isto nos leva a entender o motivo de crianças que estão em estado crítico, internas na CTIP, serem altamente acometidas por patógenos respiratórios. Todas estas disfunções citas são vistas como um meio oportuno para estes micro-organismos se fixarem.

Pacientes hospitalizados, internados em UTIs, sendo eles adultos ou pediátricos, são uma preocupação de saúde pública por conta dos altos custos de cuidados e o aumento de morbidade e mortalidade. Um achado importante em nosso estudo foi o alto índice de pacientes que necessitam da ventilação mecânica quando internados na CTIP (76,92%). Uma vez que, a grande maioria dos internados vai fazer o uso da ventilação mecânica, podemos fazer uma relação ao alto índice de pacientes que desenvolvem a PAVM, e conseqüentemente o aumento dos custos, da morbidade e mortalidade desta população. Outro dado importante que podemos constatar com nosso estudo, é que 69,23% dos pacientes coletados, estavam na sua primeira internação na CTIP, ou seja, 30,76% nos pacientes coletados, já haviam sido internados outras vezes na CTIP, aumentando assim suas chances de desenvolver a PAVM.

Alterações microbianas ocorrem na placa dentária de pacientes sob ventilação mecânica e incluem a colonização por patógenos respiratórios, sendo a presença destes patógenos na placa dental um fator de risco para a PAVM [17]. Em nosso estudo, 84,61% dos pacientes apresentavam dentição, os tornando assim mais susceptíveis a placa dentária e conseqüentemente a PAVM. Por este motivo, é importante salientar a importância de manter uma reforçada higiene bucal durante a ventilação mecânica,

podendo assim, limitar o reservatório de patógenos respiratórios dentro da placa dentária destes pacientes.

Embora o tamanho de nossas amostras não tenha sido suficientemente grande para uma redução estatisticamente significativa na incidência de PAVM em nossos pacientes, houve uma forte tendência para menos casos de PAVM clinicamente. Acreditamos que seja aceitável a hipótese de que com a melhora da saúde bucal possamos diminuir a prevalência de colonização orofaríngea por patógenos respiratórios e, assim, possamos reduzir o risco de PAVM.

Embora as técnicas de cultura microbiana sejam consideradas padrão ouro para avaliação de protocolos de descontaminação oral, há o conhecimento que para avaliação de culturas positivas, há a necessidade de um grande número de células bacterianas viáveis. Logo, com o objetivo de aperfeiçoar técnicas de cultura, a metodologia molecular tem apresentado eficácia no reconhecimento de patógenos relacionados a diferentes doenças orais. Sendo assim, é extremamente significativa a relevância da associação de tais técnicas a fim de colaborar e até mesmo esclarecer os resultados obtidos com o presente estudo. Além disso, nosso estudo apresentou uma variabilidade extensa entre os dados obtidos. Assim, é importante a realização de maior número de coletas clínicas a fim de estabelecer uma representabilidade maior à situação clínica encontrada. Para tanto, é necessário o desenvolvimento de mais estudos com um número maior de amostras.

CONCLUSÃO

Concluimos que o protocolo de descontaminação oral com digluconato de clorexidina 0,12% em pacientes pediátricos internados em CTIP mostrou efetividade contra o microrganismo *Staphylococcus aureus*, contudo, ao se tratar dos microrganismos *Acinetobacter* spp e *Pseudomonas aeruginosa*, este protocolo não garante uma efetiva redução microbiana, denotando a necessidade de mais estudos clínicos.

REFERÊNCIAS

1. Mattewvi GS, Figueiredo DR, Patrício ZM, Rath IBS (2011) A Participação do Cirurgião-Dentista em Equipe de Saúde Multidisciplinar na Atenção à

- Saúde da Criança no Contexto Hospitalar. *Ciência & Saúde Coletiva* 16:4229-4236
2. Munro LC, Grap MJ (2006) Oral Health and Care in the Intensive Care unit: state of the Science. *American Journal of Critical Care* 13:25-34.
 3. Scannapieco FA, Yu J, Raghavendran K, Vacanti A, Owens SI, Wood K, Mylotte JM (2009) A randomized trial of chlorhexidine gluconate on oral bacterial pathogens in mechanically ventilated patients. *Crit Care* 13: R117.
 4. Piau CGBC, Azevedo TDPL, Miranda AF, Pinheiro JAP, Bezerra ACB (2016) Oral Microbial Colonization in Pediatric Intensive Care Unit Patients. *Journal of Dentistry for Children* 83:2.
 5. Morais TMN, Silva A, Avis ALRO, Sauza PHR, Knoel E, Camargo LFA (2006) A Importância da Atuação Odontológica em Pacientes Internados em Unidade de Terapia Intensiva. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva* 18:412-417.
 6. Scannapieco FA (1999) Role of oral bacteria in respiratory infection. *J Periodontol* 70: 793-002.
 7. Oliveira LCB, Carneiro PPM, Fischer RG, Tinoco EMB (2007) Presence of Respiratory Pathogens in the Oral Biofilm of Patients with Nosocomial Pneumonia. *Revista Brasileira de Terapia Intensiv* 19:4.
 8. Nicolosi LN, Del CRM, Martinez CD, Gonzalez NN, Cruz ME (2014) Effect of oral hygiene and 0.12% chlorhexidine gluconate oral rinse in preventing ventilator-associated pneumonia after cardiovascular surgery. *Respir Care* 59: 504-509.
 9. Berry AM, Davidson PM, Masters J, Rolls K, Ollerton R (2011) Effects of three approaches to standardized oral hygiene to reduce bacterial colonization and ventilator associated pneumonia in mechanically ventilated patients: A randomised control trial. *International Journal of Nursing Studies* 48:681–688.
 10. Vidal CFL, Vidal AKL, Monteiro JR JGM, Cavalcanti A, Henriques APC, Oliveira M, Godoy M *et al.* (2017) Impact of oral hygiene involving toothbrushing versus chlorhexidine in the prevention of ventilator-associated pneumonia: a randomized study. *BMC Infectious Diseases* 17: 2-9.

11. Kusahara DM, Friedlander LT, Peterlini MAS, Pedreira MLG (2012) Oral care and oropharyngeal and tracheal colonization by Gram-negative pathogens in children. *Nursing in Critical Care* 17: 115-122.
12. Sebastian M, Lodha R, Kapil A, Kabra S (2012) Oral mucosal decontamination with chlorhexidine for the prevention of ventilator-associated pneumonia in children -A randomized, controlled trial. *Pediatric Critical Care Medicine* 13: 305-310.
13. Ullman A, Long D, Lewis P (2011) The oral health of critically ill children: an observational cohort study. *Journal of Clinical Nursing* 20: 3070–3080.
14. Sands KM, Twigg JA, Lewis MAO, Wise MP, Marchesi JR, Smith A, Wilson M *et al.* (2016) Microbial profiling of dental plaque from mechanically ventilated patients. *Journal of Medical Microbiology* 65:147-159.
15. Pharm JO, Raybaud E, Chabanne R, Cosserant B, Faure JS, Guérin R, Calvet L *et al.* (2017) Comparative study of 2 oral care protocols in intensive care units. *American Journal of Infection Control*, 45: 245-250.
16. Villar CC, Pannuti CM, Nery DM, Morillo CM, Carmona MJ, Romito GA (2016) Effectiveness of Intraoral Chlorhexidine Protocols in the Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia: Meta-Analysis and Systematic Review. *Respir Care* 61:1245-59.
17. Sands KM, Wilson MJ, Lewis MAO, Wise MP, Palmer N, Hayes AJ, Barnes RA *et al.* (2017) Respiratory pathogen colonization of dental plaque, the lower airways, and endotracheal tube biofilms during mechanical ventilation. *Journal of Critical Care* 37:30-37.

