

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ATENÇÃO INTERDISCIPLINAR EM SAÚDE

FERNANDA COUTO MILÉO

AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DA MICROBIOTA BUCAL DE PACIENTES
INTERNADOS EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

PONTA GROSSA

2019

FERNANDA COUTO MILÉO

AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DA MICROBIOTA BUCAL DE PACIENTES
INTERNADOS EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

Dissertação apresentada no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde para a obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área Interdisciplinar em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Shelon Cristina Souza Bandeca

Co-orientador: Prof. Dr. Luis Antônio Esmerino

PONTA GROSSA

2019

M642 Miléo, Fernanda Couto
Avaliação da alteração da microbiota bucal de pacientes internados em unidade de terapia intensiva / Fernanda Couto Miléo. Ponta Grossa, 2019. 145 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Atenção Interdisciplinar em Saúde), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Shelon Cristina Souza Bandeca.
Coorientador: Prof. Dr. Luís Antônio Esmerino.

1. Biofilmes. 2. Pneumonia. 3. Ventilação mecânica. 4. Terapia intensiva. I. Bandeca, Shelon Cristina Souza. II. Esmerino, Luís Antônio. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Atenção Interdisciplinar em Saúde. IV.T.

CDD: 616.2

FERNANDA COUTO MILÉO

AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DA MICROBIOTA BUCAL DE PACIENTES
INTERNADOS EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

Dissertação apresentada no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde para a obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área Interdisciplinar em Ciências da Saúde.

Ponta Grossa, 12 de julho de 2019.



Profa. Dra. Shelon Cristina Souza Bandeca – Orientadora
Doutora em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Filho
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Profa. Dra. Telma Blanca Lombardo Bedran – Membro titular 1
Doutora em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Filho
Pontifícia Universidade Católica do Paraná



Prof. Dr. Rafael Bertoni da Silveira – Membro titular 2
Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de São Paulo
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Dedico este trabalho a minha amada e eterna, vó Gu.
Te amo para sempre!

AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta dissertação de Mestrado, não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que me auxiliaram ao longo de todo o processo de realização desta pesquisa e foram peças essenciais para a concretização de mais esse sonho.

Agradeço...

... a Deus, em primeiro lugar, que permitiu realizar e concretizar mais uma fase na minha vida.

... ao meu noivo Adriano, por estar sempre presente, me apoiando e me incentivando, sendo meu companheiro de todas as horas. Amo muito você, meu grande amor!

... aos meus bichinhos, filhos do coração que Deus nos dá a oportunidade de conviver, amar e ser amada!

... à UEPG, instituição que tanto admiro, por me receber mais uma vez “em sua casa” e me ceder espaço e recursos para poder realizar este tão sonhado trabalho.

... à CAPES, o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

... ao Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais e aos pacientes que atendi, que me oportunizaram esta experiência inigualável, permitindo expandir meus conhecimentos e principalmente minha humanidade.

... a todos professores que contribuíram para que esta pesquisa pudesse ser realizada:

... à minha orientadora Professora Shelon e ao meu co-orientador Professor Esmerino, pela atenção, oportunidade e compreensão a mim dedicadas ao longo da evolução do projeto.

... ao Professor Fábio André e ao Professor Ricardo, que sempre se mostraram dispostos a me auxiliar e me repassar seus conselhos e saberes.

... ao Professor Rafael e a Professora Telma, que fizeram parte da minha banca de qualificação e só somaram conhecimento e melhorias nesse projeto.

... aos acadêmicos Bruno e Bárbara, pela disposição e ajuda na pesquisa.

... à Jana, por sempre me ajudar (e quanta ajuda!), uma pessoa sempre querida e solícita.

... à minha grande e querida amiga Camila, que é uma pessoa que sei que sempre posso contar. Espero que ela saiba que é recíproco!

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

Sou muito grata a cada um de vocês pelo carinho, atenção, respeito e dedicação prestados!

Sem vocês esse trabalho não seria possível!

Muito Obrigada!

“A humildade é o primeiro degrau para a sabedoria.”

São Tomás de Aquino

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.”

John Ruskin

DADOS CURRICULARES

Fernanda Couto Miléo

NASCIMENTO 31.07.1991	Ponta Grossa /PR
FILIAÇÃO	Geraldo Vergílio Miléo Emília Couto dos Santos Miléo
2010 – 2014	Curso de Graduação Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa/PR
2015 – 2017	Residência Multiprofissional em Saúde do Idoso – Hospital Universitário dos Campos Gerais (HURCG); nível de Especialização – Área de Concentração em Odontologia – Ponta Grossa/PR
2017 – 2019	Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde – Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG); nível de Mestrado em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Atenção Interdisciplinar em Saúde – Ponta Grossa/PR

RESUMO

MILEO, F. C. **Avaliação da alteração da microbiota bucal de pacientes internados em unidade de terapia intensiva.** [Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde com ênfase na área Interdisciplinar]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2019.

Na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), a microbiota bucal dos pacientes em uso de intubação orotraqueal (IOT) pode sofrer alterações e acarretar na presença de microrganismos antes incomuns, surgirem e causarem a Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV). Por essa razão, o estudo tem como objetivos: avaliar a presença de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus spp.* na cavidade bucal dos pacientes com IOT internados na UTI do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais em três momentos: inicial – 0 hora, 48 horas e 96 horas do internamento e relacioná-los com o diagnóstico de PAV, além de comparar dentados com desdentados, realizar a análise semi-quantitativa dos quatro meios utilizados e compará-los entre si; avaliar a resistência dos microrganismos através de antibiogramas; e associar a presença destes com o percentual de alta e mortalidade. A pesquisa é caracterizada como um estudo observacional, prospectivo e longitudinal, realizada com amostra de 20 pacientes, dividida em dois grupos: desdentados e dentados, em uso de IOT na UTI. O material biológico foi coletado em dorso de língua com escova citológica estéril, e seguidamente semeado em meio de cultura seletivo: meio Bile esculina com azida para *Enterococcus spp.*, meio Cetrimide para *Pseudomonas aeruginosa*, meio Manitol sal para *Staphylococcus aureus* e meio MacConkey para *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Decorrido 48 horas em estufa, os meios foram avaliados macroscopicamente, através da análise semi-quantitativa, e os morfotipos coloniais que cresceram foram armazenados, descritos e enumerados, para então ser realizados os testes bioquímicos específicos e confirmar as espécies bacterianas. Para os microrganismos com crescimento em meio Bile esculina foram realizados os testes de catalase e NaCl 6,5%; para os que tiveram crescimento em meio Cetrimide os testes foram da motilidade, oxidase, caldo BHI e gelatina; microrganismos que cresceram em meio Manitol sal foram testados com gram, catalase, oxidase, Dnase e MRVP; e aos que cresceram em meio MacConkey os testes elegidos foram EPM, lisina, MIO, citrato *Simmons* e Rhamnose. Após serem identificados, foram feitos os testes de sensibilidades aos antimicrobianos. Os resultados encontrados demonstram que não há diferença significativa entre os três tempos de coleta para cada um dos meios utilizados e para a resistência bacteriana nos diferentes tempos quando avaliados todos os microrganismos conjuntamente. Entretanto, o trabalho verificou diferença significativa na comparação entre a microbiota de pacientes dentados e desdentados no tempo de 96 horas, entre o escore de crescimento bacteriano nos diferentes meios e também que existe uma associação significativa entre a presença de bactérias e a taxa de óbitos dos pacientes intubados da UTI. Perante os dados obtidos, pode-se concluir que é de suma importância a inserção do cirurgião-dentista na equipe interdisciplinar das unidades hospitalares, principalmente da UTI, para reduzir as taxas de mortalidade associada com a presença de bactérias patogênicas na cavidade bucal.

Palavras-chave: Biofilmes. Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica. Unidades de Terapia Intensiva.

ABSTRACT

MILEO, F.C. **Evaluation of the oral microbiota alteration of patients admitted to an intensive care unit.** [Master's Dissertation in Health Sciences with emphasis in the Interdisciplinary area]. Ponta Grossa: State University of Ponta Grossa, 2019.

In the Intensive Care Unit (ICU), the oral microbiota of patients using orotracheal intubation (OTI) can undergo changes and result in the presence of previously uncommon microorganisms, which may arise and cause Pneumonia Associated with Mechanical Ventilation (VAP). For this reason, the study aims to: evaluate the presence of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus spp.* in the oral cavity of patients with OTI admitted to the ICU of the Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais in three moments: initial - 0 hour, 48 hours and 96 hours of hospitalization and relate them to the diagnosis of VAP, in addition to comparing teeth with toothless, perform the semi-quantitative analysis of the four media used and compare them with each other; evaluate the resistance of microorganisms through antibiograms; and associate their presence with the percentage of discharge and mortality. The research is characterized as an observational, prospective and longitudinal study, conducted with a sample of 20 patients, divided into two groups: toothless and toothed, using IOT in the ICU. The biological material was collected on the back of the tongue with a sterile cytological brush, and then sown in selective culture medium: Bile esculin medium with azide for *Enterococcus spp.*, Cetrimide medium for *Pseudomonas aeruginosa*, Mannitol salt for *Staphylococcus aureus* and MacConkey medium for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. After 48 hours in the greenhouse, the media were evaluated macroscopically, through semi-quantitative analysis, and the colonial morphotypes that grew up were stored, described and listed, so that specific biochemical tests could be carried out and the bacterial species confirmed. For microorganisms growing in Bile esculin medium, catalase and 6.5% NaCl tests were performed; for those who grew in Cetrimide, the tests were for motility, oxidase, BHI broth and gelatin; microorganisms that grew in mannitol salt medium were tested with gram, catalase, oxidase, Dnase and MRVP; and those grown in MacConkey medium, the chosen tests were EPM, lysine, MIO, Simmons citrate and Rhamnose. After being identified, antimicrobial sensitivity tests were performed. The results found demonstrate that there is no significant difference between the three collection times for each of the media used and for bacterial resistance at different times when all microorganisms were evaluated together. However, the study found a significant difference in the comparison between the microbiota of toothed and toothless patients over 96 hours, between the bacterial growth score in different media and also that there is a significant association between the presence of bacteria and the death rate of the patients. intubated ICU patients. In view of the data obtained, it can be concluded that the insertion of the dental surgeon in the interdisciplinary team of the hospital units, especially the ICU, is of utmost importance to reduce the mortality rates associated with the presence of pathogenic bacteria in the oral cavity.

Keywords: Biofilms. Pneumonia, Ventilator-Associated. Intensive Care Units.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma dos métodos empregados para realização da pesquisa. ..55	55
Figura 2 - Realização da coleta de saliva em dorso de língua de pacientes internados em UTI do HURCG.....60	60
Figura 3 - Higienização bucal dos pacientes internados em UTI do HURCG.....60	60
Figura 4 - Tubo sendo agitado em Vórtex por 60 segundos.....61	61
Figura 5 - Introdução da ponta de pipeta no interior do tubo para coleta de 100 µL da solução.62	62
Figura 6 - Dispensação da solução no meio.....62	62
Figura 7 - Semeadura utilizando a técnica da placa cheia com auxílio de <i>swab</i> estéril.63	63
Figura 8 - Meio em amarelo: Bile esculina com azida, Meio branco: Cetrimide, Meio rosa: Manitol sal, Meio roxo: MacConkey.....64	64
Figura 9 - Seleção e coleta de colônia para armazenamento.....65	65
Figura 10 - Inoculação da colônia bacteriana em meio BHI com auxílio de alça de platina.65	65
Figura 11 - Imagem A meio claro; Imagem B meio negro causado pelo crescimento de <i>Enterococcus spp</i>66	66
Figura 12 - Teste da Catalase.67	67
Figura 13 - Teste do MTS: tubo roxo representando resultado negativo e tubo amarelo representando resultado positivo.....68	68

Figura 14 - Imagem A: colônias brancas. Imagem B: meio Cetrimide colonizado por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	69
Figura 15 - Teste da oxidase mostrando o primeiro resultado à esquerda sendo positivo e os demais negativos.	70
Figura 16 - Tubos com turvação do meio mostrando resultados positivos para o teste.	71
Figura 17 - Teste da gelatina que mostra na imagem a esquerda resultado negativo e a direita resultado positivo.	72
Figura 18 - Imagem A: meio rosa com microrganismos claros; Imagem B: o meio se tornou amarelo pela presença de <i>Staphylococcus aureus</i>	73
Figura 19 - Dnase com três resultados negativos e um resultado positivo (halo) para <i>Staphylococcus aureus</i>	75
Figura 20 - Teste do MRVP: esquerda mostra resultado negativo e direita mostra resultado positivo.	76
Figura 21 - A imagem mostra placas de Petri com colônias rosadas, primeiro sinal sugestivo de colônia de <i>Escherichia coli</i>	79
Figura 22 - Diferentes resultados do Teste do EPM.	80
Figura 23 - Teste da Lisina: tubo da esquerda com resultado positivo (roxo) e tubo da direita com resultado negativo (amarelo).	81
Figura 24 - Teste meio MIO.	82
Figura 25 - Teste Citrato <i>Simmons</i>	83

Figura 26 - Teste da Rhamnose.84

Figura 27 - Antibiograma mostrando os diferentes tamanhos de halos
formados conforme os diferentes antimicrobianos utilizados.86

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 –** Cálculo amostral. Comparação entre os grupos Dentados e Desdentados utilizando o teste *t student* bicaudal para médias independentes. N=20/por grupo (Amostral total: n=40).....57
- Gráfico 2 –** Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa considerando os diferentes meios nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.....89
- Gráfico 3 –** Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa considerando os diferentes meios nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.....90
- Gráfico 4 –** Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias que cresceram no meio Bile esculina com azida (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.....91
- Gráfico 5 –** Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias que cresceram no meio Cetrimide (0. ausência; 1.

raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.....92

Gráfico 6 – Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias que cresceram no meio Manitol sal (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.....93

Gráfico 7 – Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias que cresceram no meio MacConkey (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.....94

Gráfico 8 – Média e erro padrão dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) obtidos com diferentes meios de cultura de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação orotraqueal. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os meios em cada tempo experimental ($p<0,05$ teste de *Friedman* com pós-teste de *Dunn*).95

Gráfico 9 – Comparação das taxas de resistência observada para todas as bactérias isoladas nos diferentes tempos.100

Gráfico 10 – Percentual de pacientes que tiveram alta ou óbito de acordo com a ausência ou presença de bactérias cavidade bucal durante o período de intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva. *Associação significativa ($p=0,044$, teste Exato de Fisher).101

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Interpretação do meio EPM	79
Quadro 2 – Análise do percentual de amostras positivas para <i>Enterococcus</i> sp. ..	96
Quadro 3 – Análise de amostras positivas para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	96
Quadro 4 – Análise de amostras positivas para <i>Staphylococcus aureus</i>	96
Quadro 5 – Análise de amostras positivas para <i>Escherichia coli</i>	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Identificação das Enterobactérias	78
Tabela 2 –	Escore para análise semi-quantitativa do crescimento de colônias bacterianas.....	85
Tabela 3 –	Sequência dos antimicrobianos utilizados para microrganismo selecionado.	86
Tabela 4 –	Taxa de resistência antimicrobiana para <i>Enterobacteriaceae</i> conforme tempo de hospitalização.....	97
Tabela 5 –	Taxas de resistência antimicrobiana para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> conforme tempo de hospitalização.	98
Tabela 6 –	Taxas de resistência antimicrobiana para <i>Staphylococcus aureus</i> conforme o tempo de hospitalização.....	98
Tabela 7 –	Taxas de resistência antimicrobiana para <i>Enterococcus sp.</i> conforme o tempo de hospitalização.....	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
Rrna	Ácido ribonucleico ribossômico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
α -naftol	Alfa-naftol
AMP	Ampicilina
a.C	Antes de Cristo
BNF	Bacilo não-fermentador
MDR	Bactérias multirresistentes
Bactérias/ml	Bactérias por mililitro
ESBL	Beta-lactamase de amplo espectro
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CFL	Cefalotina
CFZ	Cefazolina
CFO	Cefoxitina
CAZ	Ceftazidima
Células/mm ³	Células por milímetro cúbico
CLI	Clindamicina
CTR	Clotrimazol
COEP	Comissão de Ética em Pesquisa
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
ERI	Eritromicina
EPM	Escola Paulista de Medicina
<i>sp.</i>	Espécie
<i>spp.</i>	Espécies
Ex	Exemplo
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
GEN	Gentamicina
HURCG	Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais
Ig	Imunoglobulina
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G

IgM	Imunoglobulina M
IH	Infecção hospitalar
IL	Interleucina
I	Intermediário
IOT	Intubação orotraqueal
IRAS	Infecção relacionada à assistência a saúde
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase
LVX	Levofloxacina
LNZ	Linezolida
LPS	Lipopolissacarídeo
PYR	Pirrolidonil arilamidase
PAV	Pneumonia associada à ventilação mecânica
AGES	Produtos da glicação avançada
MTS	Meio tolerante ao sal
MRVP	<i>Methyl Red, Voges-Proskauer</i>
M	Mol/litro
MIO	Motilidade Indol Ornitina
NUCIH	Núcleo de controle de infecção hospitalar
PEN	Penicilina
PPT	Piperacilina-tazobactam
R	Resistente
S	Sensível
GSUS	Sistema de Gestão da Assistência de Saúde do SUS
PBS	Solução salina tamponada
MRSA	<i>Staphylococcus Aureus</i> Resistente à Meticilina
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TOB	Tobramicina
UTI	Unidade de terapia intensiva
UFC	Unidades formadoras de colônia
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
VAN	Vancomicina
VM	Ventilação mecânica
VNI	Ventilação não invasiva

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
ml	Mililitro
°C	Grau Celsius
pH	Potencial Hidrogeniônico
nº	Número
mm ³	Milímetro cúbico
NaCl	Cloreto de Sódio
XIX	Século 19
N	Número amostral
Mm	Milímetro
µL	Micro litro
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
KOH	Hidróxido de potássio
H ₂ S	Sulfeto de hidrogênio
P	Probabilidade de significância
H	Horas
>	Maior que
<	Menor que
+	Positivo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 REVISÃO DE LITERATURA	28
2.1 MICROBIOTA RESIDENTE DA CAVIDADE BUCAL	28
2.2 ALTERAÇÕES QUE PODEM OCORRER NA MICROBIOTA BUCAL DE PACIENTES COM ALTERAÇÕES SISTÊMICAS	30
2.2.1 Doença cardiovascular	31
2.2.2 Diabetes Mellitus	32
2.2.3 Endocardite infecciosa	33
2.2.4 Infecções do trato respiratório	33
2.3 RESPOSTA IMUNOLÓGICA DE PACIENTES INTERNADOS	34
2.4 PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA	37
2.5 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS NA PAV	43
2.5.1 <i>Enterococcus spp.</i>	43
2.5.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
2.5.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	47
2.5.4 <i>Enterobacteriaceae</i>	48
2.5.4.1 <i>Escherichia coli</i>	49
2.5.4.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	49
2.6 A ODONTOLOGIA E A EQUIPE INTERDISCIPLINAR	51
3 OBJETIVOS	54
3.1 OBJETIVO GERAL	54
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	54
4 MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1 FLUXOGRAMA	55
4.2 CÁLCULO AMOSTRAL	56
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E DE EXCLUSÃO DOS PACIENTES SELECIONADOS	58
4.4 SELEÇÃO DAS ESPÉCIES BACTERIANAS	58

4.5 COLETA DE AMOSTRAS DE SALIVA.....	58
4.6 SEMEADURA DAS AMOSTRAS EM LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA	61
4.7 SELEÇÃO DOS MEIOS DE CRESCIMENTO BACTERIANO.....	63
4.8 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS MORFOTIPOS COLONIAIS.....	64
4.9 TESTES BIOQUÍMICOS PARA IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS	66
4.9.1 Testes bioquímicos para a identificação de <i>Enterococcus spp.</i>	66
4.9.1.1 Teste da Catalase	67
4.9.1.2 Teste MTS.....	67
4.9.2 Testes bioquímicos para a identificação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	68
4.9.2.1 Teste da Motilidade	69
4.9.2.2 Teste da Oxidase	69
4.9.2.3 Teste do Caldo BHI	70
4.9.2.4 Teste da Gelatina	71
4.9.3 Testes bioquímicos para a identificação de <i>Staphylococcus aureus</i>	72
4.9.3.1 Coloração de Gram	73
4.9.3.2 Teste da Catalase	73
4.9.3.3 Teste da Dnase	74
4.9.3.4 Teste MRVP	75
4.9.4 Testes bioquímicos para a identificação de Enterobacterias: <i>Escherichia coli</i> e <i>Klebsiella pneumoniae</i>	76
4.9.4.1 Teste da Lactose	78
4.9.4.2 Teste EPM modificado	79
4.9.4.3 Teste do caldo Lisina.....	80
4.9.4.4 Teste do meio MIO	81
4.9.4.5 Teste do Citrato de Simmons	83
4.9.4.6 Teste Rhamnose	84
4.10 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA DO CRESCIMENTO BACTERIANO	84
4.11 TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	85
4.12 PARÂMETROS CLÍNICOS	87
4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA	87
5 RESULTADOS.....	88

5.1 COMPARAÇÃO DE CRESCIMENTO BACTERIANO ENTRE PACIENTES DENTADOS E DESDENTADOS.....	88
5.2 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA EM RELAÇÃO AOS TEMPOS DE COLETA PARA CADA MEIO ANALISADO.....	89
5.3 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA DO CRESCIMENTO BACTERIANO COMPARANDO ENTRE OS MEIOS UTILIZADOS	94
5.4 PRESENÇA DOS MICRORGANISMOS AVALIADOS NOS TRÊS TEMPOS DE COLETA.....	95
5.5 ANÁLISE DA SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA BACTERIANA	97
5.6 PARÂMETROS CLÍNICOS	100
5.6.1 Associação da presença das bactérias avaliadas com a presença de diagnóstico de PAV nos pacientes em uso de IOT na UTI pelo HURCG	100
5.6.2 Associação da presença das bactérias avaliadas com a mortalidade do paciente em uso de IOT em UTI	101
6 DISCUSSÃO	102
6.1 CRESCIMENTO BACTERIANO ENTRE PACIENTES DENTADOS E DESDENTADOS.....	102
6.2 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA DOS DIFERENTES MEIOS UTILIZADOS E EM RELAÇÃO AO TEMPOS DE COLETA	103
6.3 ALTERAÇÃO E PRESENÇA DOS MICRORGANISMOS	104
6.4 RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS.....	105
6.5 MORTALIDADE RELACIONADA COM A PRESENÇA DE MICRORGANISMOS	105
7 CONCLUSÃO	107
REFERÊNCIAS.....	108
APÊNDICE A Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)	121
APÊNDICE B Ficha de avaliação odontológica	123

APÊNDICE C	Ficha de avaliação microbiológica.....	125
APÊNDICE D	Dados da análise-semi-quantitativa	127
APÊNDICE E	Planilha de resultados dos testes bioquímicos	133
APÊNDICE F	Planilha com os resultados dos testes bioquímicos para Enterobactérias	138
APÊNDICE G	Planilha de evolução hospitalar dos pacientes.....	139
APÊNDICE H	Planilha dos Antibiógramas	140
ANEXO A	Parecer consubstanciado COEP	142

1 INTRODUÇÃO

A microbiota bucal residente é essencial para saúde em um indivíduo, pois participa no desenvolvimento do sistema imune e serve de barreira contra microrganismos patogênicos. Na cavidade bucal existem mais de 700 espécies de microrganismos, que promovem a homeostase bucal (GLURICH, 2014). Estudos demonstram que na cavidade bucal de indivíduos saudáveis, os microrganismos mais comuns encontrados correspondem ao *Streptococcus spp*, *Veillonella spp.*, *Neisseira spp.*, *Prevotella spp.* e *Fusobacterium spp.* (HASAN et al, 2014; WASHIO et al, 2014).

No entanto, quando ocorre um desequilíbrio da microbiota bucal, as bactérias residentes associam-se com a etiologia de alterações bucais como a doença cárie e a doença periodontal, e de alterações sistêmicas, principalmente infecções do trato respiratório (GLURICH, 2014). Além disso, na ocorrência de desequilíbrio, como por exemplo, na doença periodontal, considerada uma infecção bacteriana crônica que causa a destruição irreversível dos tecidos de suporte dentário, determinadas bactérias presentes da cavidade bucal, como *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Acinetobacter baumannii* e *Porphyromonas gingivalis* podem invadir a corrente sanguínea, se alojar no endocárdio e causar a endocardite infecciosa, doença com alto potencial de morbidade e mortalidade. Indivíduos que possuem próteses nas válvulas cardíacas ou que tiveram doença reumática que acarretou em dano dessas válvulas são mais susceptíveis a doença. Sem tratamento, a endocardite infecciosa é uma doença fatal em aproximadamente 30% dos casos (DHOTRE et al, 2018; MILLER et al, 2018; CARINCI et al, 2018).

Na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) o paciente está mais exposto em cinco vezes maior o risco de infecção, pois dois fatores são fundamentais para determinar o risco de infecção: a resposta imune do hospedeiro e a natureza do microrganismo patogênico. Em relação ao primeiro fator, os pacientes em UTI estão com o estado clínico comprometidos, apresentam alterações no sistema imunológico, possuem comorbidades, exposição a procedimentos invasivos como o uso de cateter central ou intubação orotraqueal, muitas vezes recebem medicação imunossupressora, desidratação terapêutica (prática comum para aumentar a

função respiratória e cardíaca), o que leva a hipossalivação (redução do fluxo salivar) (GREENBERG et al, 2018; ZHU et al, 2019; SCHRÖDER et al, 2018). Ainda é ressaltado que são susceptíveis ao ressecamento das mucosas, pois a saliva se torna muco-espessada (GOMES; ESTEVES, 2012).

Dessa maneira, a alteração da microbiota bucal, assim como o internamento em uma unidade hospitalar expõe o organismo à condição de vulnerabilidade às Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) (FIDEL JUNIOR; LOURENÇO; FISCHER, 2013).

As IRAS são consideradas as principais causas de morbidade e de mortalidade no âmbito hospitalar, além de aumentarem o tempo de internamento do paciente, elevando o custo do tratamento (ANVISA, 2004). Dentre as IRAS mais comuns e que apresentam maior relação com a área odontológica podem-se citar as infecções do trato respiratório como a Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica – PAV (AGUIAR, 2008). Esta infecção é responsável por cerca de 25% de todas as infecções adquiridas durante o internamento em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), e se desenvolve após 48 horas de intubação, sendo os cinco primeiros dias o período de maior ocorrência (DIAZ, 2011; ANVISA, 2013). As taxas de mortalidade em relação à PAV podem variar de 20 a 60%, porém esta infecção aumenta em média 12 dias o tempo de internamento hospitalar, aumentando também os riscos de morbimortalidade ao paciente (ANVISA, 2013).

A PAV e as outras infecções do trato respiratório podem ter origem por diversos microrganismos hospitalares como *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Staphylococcus aureus* (DIAZ, 2011; GUIMARÃES; ROCCO, 2006). Estes patógenos, que não são geralmente encontrados na cavidade bucal, podem estar presentes na microbiota bucal do paciente internado, disseminando-se pelo organismo (FIDEL JUNIOR; LOURENÇO; FISCHER, 2013). Também pode haver infecções de origem odontológica que ocasionarão ou potencializarão doenças sistêmicas, comprometendo a saúde geral do paciente (AMARAL; CORTES; PIRES, 2009). Um indivíduo que apresenta um quadro de periodontite crônica, por exemplo, possui maior risco de desenvolver, descompensar ou intensificar doenças sistêmicas como hipertensão (GLURICH et al, 2014; DESVARIEUX et al, 2010), diabetes (GALHARDO et al, 2015), doença renal (GLURICH, 2014; KSHIRSAGAR et al, 2005), doença arterial coronariana (GLURICH, 2014), acidente vascular

cerebral (GLURICH, 2014; FIDEL JUNIOR; LOURENÇO; FISCHER, 2013), além da pneumonia aspirativa (AGUIAR, 2008; FIDEL JUNIOR; LOURENÇO; FISCHER, 2013).

Dentre os fatores e tantos mais, pode-se afirmar que a PAV é uma doença que exige, tanto para sua prevenção, quanto para sua cura, um tratamento do paciente por uma equipe interdisciplinar. É necessário que haja uma preocupação com a integração dos saberes dos profissionais de saúde que atuam nesta doença, como cirurgiões-dentistas, médicos, enfermeiros, fisioterapeutas e bioquímicos, para que através da corresponsabilidade, solidariedade e confiança recíproca, levem a um melhor esclarecimento, atendimento e tratamento destes pacientes internados (CORREA, 2011; DOS SANTOS et al, 2017).

Diante do exposto, por existirem poucos estudos sobre a temática citada, o objetivo geral da pesquisa é verificar alterações da microbiota na cavidade bucal dos pacientes em uso de IOT e internados em UTI do Hospital Universitário dos Campos Gerais, através da presença dos microrganismos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus spp.* em três momentos distintos (inicial – 0 hora, 48 horas e 96 horas do internamento) e relacionar sua presença com a PAV. Além disso, comparar as alterações da microbiota bucal de pacientes dentados e desdentados, verificar se há diferença nos diferentes tempos e meios testados, Avaliar a resistência dos microrganismos e associar a presença destes microrganismos com o percentual de mortalidade. Por esta razão, este estudo se mostra de natureza interdisciplinar por interligar conhecimentos na área da Odontologia, Bioquímica, Enfermagem e Medicina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICROBIOTA RESIDENTE DA CAVIDADE BUCAL

A necessidade de cuidados com a cavidade bucal existe desde o período de Hipócrates, onde já havia evidências da importância da remoção dos cálculos dentais da superfície do dente para a saúde geral do ser humano (GOMES; ESTEVES, 2012).

A cavidade bucal é colonizada naturalmente por inúmeros microrganismos residentes que são diferentes, por exemplo, da microbiota residente da pele ou do trato digestivo, que, apesar de acontecer frequentemente uma troca dos microrganismos entre estes sítios, estes continuam a ter perenemente a mesma microbiota numa situação de equilíbrio (PRODAN; LEVIN; NIEUWDORP, 2019; MARSH, 2018).

Pela facilidade de coleta de material, é a estrutura do corpo que mais tem estudos de sua composição de microrganismos. Naturalmente ela é bastante diversificada, já foram registradas aproximadamente 700 espécies de bactérias (KILIAN et al, 2016; GRIFFEN et al, 2012; DEWHIRST et al, 2010), podendo sofrer uma variação de sua composição pelas diferenças no meio ambiente, genética, idade, e estilo de vida do hospedeiro (KILIAN et al, 2016). Ela pode abranger aproximadamente 10^8 a 10^{11} bactérias/ml, além disso, necessita de interações físico-químicas e é altamente específica (PACE, 2007).

Na cavidade bucal, as bactérias que compõem a microbiota podem atingir todas as superfícies por meio do fluxo salivar, entretanto o sítio irá determinar quais espécies são capazes de aderir e colonizar com sucesso a região. Como resultado, os biofilmes que se formam em diferentes habitats da cavidade bucal, possuem geralmente uma composição microbiana distinta (ROSIER; MARSH; MIRA, 2018; HUMAN PROJECT CONSORTIUM, 2012). Em comparação com as outras comunidades microbianas do corpo, a microbiota bucal é muitas vezes considerada a mais estável ao longo do tempo (ZHOU et al, 2013). Vários estudos demonstraram que ela pode permanecer estável em indivíduos saudáveis durante

um período de até sete anos (RASIAH; ANDERSON; SISSONS, 2005; DAVID et al, 2014).

Como já mencionado, os microrganismos residentes colonizam as estruturas que compõem a cavidade bucal (ex. dentes, mucosas, língua) através de múltiplas interações, e esse conjunto de microrganismos convivendo e interagindo com a cavidade bucal e com o organismo sistêmico indiretamente dá-se o nome de microbioma bucal, que fornece temperatura adequada (aproximadamente 37°C, sem grandes variações), além de saliva que controla o pH e fornece transporte para os nutrientes (ROSIER; MARSH; MIRA, 2018; HEZEL; WEITZBERG, 2015; KILIAN et al, 2016).

As bactérias predominantes na cavidade bucal do ser humano são divididas em dois grupos: gram-positivas e gram-negativas. Os microrganismos gram-positivos geralmente são: *Peptostreptococcus* spp., *Abiotrophia* spp., *Streptococcus* spp., *Stomatococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Bifidobacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium* spp., *Pseudoramibacter* spp. e *Rothia* spp.. Já os microrganismos gram-negativos mais encontrados são: *Moraxella* spp., *Neisseria* spp., *Veillonella* spp., *Campylobacter* spp., *Capnocytophaga* spp., *Desulfobacter* spp., *Desulfovibrio* spp., *Eikenella* spp., *Fusobacterium* spp., *Hemophilus* spp., *Leptotrichia* spp., *Prevotella* spp., *Seimonas* spp., *Simonsiella* spp., *Treponema* spp. e *Wolinella* spp. (KILIAN et al, 2016; DEO; DESHMUKH, 2019).

Elas formam uma estrutura chamada de biofilme. Entretanto, quando ocorre um desequilíbrio dessa organização, meio que antes era aeróbio, se torna escasso de oxigênio, e ocorre então a predominância de microrganismos gram-negativos anaeróbios, como *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii*, espécies de *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, bactérias que produzem substâncias que medeiam a destruição do tecido do seu hospedeiro (MIRA; SIMON-SORO; CURTIS, 2017; PAPAKRIVOU et al, 2017).

Em razão disso, o microbioma bucal, desempenha um papel essencial na saúde e qualidade de vida do organismo, sendo fundamental para a homeostase bucal. Além disso, atua como barreira à colonização de microrganismos exógenos (patógenos invasores), que podem ser causadores de doenças. Estudos também

demonstram que a microbiota bucal residente tem relação com a imunomodulação do hospedeiro, produção de energia, regulação do sistema vascular e regulação de respostas potencialmente inflamatórias (CHOW et al, 2010; CHO; BLASER, 2012; RELMAN, 2012; DINAN; CRYAN, 2017; HEZEL; WEITZBERG, 2015).

O relacionamento que ocorre entre a microbiota residente e o hospedeiro é considerado um processo dinâmico, ou seja, é susceptível a alterações ou desequilíbrios, sendo que este, chamado de disbiose bucal, pode acarretar em consequências deletérias para o organismo, como por exemplo, patologias sistêmicas (ZHOU et al, 2013).

Quando há um desequilíbrio em algum dos processos, por múltiplos fatores, como por exemplo, o processo de intubação orotraqueal juntamente com a debilitação do organismo, essa microbiota sofre alterações e então tornar-se prejudicial ao seu hospedeiro (AMARAL, 2009).

2.2 ALTERAÇÕES QUE PODEM OCORRER NA MICROBIOTA BUCAL DE PACIENTES COM ALTERAÇÕES SISTÊMICAS

Em determinadas situações, a relação simbiótica entre o microbioma e o hospedeiro pode desequilibrar, e a doença pode ser um consequência (GOMES; ESTEVES, 2012).

Desequilíbrio no microbioma pode ter causa multifatorial. Esses fatores podem ser locais, como o consumo de carboidratos e o acúmulo de placa dental, que podem levar ao desenvolvimento de doenças bucais, como por exemplo, cárie ou doença periodontal (MARSH, 1994; MARSH, 2003). Nestas doenças bucais, uma mudança de espécies e funções associadas às doenças, isto é, disbiose bucal, é observado (BELDRA-FERRE et al, 2012; GRIFFEN et al, 2012; WANG et al, 2013; JOSHI et al, 2014). Na doença periodontal, por exemplo, os estudos mostram que a alteração da composição dessa microbiota pode incluir diferentes espécies de bactérias, citando-se principalmente *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Tannerella forsythia* (MIRA; SIMON-SORO; CURTIS, 2017; FIONA et al, 2019).

É comprovado que patógenos encontrados na cavidade bucal podem causar o desenvolvimento de doenças sistêmicas ou agravar as já existentes. Um exemplo disso é quando bactérias gram-negativas anaeróbicas, encontradas principalmente em situações de doença periodontal, causam processo inflamatório e liberam endotoxinas na corrente sanguínea e causam malefícios sistemicamente (FIONA et al, 2019; KILIAN et al, 2016).

Atualmente interliga-se o desequilíbrio da cavidade bucal com várias doenças sistêmicas como doença cardiovascular, Diabetes Mellitus, nascimento de prematuros, endocardite infecciosa, infecções do trato respiratório etc (MIRA; SIMON-SORO; CURTIS, 2017; FIONA et al, 2019).

2.2.1 Doença cardiovascular

Por ser tratar da maior causa de morte no mundo, a doença cardiovascular é por essa razão bastante estudada. No estudo de Fiona et al (2019) e Papakrivou et al (2017) correlacionaram a presença de doença cardiovascular aumentada de modo significativo em pacientes com a doença periodontal. Além disso, outro estudo analisou placas ateromatosas e encontrou a presença de DNA bacteriano aderido em suas estruturas. O material encontrado pertencia principalmente a *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* e *Campylobacter rectus*, ou seja, microrganismos geralmente encontrados na doença periodontal.

Estudos indicam que no caso de pacientes com arteriosclerose, por exemplo, a doença periodontal pode aumentar gravemente a doença cardíaca por diversos mecanismos, podendo causar a ruptura da placa de gordura. Esse processo acontece via hematopoiética, onde pela perda de integridade epitelial da bolsa periodontal, bactérias se disseminam, chegam ao ateroma e começam a lesioná-lo diretamente por um processo inflamatório. Entretanto também podem agir a distância liberando citocinas e fatores de crescimento que aumentam consequentemente o número de células de defesa como os linfócitos e macrófagos (TOREGEANI et al, 2014).

Cunha-Cruz e Nadanosky (2003) verificaram ainda que a bactéria *Porphyromonas gingivalis* tanto pode atuar da bolsa periodontal, como pode invadir o coração ou a aorta e se proliferar. O processo inflamatório que causa através da liberação de lipopolissacarídeos (LPS) pode agir direta ou indiretamente e até levar a formação de trombos. No mesmo estudo há também a sugestão que determinadas bactérias, pelo seu alto grau de virulência, estão ligadas com a formação de trombos nos vasos sanguíneos. Além disso, por causarem a destruição do endotélio, podem levar a uma resposta exagerada do organismo do indivíduo e aumentar mediadores inflamatórios, principalmente as prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanas e citocinas pró-inflamatórias.

O *Enterococcus spp.* é responsável por grande parte das endocardites bacterianas, principalmente no caso de pacientes que possuem próteses valvares no coração (DONATO, 2007).

2.2.2 Diabetes Mellitus

A diabetes Mellitus é uma doença metabólica crônica que tem como manifestação principal a hiperglicemia, seja por redução na sensibilidade à insulina, seja por falha na produção da insulina pelo pâncreas. Quando relacionada com a doença periodontal, a diabetes pode agravar a periodontite, entretanto a doença periodontal, através de respostas inflamatórias desreguladas, também pode agravar a diabetes. Elas são consideradas doenças interligadas (FIONA et al, 2019; BRANDÃO; SILVA; PENTEADO, 2011).

Há grande quantidade de estudos que ligam a descompensação da glicose do paciente diabético com a presença de doença periodontal. Existem diversos mecanismos que favorecem essa piora na relação das duas doenças, a doença periodontal causa aumento dos AGES (produtos da glicação avançada) que elevam a interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e as prostaglandinas, diminuem a quimiotaxia para que o organismo não consiga se defender, causam alterações salivares para aumentar a formação de cálculo dental (BRANDÃO; SILVA; PENTEADO, 2011).

Outra questão importante é que a doença periodontal quando se instala no paciente diabético sua progressão é mais rápida e bem mais severa do que em um paciente sem diabetes (BRANDÃO; SILVA; PENTEADO, 2011).

2.2.3 Endocardite infecciosa

O coração possui uma membrana que o recobre internamente chamada de endocárdio. Quando essa membrana é invadida por bactérias que causam nela um processo infeccioso, dá-se o nome de endocardite infecciosa (DHOTRE et al, 2018; MILLER et al, 2018).

Estudos ligam o *Streptococcus viridans*, um grupo de estreptococos alfa-hemolíticos, a grande parte dos casos de endocardite. Essa bactéria é presente normalmente na cavidade bucal e está envolvida geralmente com a cárie dentária e com a pericoronarite. Ela é responsável por cerca de 40% a 60% dos casos de endocardite que ocorrem em pacientes que possuem válvulas sem alterações de normalidade (DHOTRE et al, 2018; CARINCI et al, 2018; BIRLUTIU; BIRLUTIU; COSTACHE, 2018). Há também relatos de seu envolvimento com meningite em crianças, infecções pulmonares em indivíduos com fibrose cística, sepse em pacientes imunocomprometidos e também com a osteomielite (BIRLUTIU; BIRLUTIU; COSTACHE, 2018).

2.2.4 Infecções do trato respiratório

Dentre as várias infecções do trato respiratório, a pneumonia é uma doença com significância devido à alta morbidade e mortalidade, principalmente em pacientes idosos e os imunocomprometidos. As bactérias presentes na cavidade bucal podem migrar para o trato respiratório inferior, se alojarem nos pulmões e causarem infecções com repercussão sistêmica. Vários estudos demonstram que indivíduos com doença periodontal e má higiene dental possuem microrganismos em seu biofilme que causam a pneumonia, dentre estes citam *A. actinomycetemcomitans*, *Actinomyces israelii*, *Capnocytophaga spp.*, *Chlamydia pneumoniae*, *Fusobacterium necrophorum*, *P. gingivalis*, *P.*

intermedia e *Streptococcus constellatus* (FIONA et al, 2019; HAJISHENGALLIS, et al, 2008; SONTI; FLEURY, 2015; WILLIAMS; KERBER; TERGIN, 2003).

Em unidades hospitalares, onde se encontram inúmeros pacientes imunocomprometidos e debilitados, diversas condições predisõem o desequilíbrio e o favorecimento da migração de microrganismos da cavidade bucal para o trato respiratório inferior. Dentre eles pode-se citar: o uso de medicamentos imunossupressores e sedativos, diabetes mellitus, idade avançada e a intubação orotraqueal (POTERA, 1999; BERGMANS et al, 2001; MOJON, 2002; PACE, 2007). Simultaneamente, deve existir a preocupação com o uso indiscriminado de antimicrobianos e os efeitos que estes exercem sobre a saúde sistêmica e sobre a saúde bucal, além do que, esse uso pode levar a seleção de microrganismos resistentes, as chamadas “super bactérias” ou bactérias multirresistentes (MDR), como a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e a *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) (PALLASCH, 2000).

Deve-se pensar que os pacientes mais vulneráveis são os internados em UTI, em especial os que estão em uso de ventilação mecânica, pois o reflexo da tosse, a expectoração e as barreiras imunológicas estão deficientes ou mesmo ausentes, o que acarreta no desequilíbrio da microbiota residente, com consequente aumento da possibilidade de doenças infecciosas, que poderão a vir a comprometer a saúde integral do paciente e dentre a principal doença, cita-se a Pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) (LAZAREVIC et al, 2014).

Por se tratar de uma doença com alto risco de morbimortalidade surgiu a Odontologia Hospitalar.

2.3 RESPOSTA IMUNOLÓGICA DE PACIENTES INTERNADOS

O sistema imunológico juntamente com a microbiota bucal residente têm o papel de prevenir o acúmulo de biofilme e de posteriores doenças causadas por este. Diferentes componentes imunológicos matam, inibem e aglutinam microrganismos através de lisozimas, defensinas, histatinas etc, privam-os de ferro pela ação da lactoferrina, impedem a adesão pela ação das imunoglobulinas IgA,

IgG, IgM ou também podem atuar como opsoninas pelo sistema complemento, IgG e IgM que aumentam a fagocitose por células imunes (WILSON, 2005).

As espécies residentes da microbiota também produzem compostos antimicrobianos, como por exemplo, bacteriocinas e compostos tóxicos (como o peróxido de hidrogênio e o óxido nítrico), que inibem o crescimento de outras bactérias (KRETH et al, 2005), associadas com a saúde periodontal (WANG et al, 2013).

Em relação a processos inflamatórios resultantes de acúmulo do biofilme dental, determinados receptores são acionados em uma interação complexa do sistema imunológico com a microbiota bucal (DARVEAU, 2010). O hospedeiro regula a inflamação de várias maneiras (por exemplo, ajuste dos níveis de expressão de citocinas), dependendo dos tipos e quantidades de microrganismos que são detectados. Consequentemente, algumas espécies correlacionam-se com mediadores anti-inflamatórios (por exemplo, *Streptococcus spp.*, *Neisseria spp.* e *Veillonella spp.*), enquanto outros se correlacionam com mediadores pró-inflamatórios (por exemplo, *Selenomonas spp.*, *Parvimonas spp.* e *Campylobacter spp.*) (JOSHI et al, 2014).

Além de ser uns dos principais fatores causadores da inflamação, a microbiota invasora também pode suprimir a ativação imunitária, sendo considerado um mecanismo que pode permitir que patógenos escapem do sistema imunológico e se acumulem em níveis que podem induzir a doenças (DARVEAU, 2010). Um exemplo é a *Porphyromonas gingivalis*, bacilo gram-negativo anaeróbico, que expressa um tipo de lipopolissacarídeo (LPS) que acarreta na inibição da secreção de interleucina 8 (IL-8), piorando a inflamação (MIRA; SIMON-SORO; CURTIS, 2017; DARVEAU, 2010).

Dessa forma, a microbiota residente pode se correlacionar com os mediadores e anti-inflamatórios e prevenir a inflamação. Isso poderia contribuir para homeostase e resiliência em saúde, evitando a inflamação destrutiva (MIRA; SIMON-SORO; CURTIS, 2017).

Quando se trata de um paciente que está debilitado e, consequentemente, imunodeprimido, como, por exemplo, pacientes hospitalizados, principalmente paciente em UTI e mais grave ainda, se estiver em uso de dispositivos invasivos

como os tubos orotraqueais, a resposta imunológica desses indivíduos acaba sendo prejudicada (GREENBERG et al, 2018).

Os pacientes hospitalizados apresentam também fatores extrínsecos que podem atuar sobre seu estado de imunidade. Dentre esses fatores, podem-se citar os aparelhos utilizados durante a internação, bem como a manutenção que é realizada nestes e o fluxo de pessoas que entram em contato como visitantes e funcionários (CASSIAN, 1977).

Segundo estudos, as infecções hospitalares são responsáveis grandemente por complicações dentro da UTI. Somando esse fator ao fato do paciente hospitalar frequentemente encontrar-se em situação de imunossupressão. Dois fatores que levam ao desencadeamento de complicações mais severas (ZHU et al, 2019).

Pacientes internados em UTI alteram sua microbiota endógena, muitas vezes aparecendo microrganismos multirresistentes, que não seriam encontrados em situações de normalidade (GREENBERG et al, 2018).

Além disso, esses pacientes apresentam vários desencadeadores da imunossupressão, como: inserção de diversos dispositivos (sonda gástrica, cateter vesical, tubo endotraqueal), interrupção dos mecanismos fisiológicos da evacuação, déficit de nutrientes, alterações do sistema imunológico devido a traumas, doenças inflamatórias e crônicas, idade avançada, cirurgias dentre outras (ZHU et al, 2019).

Nos pacientes idosos existem fatores que predispõem mais facilmente a infecções. Possuem a resposta imunológica bastante lenta e debilitada. Ocorrem muitas vezes nos idosos, infecções do trato respiratório devido à redução da acidez gástrica, do reflexo da tosse e da redução do movimento ciliar das células brônquicas (CASSIAN, 1977).

A terapêutica utilizada dentro das unidades hospitalares também causam alterações imunológicas nos pacientes internados. A administração de antimicrobianos em grande escala, costumam causar alterações na flora bacteriana residente, não causando geralmente manifestação clínica, porém podendo facilitar o surgimento de determinados patógenos (GREENBERG et al, 2018; CASSIAN, 1977).

A administração de antibióticos com grande frequência altera a constituição da flora bacteriana normal de diversas áreas do corpo. A supressão de determinados microrganismos e aumento de outros, não acarreta manifestações clínicas, porém podem levar ao desenvolvimento de infecções multirresistentes (SILVA, 2010).

Também a utilização de corticoides e outros medicamentos imunossupressores alteram a resposta imunológica do paciente, reduzindo a intensidade e a duração do ataque das células de defesa (leucócitos) aos microrganismos pela estabilização da membrana dos lisossomos; diminuem a proliferação dos fibroblastos, diminuem os tecidos linfoides, deprimem as funções do sistema endotelial e da formação do interferon (SILVA, 2010; ZHU et al, 2019).

A utilização de dispositivos para suporte ventilatório associado ao uso de relaxantes musculares em pacientes com debilitação da respiração altera a elasticidade do pulmão, o que favorece a introdução de microrganismos patogênicos (SILVA, 2010).

Os pacientes hospitalares apresentam uma debilitação do sistema imunológico, ou seja, uma deficiência nos mecanismos de defesa. Dentre os motivos, pode-se citar a granulocitopenia, a disfunção celular, principalmente do linfócito T, causando a queda de defesa celular, diminuição da resposta humoral adquirida, esplenectomia e a deficiência mecânica devido à introdução de diversos dispositivos hospitalares e cateteres (SILVA, 2010; SCHRÖDER, 2018).

Somado a isso, pacientes com o uso de intubação orotraqueal tem destruição da barreira anatômica, ou seja, da mucosa respiratória, e comprometimento da defesa do tipo reflexo da tosse. Todos esses fatores somados acarretam na predisposição do paciente adquirir PAV (CASSIAN, 1977; SILVA, 2010).

2.4 PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA

A Unidade de Terapia Intensiva necessita de uma atenção redobrada se comparada com as outras unidades pertencentes ao hospital, pois demanda de uma complexidade nos procedimentos oferecidos e também pela condição delicada

dos pacientes nela internados. Segundo a Portaria nº 466, do Ministério da Saúde, Unidade Terapia Intensiva é definida como: “conjunto de elementos funcionalmente agrupados, destinados ao atendimento de pacientes graves ou de risco que exige assistência médica e de enfermagem ininterruptas, além de equipamentos e recursos humanos especializados” (BRASIL, 1998). Também é importante dizer que segundo o Ministério da Saúde, Infecção Hospitalar (IH) é “... toda aquela infecção adquirida após a admissão do paciente e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares” (BRASIL, 1998).

Os fatores de risco que levam a maior susceptibilidade de IH são: estado clínico com comprometimento, doenças crônicas, idade avançada, medicamentos imunossupressores e procedimentos invasivos (VICENTE, 2003; PILONETTO et al, 2004). Pacientes de UTI são considerados críticos, muitas vezes em uso de intubação orotraqueal, com imunidade debilitada, desidratação terapêutica, refluxo gástrico provocado pela intubação orotraqueal e sonda nasogástrica; fluxo salivar reduzido, o que gera ressecamento das mucosas, e, desenvolvimento de bactérias multirresistentes (BRUNETTI et al, 2003; DENNESEN et al, 2003; PINEDA; SALIBA; SOLH, 2006; BERRY, DAVIDSON, 2006).

Apesar da UTI ser a unidade que geralmente interna menor quantidade de pacientes em comparação com as demais alas hospitalares, apresenta relativamente a maior taxa de infecção do hospital, com aproximadamente 20% do total de infecções de um hospital (EGGIMANN; PITTET, 2001; ANDRADE; LEOPOLDO; HASS, 2006).

Os pacientes internados em unidade de terapia intensiva geralmente necessitam de suporte ventilatório. Apesar de ser considerado um suporte pulmonar reconhecido mundialmente e ser responsável por salvar muitas vidas, a ventilação mecânica invasiva está associada com situações de agravamento do quadro clínico de pacientes hospitalizados (KEANE; MARTIN-LOECHES, 2019). Aproximadamente 35% dos indivíduos internados em UTI fazem uso da ventilação mecânica por intubação orotraqueal. Dessa porcentagem de pacientes, 15% acabam desenvolvendo Pneumonia associada à ventilação mecânica (KEANE; MARTIN-LOECHES, 2019; RANZANI et al, 2019).

A Pneumonia associada à ventilação mecânica, ou também chamada de pneumonia nosocomial, é considerada uma das mais acometedoras infecções relacionadas à assistência a saúde (IRAS), que distintamente da pneumonia comunitária, obrigatoriamente deve ser adquirida pela utilização do dispositivo de intubação orotraqueal (IOT) para ventilação mecânica, ou seja, ventilação artificial (KEANE; MARTIN-LOECHES, 2019; RANZANI et al, 2019).

A pneumonia associada à ventilação mecânica ou também chamada de pneumonia nosocomial é definida como uma infecção do parênquima pulmonar causada por microrganismos infecciosos, incluindo bactérias, fungos e vírus. Para seu surgimento é necessário que aconteça a colonização da cavidade bucal e da orofaringe por esses microrganismos patógenos, seguidamente da aspiração destes somado ao organismo do paciente estar imunocomprometidos e assim, impossibilitado de atacar para eliminar os microrganismos invasores (GARIBALDI; BRONDINE; MATSUMIYA, 1981).

É uma infecção altamente debilitante, surgindo depois 48 horas de ventilação mecânica (DALMORA et al, 2013), e é considerada a segunda mais frequente infecção hospitalar, ela também apresenta taxas de mortalidade que ficam em torno de 20 a 50% (SCANNAPIECO, 2002; SCANNAPIECO; ROSSA JUNIOR, 2004; RANZANI, 2019).

O diagnóstico clínico é realizado através da verificação de infiltrados pulmonares nas radiografias de tórax por um patógeno, febre/hipertermia acima de 38°C, leucocitose acima de 12.000 células/mm³ ou leucopenia abaixo de 4.000 células/mm³, presença de secreção purulenta e redução da oxigenação (CECCATO et al, 2019). Entretanto ainda hoje não existe um diagnóstico considerado padrão-ouro para a pneumonia nosocomial (DALMORA et al, 2013).

A PAV é dividida em dois tipos: a precoce e a tardia. A PAV precoce acontece nos primeiros quatro dias da utilização da ventilação mecânica (VM) e está ligada a um melhor prognóstico. Já a PAV tardia acontece a partir do quinto dia de VM e é associada com taxas mais elevadas de morbidade e mortalidade (KEANE; MARTIN-LOECHES, 2019).

A doença tem surgimento pela invasão bacteriana, principalmente de bastonetes gram-negativos (*Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia*

coli, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*. e *Proteus mirabilis*) no trato respiratório inferior através do processo de aspiração de secreção encontrada na orofaringe, por inalação de aerossóis contaminados ou por disseminação hematogênica originada de um foco à distância, este último acontecendo com menor frequência. Estudos mostram que a disseminação hematogênica ocorreu pela grande quantidade de microrganismos presentes em infecção periodontal (CARVALHO, 2006).

Como comentado anteriormente, as pneumonias têm também relação com infecções bucais, e calcula-se 30 a 40% das pneumonias por aspiração sejam causadas por patógenos bucais como *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycescomitans* e *Peptostreptococcus micros* (SCANNAPIECO; BUSH; PAJU, 2003). Além disso, verifica-se que o acúmulo de biofilme causa aumento da quantidade de patógenos respiratórios como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, bacilos entéricos, e *Staphylococcus aureus* na região de orofaringe (PACE, 2007; SCANNAPIECO; STEWART; MYLOTTEI, 1992).

Se forem observados os principais microrganismos que causam a PAV precoce, pode-se encontrar principalmente *S. aureus* susceptível à meticilina, *S. pneumoniae* e *Hemophilus influenzae*. Enquanto que na PAV tardia, as bactérias mais predominantes são gram-negativos como a *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *Klebsiella spp.*, além de gram-positivos como MRSA (HUNTER, 2012; PITTET; DONALDSON, 2006).

Outro fator importante que vale ser ressaltado quando se trata da PAV, é que ela causa o aumento do tempo de internação, em média de dez a treze dias em pacientes intubados e, por consequência, acarreta no aumento do custo do diagnóstico e tratamento do paciente na unidade de internação, enorme ônus financeiro ao hospital e uma imensa demanda por recursos médicos (RANZANI et al, 2019; DALMORA et al, 2013). Além disso, a PAV frequentemente leva a alterações locais e sistêmicas e preocupantemente à sepse (CECCATO et al, 2019).

Estudos analisaram que pacientes com PAV podem apresentar alterações imunológicas, e dentre elas uma citada é a linfocitopenia. Verificam que a redução

dos linfócitos nestes pacientes aumenta em duas vezes o risco de mortalidade (CECCATO et al, 2019).

Dentre os principais fatores de risco para os pacientes pode-se citar a idade avançada, comorbidades, maior tempo em VM, distúrbios na consciência, terapia antibiótica prévia e procedimentos invasivos (MACHADO, 2018).

Em relação à idade avançada, sugere-se que com o passar da idade o organismo tem um declínio da função fisiológica da respiração, atrofia dos músculos da respiração, redução da elasticidade dos tecidos pulmonares, redução do reflexo protetor da tosse e diminuição da resposta imunológica. Além disso, geralmente pacientes idosos apresentam doenças crônicas e desnutrição (MACHADO, 2018).

As comorbidades, também consideradas fatores de risco para a PAV, são doenças crônicas como a doença cardiovascular, a diabetes, a tireoidite de Hashimoto, doenças respiratórias e insuficiência renal. Elas são consideradas fatores de risco porque causam um quadro de imunossupressão, o que torna o paciente mais susceptível de adquirir a pneumonia nosocomial (MACHADO, 2018).

O maior tempo em VM acarreta em exposição da via aérea superior a patógenos que entram diretamente, reduz a capacidade de engolir, a eliminação dos cílios ao muco e aumenta o risco de infecção pelo uso de umidificadores e alças ventilatórias que são fonte de microrganismos (MACHADO, 2018; CECCATO et al, 2019).

Estudos comprovaram que pacientes com doenças crônicas tiveram maior tempo de VM e de permanência hospitalar se comparados com outros pacientes sem comorbidades (FABBRI; PAUWELS; HURD, 2004). Outro estudo mostrou ainda que pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) tiveram 2,35 vezes mais chances de desenvolver PAV do que pacientes sem DPOC. (LIU; DI; FU, 2017).

Nos pacientes que apresentam distúrbios de consciência, como por exemplo, no coma, há uma redução significativa da deglutição, tosse e expectoração, criando dificuldades desses pacientes conseguirem eliminar as secreções respiratórias, e ainda são pacientes que não conseguem colaborar com

a equipe hospitalar para realizarem determinados procedimentos (CECCATO et al, 2019).

Em relação à terapia antibiótica (antibioticoterapia) prévia somada a internação por mais de cinco dias causaram aumento da incidência da resistência dos microrganismos da PAV (MAHAPATRA et al, 2018). Além disso, o uso indiscriminado de antibióticos causa uma maior incidência do aparecimento de microrganismos resistentes e, entre estes, relacionados principalmente com a PAV, ressalta-se a MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina) e a KPC (*Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase) (ZHANG et al, 2019).

Os procedimentos invasivos como a intubação, reintubação, traqueostomia, aspiração do escarro endotraqueal, broncofibroscopia, sonda nasoenteral, dentre outros são ligados com o risco de desenvolvimento da PAV (HORAN; ANDRUS; DUDECK, 2008; WALASZEK et al, 2016; APOSTOLOPOULOU et al, 2003; YUAN; CHEN; YU, 2007; THATRIMONTRCHAI et al, 2017).

Além desses fatores de risco, pode-se citar também a hipertensão abdominal, pois causa aumento do risco da inalação do conteúdo gástrico contaminado por microrganismos (PAPAKRIVOU et al, 2017).

Atualmente vários hospitais preocupados com têm adotado medidas de precaução para tentar prevenir a PAV. Entretanto essa preocupação é infelizmente predominante nos países desenvolvidos. Dentre as manobras para a prevenção da PAV, adota-se a identificação dos fatores de risco do paciente individualmente e coletivamente; utilização da Ventilação não Invasiva (VNI) com Pressão Positiva, ensaio da respiração espontânea; experimento de despertar diário para reduzir o tempo de VM; elevação da cabeceira do leito a 30-45 graus para reduzir sucção do escarro; descontaminação do trato digestivo e da orofaringe para reduzir a colonização de patógenos (PAPAKRIVOU et al, 2017).

Outros métodos indicados também são a utilização de β -lactâmicos, clorexidina e probióticos (MACHADO, 2018; CECCATO et al, 2019). Em relação aos β -lactâmicos, apesar de ser um antibiótico, estudos confirmaram que o uso empírico de piperacilina-tazobactam em pacientes hospitalizados pode reduzir a incidência de PAV precoce, mas tem pouco efeito na PAV tardia (MIRTALAEI et al, 2019). A higienização da cavidade bucal com clorexidina a 2% se mostrou eficaz

para redução de microrganismos, principalmente os gram-positivos, pois estes pacientes apresentam higiene bucal deficiente e predispondo o acúmulo de biofilme e, conseqüentemente, de bactérias, sendo que, a quantidade e a complexidade do biofilme aumentam proporcionalmente ao tempo de internação. Já o uso de probióticos pode diminuir o tempo de internação (PAPAKRIVOU et al, 2017). As medidas para a prevenção da PAV devem ser usadas conjuntamente, como um *bundle* de prevenção e, além delas, é necessário que haja uma equipe multiprofissional e interdisciplinar, integrada e especializada, para atuar sobre estes pacientes melhorando significativamente o atendimento destes pacientes (MACHADO, 2018; ALVAREZ-LERMA; SANCHES GARCIA, 2018; MORAIS et al, 2006).

2.5 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS NA PAV

A patogênese da PAV está diretamente ligada aos microrganismos. Estudos comprovam que grande parte das pneumonias nosocomiais são causadas são causadas pelo *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*) (SOMMERSTEIN et al, 2019). Outros estudos ainda ressaltam que está acontecendo um aumento no número de pacientes afetados por bactérias multirresistentes (MDR), tornando-se um problema de ordem global e que deve ser mais estudado (BURGOS; FALCÓ; ALMIRANTE, 2019).

2.5.1 *Enterococcus spp.*

O *Enterococcus spp.* é um coco gram-positivo que pode se apresentar como uma cadeia curta ou em pares. É catalase negativa, pois não possui a enzima citocromo-oxidase. Entretanto, às vezes podem produzir uma pseudocatalase, determinando um teste fracamente positivo. Os membros deste gênero são anaeróbicos facultativos e crescem bem em meio de ágar sangue e ágar bile esculina (ALTHERTUM, 2015; DAVIS et al., 1967).

O gênero apresenta atualmente cerca de 50 espécies, associadas a uma variedade de ambientes e hospedeiros. Nos seres humanos, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* são espécies identificadas com maior frequência, tanto colonizando diversos sítios anatômicos, quanto participando em diferentes quadros infecciosos (ALTHERTUM, 2015; DAVIS et al., 1967).

O gênero *Enterococcus* está formado pelo grupo D da família dos *Streptococcus*. Eles são microrganismos residentes da flora intestinal e da vesícula biliar. Diferentemente dos outros *Streptococcus*, se tornaram resistentes a determinados antimicrobianos (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Eles são responsáveis por infecções hospitalares graves nos últimos anos, pois adquiriram resistência aos aminoglicosídeos (penicilinas e cefalosporinas) e recentemente à vancomicina (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Eles têm a capacidade de crescer a 10°C e 45°C, se multiplicar em meio tolerante ao sal, ou seja, na desenvolver-se em presença de 6,5% de NaCl, e, em pH de 9,6. Possui também a capacidade de hidrolisar a esculina em presença de 40% de bile e produzir pirrolidonil arilamidase (PYR) (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Das espécies mais encontradas está o *E. faecalis* com 80 a 90% das infecções enterocócicas e depois, em segundo lugar, o *E. faecium*, encontrado em 10% a 15% das infecções. Existem outras espécies de *Enterococcus* como *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. hirae*, *E. malodoratus* e *E. mundtii*, mas que raramente são isoladas de amostras humanas (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Os *Enterococcus* estão causadores de infecções complicadas do trato urinário, bacteremia, endocardite, infecções intra-abdominais, pélvicas e de tecidos moles, e, raramente, meningite (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Os principais fatores de risco para desenvolvimento das infecções por *Enterococcus* são a imunossupressão e a debilidade, que podem ser causadas

diabetes, infecções de localização profunda (por exemplo, úlceras por decúbito com infecções secundárias), instrumentações prévias do trato gastrointestinal, geniturinário ou respiratório, hospitalização prologada de amplo espectro com pouca ou nenhuma ação contra *Enterococcus* (por exemplo, cefalosporinas) (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

A forma de disseminação dos microrganismos acontece pela invasão do microrganismo na corrente sanguínea através do trato urinário, feridas, úlceras por decúbito ou dispositivos endovenosos. E elas são responsáveis por 5 a 20% de todos os casos de endocardite (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Antigamente as infecções provocadas por *Enterococcus*, *E. faecalis* e *E. faecium*, eram tratadas pela combinação de penicilina ou ampicilina e aminoglicosídeo. Entretanto com os anos, eles criaram resistência aos aminoglicosídeo (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Depois da década de 80, começaram a surgir *Enterococcus* resistentes à ampicilina ou à vancomicina. Essa resistência de mostrou presente na *E. faecalis* devida à produção de β -lactamases. Seguidamente foi verificada resistência à penicilina na *E. faecium*. O aparecimento de *E. faecalis* e *E. faecium* resistentes à vancomicina demonstrou importantes modificações nos *Enterococcus* (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

2.5.2 *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo móvel flagelado (polar) gram-negativo e não-esporulado e não-fermentador (BNF). Elas são bactérias que não utilizam de carboidratos como fonte de energia ou fazem sua degradação por outras vias metabólicas que não a fermentação, por isso são chamados de não-fermentador de glicose “exigente”, “não-usual” ou “miscelânea”. Diferentemente da maioria das bactérias que obtém energia pelo carboidrato, a *P. aeruginosa* obtém energia pelo por três tipos de mecanismos oxidativos: *Embden-Meyerhof-Parnas*, a

de *Entner-Doudoroff* e a de *Warburg-Dickins* (da hexose monofosfato). Através dessas vias, a glicose é convertida em ácido pirúvico por diferentes etapas de degradação (STOVER et al, 2000; ENGEL; BALACHANDRAN, 2009; KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Ela faz parte da família *Pseudomonadaceae*, que se caracterizam por bacilos retos ou levemente curvos, aeróbios estritos, ou seja, podem sobreviver em condições de baixo percentual de oxigênio (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Por possuírem a enzima citocromo-oxidase são consideradas catalase positivas. Existem atualmente duas formas de dividir a família das *Pseudomonadaceae*. A primeira, criada por Gilardi, divide em sete grupos e a *P. aeruginosa* faz parte do grupo fluorescente. Na segunda forma de dividir a família, ela fica no grupo I de rRNA (RYDER; BYRD; WOSNIAK, 2007; KIPNIS; WIWNWR-KRONISH, 2007). O grupo fluorescente é caracterizado pela produção do pigmento pioverdina, hidrossolúvel, e que se mostra como uma fluorescência branca a azul-esverdeada sob a luz ultravioleta de onda longa. Os meios com grande concentração de fosfato estimulam a formação desse pigmento. Entretanto, apesar de todas as bactérias desse grupo o produzirem, apenas a *P. aeruginosa* produz a piocianina. E em relação à segunda divisão, apenas o grupo I de rRNA possui a denominação de gênero *Pseudomonas* (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Ela é considerada o pseudomonídeo mais encontrado em amostras clínicas e está diretamente relacionado à pacientes com queimaduras, traqueostomias, feridas cutâneas exsudativas e infecções pulmonares devastadoras (BREIDENSTEIN; FUENTE-NUNEZ; HANCOCK, 2011; OCHOA et al., 2013).

Quando invade o hospedeiro, produz diversas substâncias que facilitam o aumento da colonização e infecção dos tecidos (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

2.5.3 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* é composto por 33 espécies, e destas 17 podem ser encontradas em amostras biológicas humanas. O *Staphylococcus aureus* são microrganismos cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos, não fastidiosos e não móveis. Esse gênero geralmente se agrupa em forma de cachos e são amplamente distribuídos na natureza, mas também pode ser encontrados como microrganismos residentes na pele e mucosas dos seres humanos (ALTHERTUM, 2015; DAVIS et al., 1967).

Quando em condições adversas, causam doenças como foliculite, furúnculo, carbúnculo, erisipela e celulite, além de estar relacionado com quadros de pneumonia quando se encontra na forma de pneumococos. Os *Staphylococcus* produzem endotoxinas locais que podem atuar a distância e estão bastante relacionadas com intoxicação alimentar, síndrome de pele escaldada e síndrome do choque tóxico (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Algumas espécies de *Staphylococcus* que são patogênicos para o homem, produzem uma enzima denominada coagulase, e é feita a detecção desta enzima em laboratório para identificação desses microrganismos, sendo que a espécie *S. aureus* é coagulase-positiva (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

O *Staphylococcus aureus* é o microrganismo patogênico mais importante para o ser humano quando analisado o gênero *Staphylococcus*. Seus sítios de colonização são as narinas anteriores, pregas cutâneas, períneo, axilas e vagina. Embora esse microrganismo seja parte da microbiota humana normal, pode causar infecções oportunistas em situações adversas como em: lesões cutâneas (por exemplo, queimaduras, incisões cirúrgicas, eczema); em presença de corpos estranhos (por exemplo, suturas, cateteres endovenosos, próteses); em infecções por outros agentes, particularmente por vírus (por exemplo, influenza); doenças crônicas como cardiopatias e Diabetes Mellitus, na administração profilática ou terapêutica de agentes antimicrobianos, dentre outros (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Nestes casos, ele pode causar desde doenças infecciosas cutâneas até infecções sistêmicas potencialmente fatais. Nos idosos pode causar a broncopneumonia estafilocócica adquirida na comunidade, tendo como fator de risco para seu surgimento a pneumonia viral. Também está relacionada com a pneumonia nosocomial que ocorre em situações como doença pulmonar obstrutiva crônica, intubação e aspiração (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Em algumas situações a *Staphylococcus aureus* se torna resistente à metilicila e então é chamado de MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina). É um microrganismo de importância global, pois está se tornando uma ameaça desde o final do século passado. As infecções causadas por MRSA causam o aumento das taxas de mortalidade, dos custos com o paciente e aumenta também o tempo de internação (PIOCHI; ZELANTE, 1975; CRUM, 2006; ZHANG et al, 2019).

2.5.4 *Enterobacteriaceae*

Quinto grupo de *Bergey*, as *Enterobacteriaceae* são classificadas como bactérias gram-negativas bastante abundantes na natureza e com bastante frequência encontradas em amostras biológicas. Como seu nome mostra, são microrganismos do trato intestinal de seres humanos e de animais. Elas são relacionadas há bastante tempo com síndromes diarreicas e disenterias, acompanhadas por hipertermia e septicemia na febre tifoide. Também são relacionadas com a pneumonia que produz escarro vermelho-tijolo ou “geleia de groselha” causada pela *Klebsiella pneumoniae* (bacilo de *Friedlander*). Já a *Escherichia coli* muitas vezes é encontrada em cirurgias gastrointestinais contaminadas (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Por estarem amplamente difundidas, inclusive no ambiente hospitalar, os pacientes imunocomprometidos estão susceptíveis de adquirir esse microrganismo pela presença das cepas no ambiente e contaminarem procedimentos invasivos,

como por exemplo, em cateterismo ou intubação orotraqueal (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Quando ocorre uma complicação por esse grupo, uma das maiores complicações é o choque endotóxico, causado pela presença das endotoxinas, que causam febre, leucopenia, hemorragia capilar, hipotensão, colapso circulatório e septicemia (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

As colônias das Enterobacterias se apresentam vermelhas quando semeadas em ágar MacConkey, pois são capazes de formar ácido a partir da lactose do meio (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Com raras exceções, os microrganismos pertencentes às Enterobacterias realizam a fermentação da glicose, são citocromo-oxidase negativas (catalase negativas) e reduzem o nitrato a nitrito (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

2.5.4.1 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é um bacilo gram-negativo, anaeróbio facultativo da família Enterobacteriaceae. Ela se torna presente no ser humano já depois de alguma após o nascimento, habitando o intestino e sendo considerada uma bactéria residente da flora intestinal, mas algumas vezes pode causar diarreia (RODRIGUES-ANGELES, 2002).

Ela é frequentemente encontrada em septicemias, infecções do trato urinário e em pneumonias em pacientes imunocomprometidos hospitalizados (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

2.5.4.2 *Klebsiella pneumoniae*

Denominada pela microbiologista alemão *Edwin Klebs* no século XIX, e também descrita por *Carl Friedlander*, a *Klebsiella pneumoniae* é bastante

associada com um tipo de pneumonia grave e com porcentagem de mortalidade altíssima. Como a *E. coli*, ela também está presente no trato intestinal do ser humano, fazendo parte da flora intestinal residente (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Ela não é uma bactéria comumente encontrada na orofaringe (1-6%), mas em situações de imunocomprometimento como pacientes hospitalizados, sua prevalência pode chegar a 20%, causando muitas vezes pneumonias. Quando ela é responsável pelo quadro de pneumonia, este geralmente se manifesta clinicamente com bastante avassalador, caracterizado por hemorragia e necrose extensa, grande produção de catarro, este que se mostra espesso, mucóide e de cor vermelho-tijolo ou fluido como “geleia de groselha”. Causa com frequência também, a pleurite, responsável por dor em 80% dos pacientes acometidos (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

No ágar MacConkey, são colônias grandes, mucóides e vermelhas, que distribuem pigmento vermelho pelo ágar ao redor delas, mostrando que realizam a fermentação de lactose e produção de determinados ácidos (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Elas são bactérias imóveis e não descarboxila ornitina (ornitina positiva). Para diferenciar as espécies *K. pneumoniae* de *K. oxytoca*, verifica-se a produção de indol a partir do triptofano, e, respectivamente, serão indol-negativo e indol-positivo (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Pela grande incidência de infecções pela *Klebsiella* na década passada, aconteceu um aumento na resistência aos antimicrobianos. Atualmente todas as cepas são resistentes à ampicilina, ticarcilina e carbinicilina. Atualmente é de interesse mundial e de controle notificador nos hospitais a surgimento de *Klebsiella* que apresentam plasmídeos mediadores de resistência a um amplo espectro de drogas β -lactâmicas. A resistência ocorre devido à produção de uma enzima chamada β -lactamase de amplo espectro (ESBL). Em razão dessa enzima presente, o microrganismo se torna resistente à maioria dos antibióticos β -

lactâmicos, que incluem as cefalosporinas de terceira geração, penicilinas, monobactâmicos e carbapenêmicos (CAI et al, 2012; SEIBERT et al, 2014).

Uma característica excêntrica da KPC é o potencial de fugir à detecção com a maioria das provas de susceptibilidade comumente utilizadas, causando erros nos exames de sensibilidade antimicrobiana, levando a informes de que microrganismos possuidores são sensíveis a antibióticos quando, de fato, são resistentes (KONEMAN et al, 2001; OPLUSTIL et al, 2004; FORBES; SAHM; WEISSFELD, 1998).

Fato preocupante é que então restam escassas opções terapêuticas para o tratamento desses microrganismos. Essa característica, aliada ao fato da KPC ter alto potencial de disseminação, devido à sua localização plasmidial, a qual facilita a transferência do gene interespecies, tem sido motivo de alerta em hospitais e instituições de saúde globalmente (CAI et al, 2012; SEIBERT et al, 2014).

2.6 A ODONTOLOGIA E A EQUIPE INTERDISCIPLINAR

Presente no artigo 18 do Código de Ética Odontológica, capítulo IX, a Odontologia hospitalar tem como objetivo delegar ao cirurgião-dentista atuações de internar e assistir pacientes tanto em hospitais públicos quanto em privados, com e sem caráter filantrópico, respeitadas as normas técnico-administrativas das instituições. Em sequência, no artigo 19, cita-se que as atividades odontológicas realizadas em hospitais serão regidas pelas normas do Conselho Federal de Odontologia (CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA, 2003; GODOI et al, 2009).

Suspeita-se da ligação da condição da cavidade bucal e doenças sistêmicas desde 2100 a.C (MORAIS et al, 2006). No continente americano, na metade do século XIX, a Odontologia hospitalar começou a se desenvolver através dos *Drs. Simon Hullahen e James Garretson*, que delegaram grande empreendimento e dedicação para o reconhecimento da Odontologia nas unidades hospitalares. Tempos depois, a Odontologia hospitalar ganhou apoio da Associação Dental Americana e a estima da comunidade médica. Anos mais tarde, em 2004 no Brasil, surgiu a Associação Brasileira de Odontologia Hospitalar

(ABRAOH), que é fundada com as funções de promover a saúde, ter alta resolutividade e valorização no mercado de trabalho. E em 2008, ocorreu o decreto da Lei nº 2776/2008, responsável por obrigar a inserção do cirurgião-dentista nas equipes multiprofissionais dos hospitais (GODOI, 2009; CILLO, 1996; ARANEGA et al, 2012).

Segundo as Diretrizes Curriculares Nacionais, a saúde é reputada como uma área interdisciplinar, já que o ser humano e o processo saúde-doença que o afeta, relaciona diversas relações, como a biologia, o social e o emocional (GARCIA et al, 2007).

Juntamente com a equipe multiprofissional e interdisciplinar, a Odontologia hospitalar vem com o objetivo de atender e tratar pacientes imunocomprometidos e acarretar na melhora sistêmica deste. Os pacientes hospitalizados, na maioria das vezes estão debilitados e totalmente dependentes de cuidados, principalmente os pacientes internados em unidade de terapia intensiva. Eles encontram-se impossibilitados de realizar uma higienização bucal correta, acumulando maior quantidade de biofilme dentário, e por essa razão necessitam do apoio dos profissionais da área da saúde (ARANEGA et al, 2012; RABELO; QUEIROZ; SANTOS, 2010; MORAIS et al, 2006).

Pesquisas demonstram que pacientes admitidos em UTI possuem higiene bucal comprometida, possivelmente pela ausência de supervisão e de um relacionamento interprofissional da Odontologia com a Enfermagem, visto que uma das funções do cirurgião-dentista em UTI é a de supervisionar e orientar adequadamente os técnicos de enfermagem para a realização de uma higiene bucal satisfatória e eficaz (CARCERERI et al, 2011; MORAIS et al, 2006; SANTOS et al., 2008; AMARAL, 2013).

Entretanto, estudos mostram que apesar de imprescindível, os cuidados com a saúde bucal nas UTIs ainda é bastante precário e reduzido. A presença do biofilme dental pode repercutir nas terapêuticas medicamentosas, que pode ser exacerbado por outras alterações bucais como a presença de cárie ativa, doença periodontal, dentes fraturados, raízes residuais, utilização de próteses fixas ou móveis. Já é evidenciado que bactérias que podem estar presentes na cavidade bucal de pacientes internados podem causar doenças sistêmicas, e dentre elas os

estudos citam a *Pseudomonas aeruginosa*, o *Staphylococcus aureus* e o *Streptococcus coagulase* (RABELO; QUEIROZ; SANTOS, 2010).

Para tanto a PAV, juntamente com as demais IRAS, necessita de cuidados de equipes interdisciplinares e multiprofissionais de alta complexidade ao paciente. No entanto, há muito tempo que a equipe de profissionais nas UTI está estruturada e é composta por: médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, farmacêuticos, bioquímicos, nutricionistas e técnicos em enfermagem. Verifica-se na literatura que a equipe não está completa, pois falta a presença do cirurgião-dentista para que ocorra de fato promoção da saúde integral de pacientes internados em UTI (MORAIS et al, 2006; RODRIGUES; REIS, 2004). Por esse motivo, para o tratamento mais adequado, integral e multiprofissional dos pacientes, está acontecendo uma mudança na grade das formações da área da saúde para tentar unir da melhor forma os conhecimentos de todos os profissionais que realizam o atendimento direta ou indiretamente (CARCERERI et al, 2011).

A importância de uma equipe multiprofissional e interdisciplinar dentro das UTIs, ressaltando para a PAV, visa almejar a manutenção da condição bucal adequada dos pacientes internados, reduzir o quadro de agravamento da saúde do paciente, o tempo de internação e o custo do tratamento. Neste ambiente, como em outros ambientes hospitalares, o relacionamento e a troca de conhecimentos por uma equipe interdisciplinar almeja buscar resultados positivos, focando na saúde integral do paciente. (FOURRIER et al., 1998; PINHEIRO et al., 2007; SCANNAPIECO; RETHMAN, 2003).

Por essa razão, os cuidados com a higiene bucal de pacientes internados, principalmente os internados em UTI, e o acompanhamento por um profissional qualificado como o cirurgião-dentista inserido na equipe multiprofissional diminuem significativamente a ocorrência de doenças respiratórias como a PAV (RABELO; QUEIROZ; SANTOS, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar na cavidade bucal dos pacientes em uso de intubação orotraqueal (IOT) e internados em UTI do Hospital Universitário dos Campos Gerais (HURCG) a presença dos microrganismos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus sp.* em três momentos distintos (inicial – 0 hora, 48 horas e 96 horas do internamento) e relacionar sua presença com a PAV.

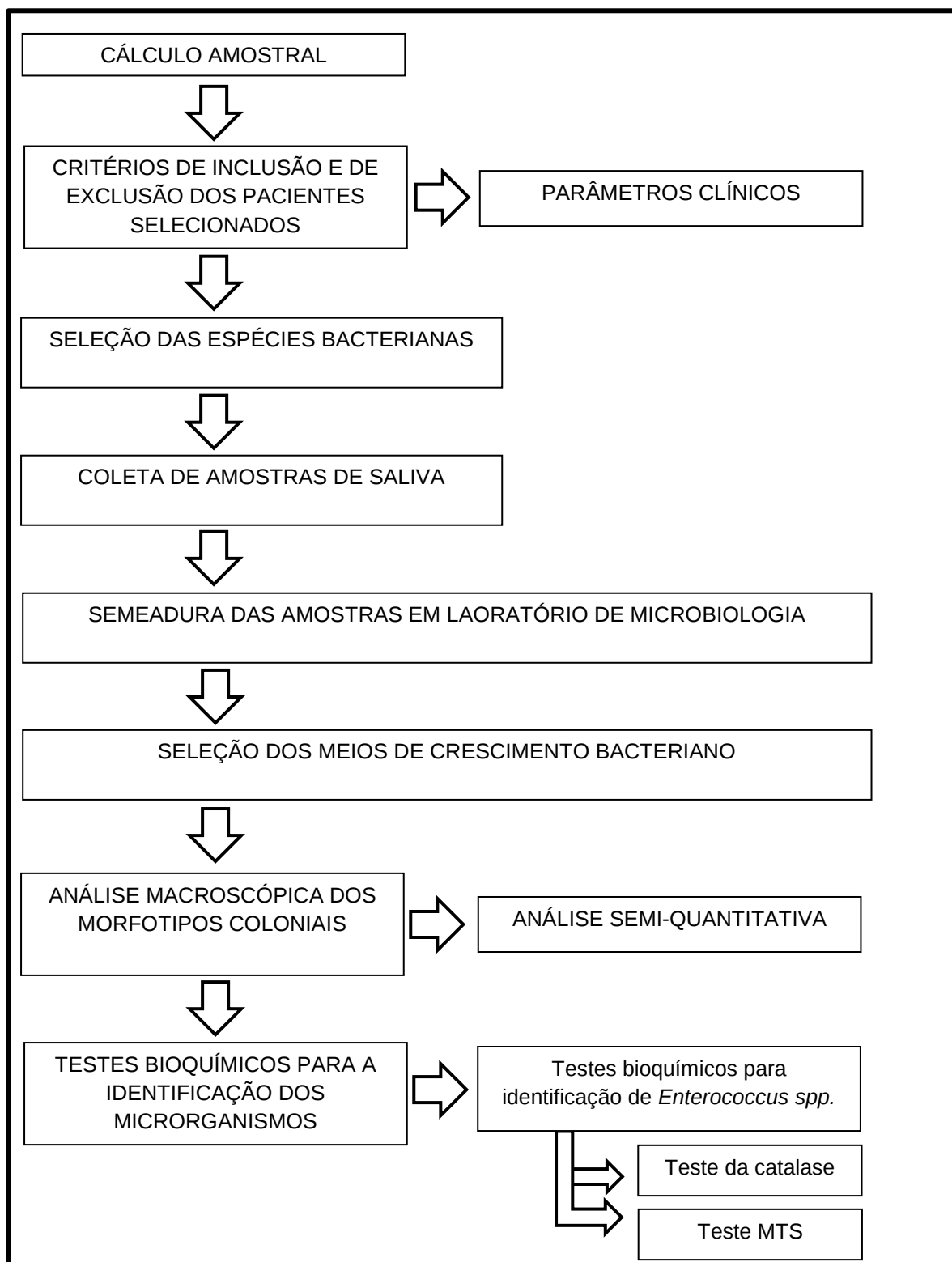
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

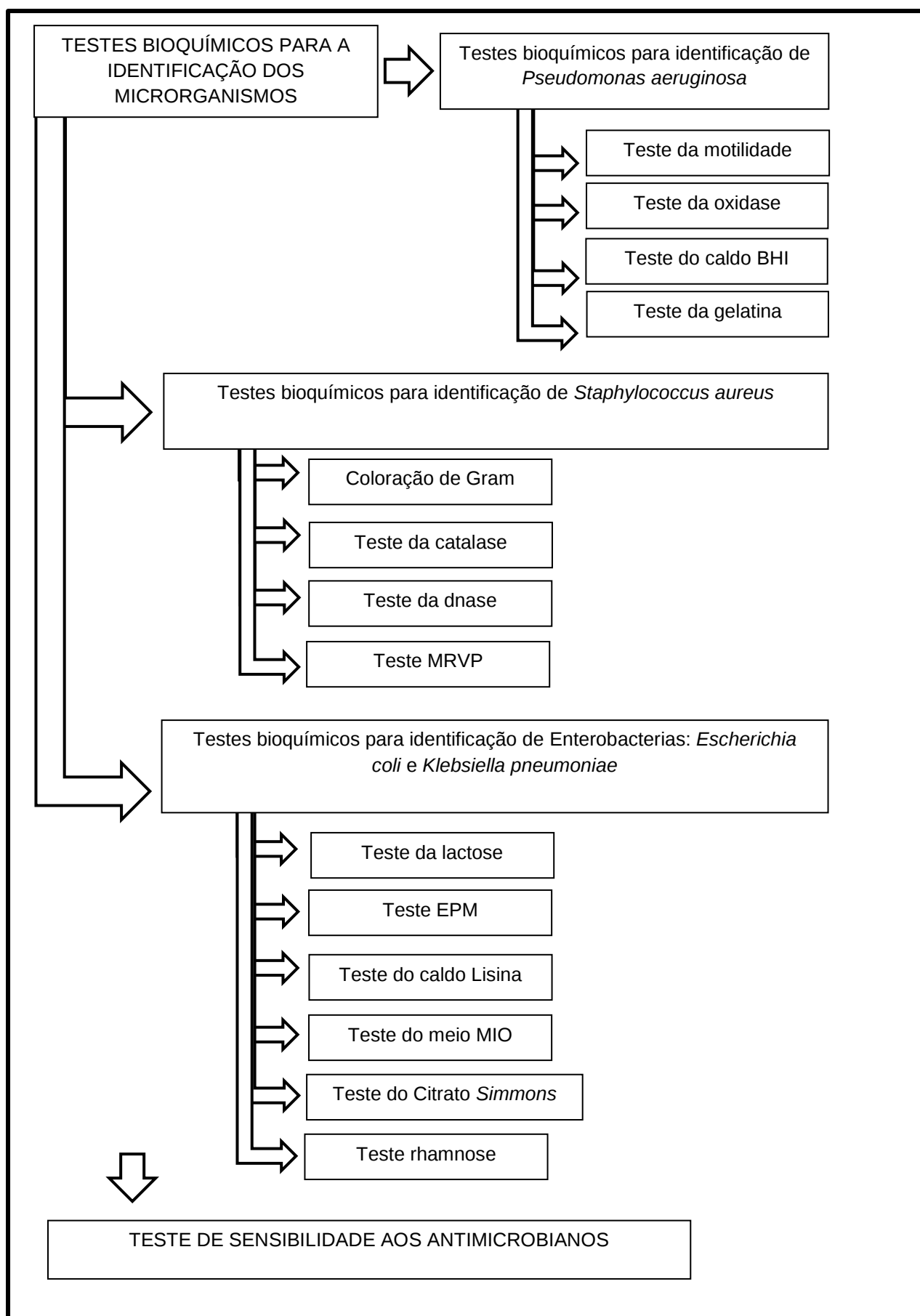
- I. Comparar as diferenças nas alterações da microbiota bucal de pacientes dentados e desdentados;
- II. Realizar a análise semi-quantitativa dos quatro meios utilizados (ágar Bile esculina com azida, ágar Cetrimide, ágar Manitol sal e ágar MacConkey) e verificar se há diferença significativa entre eles e bem como entre os diferentes tempos de coleta;
- III. Identificar a presença dos microrganismos *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus sp.* em três momentos distintos (inicial – 0 hora, 48 horas e 96 horas do internamento);
- IV. Avaliar a resistência dos microrganismos encontrados através do Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (antibiograma);
- V. Associar a presença dos microrganismos na cavidade bucal dos pacientes internados em uso de IOT com o percentual de mortalidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 FLUXOGRAMA

Figura 1 - Fluxograma dos métodos empregados para realização da pesquisa.





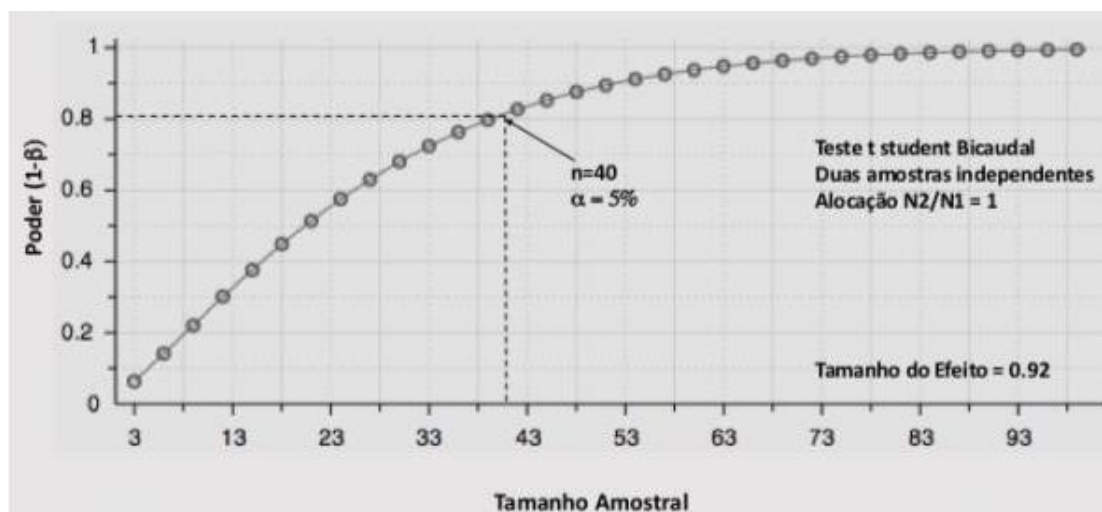
4.2 CÁLCULO AMOSTRAL

A pesquisa é de natureza observacional e prospectiva. Inclui uma amostra de 20 participantes, dividido em dois grupos: desdentados e dentados. A pesquisa foi aprovada pela COEP 2.422.774 de 7 de dezembro de 2017 (Anexo A).

O cálculo amostral foi realizado com base no estudo de Pace 2007 que fez uma comparação microbiológica da cavidade bucal de pacientes críticos (UTI) dentados e desdentados com intubação orotraqueal.

Utilizou-se os dados obtidos para as espécies bacterianas *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp* e *Enterococcus spp*. Obteve-se um tamanho do efeito de 0,92 com um poder de 80% para um nível de significância de 5% como apresentado no Gráfico 1. Desta forma o tamanho amostral obtido para cada grupo (pacientes dentados e desdentados) foi n=20 para cada (total n=40). Todos os cálculos foram realizados com o programa G*Power 3 version 3.1.9.2 (<http://www.gpower.hhu.de>).

Gráfico 1 – Cálculo amostral. Comparação entre os grupos Dentados e Desdentados utilizando o teste *t student* bicaudal para médias independentes. N=20/por grupo (Amostral total: n=40).



FONTE: A autora

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E DE EXCLUSÃO DOS PACIENTES SELECIONADOS

Como critérios de inclusão foram considerados: pacientes maiores de 18 anos, independente do gênero, cor da pele, município de origem; internados na Unidade de Terapia Intensiva Adulto (UTI) do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais Wallace Thadeu de Mello e Silva (HURCG); sem comprometimento da abertura bucal; em uso de Ventilação Mecânica por intubação orotraqueal (IOT); e que aceitaram participar do estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (o próprio paciente ou seu responsável) (Apêndice A).

E como critérios de exclusão: pacientes internados em isolamento, com presença de infecção por bactérias multirresistentes; e aqueles que não tiveram o TCLE assinado por ele ou responsável. As coletas iniciaram no mês de agosto de 2018 e finalizaram no mês de abril de 2019.

4.4 SELEÇÃO DAS ESPÉCIES BACTERIANAS

De acordo com o Núcleo de Controle de Infecção Hospitalar (NUCIH) do HURCG, os microrganismos mais comuns relacionados à Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV) na Instituição são: *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (também conhecido como MRSA), a *Pseudomonas aeruginosa*, a *Klebsiella sp.* (principalmente a *Klebsiella pneumoniae* produtora de Carbapenemase – KPC) *Escherichia coli* e o *Enterococcus sp.* Desta forma, a partir das amostras coletadas, no Laboratório de Microbiologia foi investigado a presença destes microrganismos.

4.5 COLETA DE AMOSTRAS DE SALIVA

Inicialmente foi realizada a avaliação odontológica inicial do paciente, com preenchimento da Ficha de Avaliação Odontológica (Apêndice B). Em seguida, foi

feita a coleta microbiológica com o auxílio de escova citológica estéril¹ como apresentado na Figura 2, que eram sempre realizadas antes da higiene bucal (realizada duas vezes ao dia pela equipe de Enfermagem da unidade hospitalar com haste para higiene oral inserida previamente em solução de Digluconato de Clorexidina 0,12%), apresentada na Figura 3. A coleta do material biológico ocorreu no primeiro dia do internamento do paciente, denominada coleta 1 (tempo zero hora) e a cada 48 horas, coleta 2 e coleta 3, após 96 horas. As coletas aconteceram nos cinco primeiros dias (totalizando no máximo três coletas), pelo mesmo pesquisador previamente treinado.

Cada coleta foi efetuada com uma escova citológica estéril, friccionando-a sob o dorso de língua. Após a coleta, a escova foi armazenada em um tubo de ensaio (16x160 mm) com 3 mL de solução salina tamponada (PBS), conforme orientação da ANVISA (2013) e guardada em caixa térmica. Os tubos de ensaio contendo o PBS foram esterilizados em autoclave apropriada, previamente ao uso. Na sequência, o material coletado foi encaminhado para o Laboratório de Microbiologia da UEPG.

¹ LABOR IMPORT, Fabricação: Shandong Weigao Group/China, Importação: Labor Import, Osasco/SP

Figura 2 - Realização da coleta de saliva em dorso de língua de pacientes internados em UTI do HURCG.



FONTE: A autora.

Figura 3 - Higienização bucal dos pacientes internados em UTI do HURCG.



FONTE: A autora.

4.6 SEMEADURA DAS AMOSTRAS EM LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

Para cultivo dos microrganismos no Laboratório, a solução de PBS contendo a escova citológica foi inicialmente homogeneizada por um agitador Vórtex² durante 60 segundos como representado na Figura 4. Seguidamente, 100 µL desta solução foram dispensados no centro das placas de Petri (20x100mm) com o auxílio de uma pipeta³, mostrado na Figura 5 e na Figura 6 e com um *swab* estéril⁴ foi realizada a semeadura, pela técnica da placa cheia (quatro lados), em duplicata como na Figura 7. Após as semeaduras, as placas foram armazenadas em estufa⁵ a 37°C por 48 horas.

Figura 4 - Tubo sendo agitado em Vórtex por 60 segundos.



FONTE: A autora.

² Vórtex MOTION II – Logen Scientific, série 4300, Fabricação 2005, Modelo LSM56-11-BR, São Paulo/SP

³ Pipeta automática de volume fixo com ejeter de ponteiros PET CELM 100 µL

⁴ *Swab* individual estéril ABSORVE 23007, Fabricação: Jiangsu Medical materiais LTDA, Jiangsu/China; Importação: Cral Art para Laboratórios, Cotia/SP

⁵ Estufa QUIMIS, São Paulo/SP

Figura 5 - Introdução da ponta de pipeta no interior do tubo para coleta de 100 μ L da solução.



FONTE: A autora.

Figura 6 - Dispensação da solução no meio.



FONTE: A autora.

Figura 7 - Semeadura utilizando a técnica da placa cheia com auxílio de swab estéril.



FONTE: A autora.

4.7 SELEÇÃO DOS MEIOS DE CRESCIMENTO BACTERIANO

Para cada microrganismo a ser analisado, foram empregados meios de cultura específicos: Ágar Bile esculina com azida⁶ para *Enterococcus sp.*, Ágar Cetrimide⁷ para *Pseudomonas aeruginosa* (principalmente *Pseudomonas aeruginosa*), Ágar Manitol Sal⁸ para *Staphylococcus aureus* e Ágar MacConkey⁹ para as Enterobacterias (*Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*). Os meios de cultura foram preparados no mesmo laboratório e de acordo com as recomendações do fabricante de cada meio (Figura 8).

⁶ KASVI Bile aesculin agar, Fabricação: Itália; Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

⁷ KASVI Cetrimide agar, Fabricação: Itália; Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

⁸ KASVI Mannitol salt agar, Fabricação: Itália; Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

⁹ KASVI MacConkey agar, Fabricação: Itália; Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

Figura 8 - Meio em amarelo: Bile esculina com azida, Meio branco: Cetrimide, Meio rosa: Manitol sal, Meio roxo: MacConkey.



FONTE: A autora.

4.8 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS MORFOTIPOS COLONIAIS

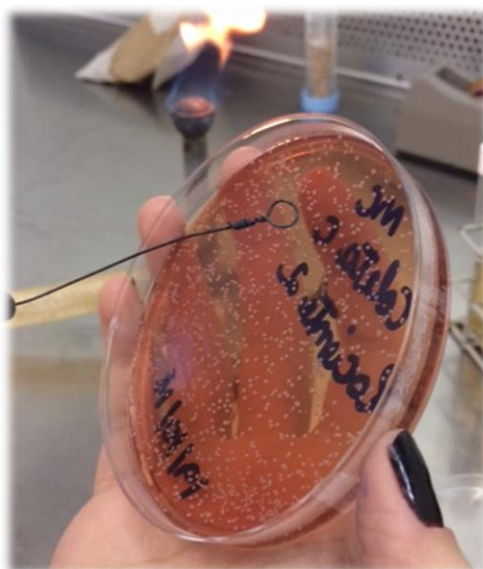
Decorrido o tempo de incubação, os diferentes morfotipos coloniais que cresceram nos meios seletivos, foram observados de acordo com suas características macroscópicas, registrados e numerados e, por conseguinte, estocados em meio BHI (*Brain Heart Infusion*)¹⁰. Para isso, com o auxílio da alça de platina, a colônia foi selecionada como mostrado na Figura 9 e então semeada no meio BHI, como demonstrado na Figura 10, e deixados crescer por 24 horas em estufa a 37°C para então poderem ser armazenados em geladeira.

Nos casos de crescimento bacteriano confluyente, onde não era possível fazer a diferenciação dos morfotipos coloniais, foi optado por realizar o processo de esgotamento em placa de Petri com o auxílio da alça de platina pelo método de estriamento em placa, no mesmo meio em que a colônia havia crescido

¹⁰ KASVI Brain Heart Infusion agar, Fabricação: Itália; Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

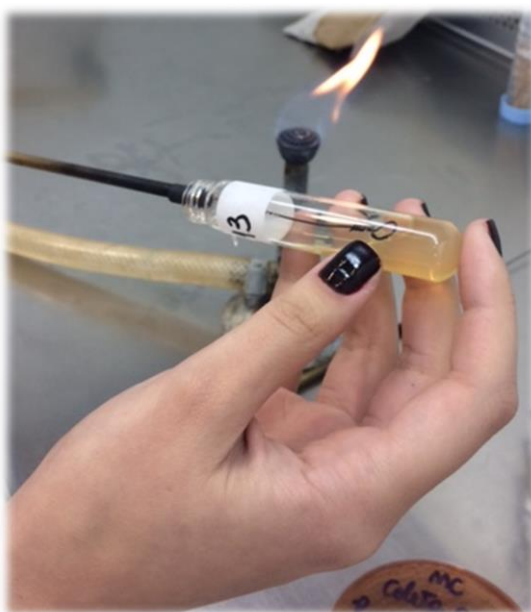
anteriormente. Em seguida o material esgotado foi deixado em estufa a 37°C por 24 horas, para depois os morfotipos coloniais diferenciados também serem numerados e armazenados em meio BHI.

Figura 9 - Seleção e coleta de colônia para armazenamento.



FONTE: A autora.

Figura 10 - Inoculação da colônia bacteriana em meio BHI com auxílio de alça de platina.



FONTE: A autora.

4.9 TESTES BIOQUÍMICOS PARA IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

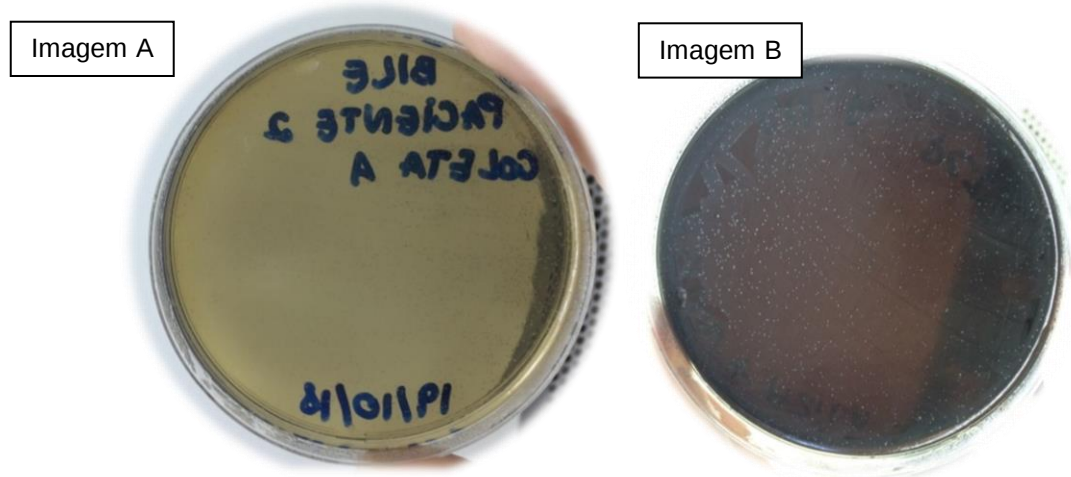
Após as colônias serem armazenadas em meio inclinado, para cada meio anteriormente escolhido, foram selecionados testes bioquímicos específicos para avaliar qual espécie bacteriana cresceu.

4.9.1 Testes bioquímicos para a identificação de *Enterococcus spp.*

O ágar Bile esculina com azida, meio seletivo para *Enterococcus spp.*, quando cresce no meio, o escurece, pois hidrolisa a esculina na presença da bile. Para essa espécie bacteriana foram realizados dois testes: Teste da Catalase e Teste da tolerância ao sal (MTS - NaCl 6.5%) (DONATO, 2007; KONEMAN et al, 2001).

Foram consideradas como *Enterococcus spp.* as amostras que modificaram o meio, inicialmente de cor amarelada, para um meio enegrecido. Já as amostras claras não podem ser *Enterococcus spp.*, pois este altera a coloração do meio pelos sais biliares, como mostra a Figura 11 .

Figura 11 - Imagem A meio claro; Imagem B meio negro causado pelo crescimento de *Enterococcus spp.*



FONTE: A autora.

4.9.1.1 Teste da Catalase

O teste da catalase permite diferenciar espécies de *Streptococcus*, como por exemplo, o *Enterococcus*, de outros cocos gram-positivos. O teste é feito através do esfregaço de uma amostra da colônia com a alça de platina em uma lâmina de vidro e acima desta aplicar uma gota de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio)¹¹ com 10 volumes e verificar se acontece a formação de bolhas ou não (SINHA, 1972).

Nas amostras que cresceram em Bile esculina com azida, para serem consideradas *Enterococcus spp.* era necessário que o resultado fosse catalase negativa. Já para as amostras que cresceram em Manitol sal, para serem *Staphylococcus aureus*, as amostras precisaram ser catalase positivas (Figura 12).

Figura 12 - Teste da Catalase.



FONTE: A autora.

4.9.1.2 Teste MTS

O teste do MTS (Meio tolerante ao sal – NaCl 6.5%) indica bactérias que toleram crescer e se multiplicar em um meio com alta concentração de sal. O *Enterococcus spp.* possui essa característica. Então, após encontrar as colônias catalase negativas, foi realizado o teste MTS¹², no qual consiste em colocar uma

¹¹ Água oxigenada líquida FARMAX 10 volumes (100 ml)

¹² LABORCLIN produto de laboratório Ltda, Pinhais/PR

amostra da colônia em meio MTS e deixá-la por 24 horas em estufa a 37° C e depois verificar se ocorreu mudança de coloração do meio para ser considerada positiva (DONATO, 2007).

Para as amostras de possíveis *Enterococcus spp.* o teste do MTS foi positivo. O teste é inicialmente da cor roxa, quando se torna positivo, muda para a cor amarela, e em caso de resultado negativo persiste na cor roxa (Figura 13).

Figura 13 - Teste do MTS: tubo roxo representando resultado negativo e tubo amarelo representando resultado positivo.



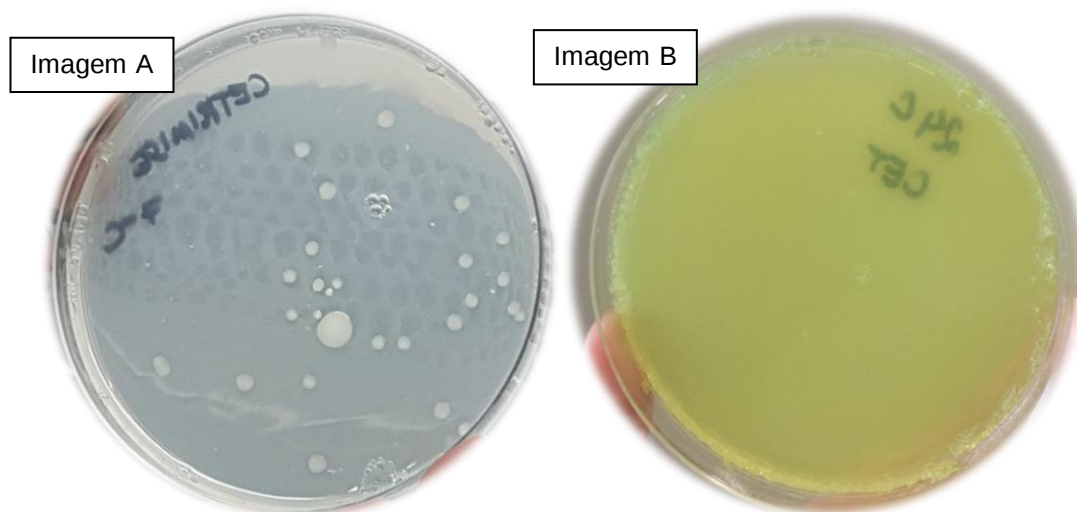
FONTE: A autora.

4.9.2 Testes bioquímicos para a identificação de *Pseudomonas aeruginosa*

O meio Cetrimide é um meio seletivo para a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Quando crescem, elas formam colônias fluorescentes. Para realizar a confirmação das mesmas realizaram-se os testes de motilidade, oxidase, BHI e gelatina (KONEMAN et al, 2001; ANVISA, 2004).

As colônias de *Pseudomonas aeruginosa* produzem pioverdina, o que transforma o meio Cetrimide, que é naturalmente branco translúcido, em um tom esverdeado fluorescente. A Figura 14 representa a esquerda outras bactérias que colonizaram o meio e a direita mostra um meio alterado para a cor verde devido a presença da *Pseudomonas aeruginosa*.

Figura 14 - Imagem A: colônias brancas. Imagem B: meio Cetrimide colonizado por *Pseudomonas aeruginosa*.



FONTE: A autora.

4.9.2.1 Teste da Motilidade

O teste da motilidade serve para verificar se as bactérias da amostra possuem flagelos, pois bactérias gram-negativas os possuem, e a *Pseudomonas aeruginosa* é considerada uma bactéria flagelar (móvel). O teste consiste em realizar o esfregaço de uma amostra de colônia em lâmina de vidro, depois aplicar uma gota de soro fisiológico¹³ e cobrir com uma lamínula e em seguida fazer a observação no microscópio óptico para identificar se existe presença ou ausência de flagelos nas bactérias analisadas (OCHOA et al, 2013).

O teste da Motilidade foi realizado nas amostras que estavam sendo analisadas como possíveis *Pseudomonas aeruginosa*. Pois diferentemente da maioria dos cocos, essas bactérias possuem flagelos para a sua locomoção.

4.9.2.2 Teste da Oxidase

O teste de oxidase consiste em um procedimento para verificar a presença ou ausência de atividade de oxidase no citocromo C nas bactérias. Os microrganismos que contêm o citocromo C são positivos para a oxidase e tornam o

¹³ Soro fisiológico EUROFARMA LINHAMAX, Ribeirão Preto/SP

reagente, púrpura. Os organismos que não contêm o citocromo C não oxidam o reagente, deixando-o incolor dentro dos limites de tempo do teste e, por isso, são negativos para a oxidase. Esse teste é realizado através do esfregaço da colônia na fita reagente¹⁴ e a *Pseudomonas aeruginosa* é positiva para oxidase (STEEL, 1961).

O teste da Oxidase foi realizado na identificação das amostras de *Pseudomonas aeruginosa*, onde necessitavam mudar a cor da fita reagente para púrpura para desta forma serem consideradas oxidase positivas (Figura 15).

Figura 15 - Teste da oxidase mostrando o primeiro resultado à esquerda sendo positivo e os demais negativos.



FONTE: A autora.

4.9.2.3 Teste do Caldo BHI

O caldo BHI¹⁵ tem em sua fórmula peptona e infusão cérebro-coração que servem de fonte de nitrogênio, carbono, enxofre e vitaminas. A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria que utiliza o nitrogênio como fonte de energia. Desse modo o teste do caldo BHI é feito inoculando a colônia no interior do meio e estes tubos mergulhados em banho-maria¹⁶ a 42°C por 24 horas. Após as horas passadas, as colônias que eram positivas causaram a turvação deste (OCHOA et al, 2013; ANVISA, 2013; KONEMAN et al, 2001).

Para o teste do caldo BHI eram consideradas com resultado positivo as amostras que causaram a turvação do meio depois de decorridos às 24 horas em banho-maria a 42°C e possíveis *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 16).

¹⁴ LABORCLIN produto de laboratório Ltda, Pinhais/PR

¹⁵ KASVI Brain Heart Infusion Agar, Fabricação: Itália, Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

¹⁶ FAMEN WATER BATH, modelo 1102, Guarulhos/SP

Figura 16 - Tubos com turvação do meio mostrando resultados positivos para o teste.



FONTE: A autora.

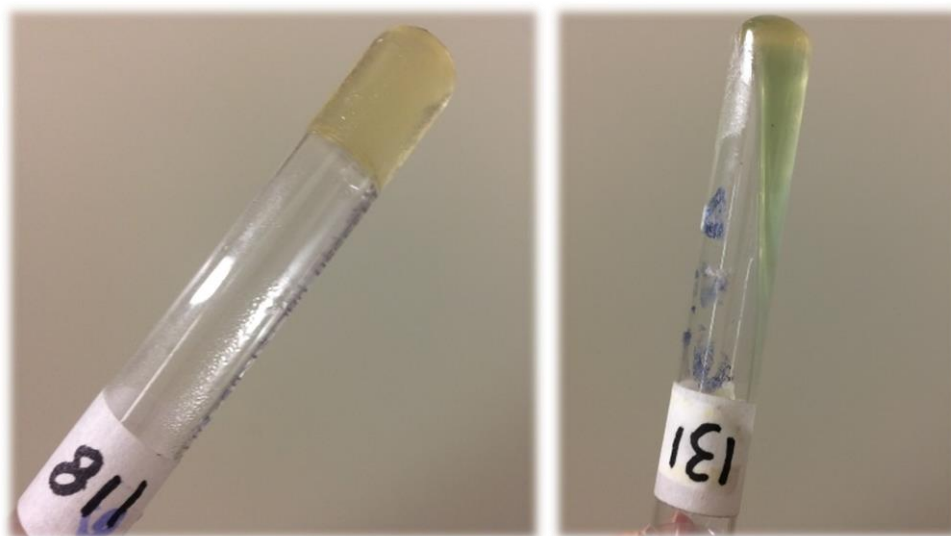
4.9.2.4 Teste da Gelatina

Este teste tem por objetivo testar se o microrganismo tem a capacidade de degradar o substrato. Ele é realizado pela inoculação por picada central três vezes no meio Gelatina¹⁷ e colocado em estufa a 37°C por 24 horas. Após decorrido o tempo, os meios foram colocados em temperatura ambiente, aguardado trinta minutos, e depois analisado se ocorreu ou não a degradação deste pela bactéria (MURRAY et al, 1999; OCHOA et al, 2013).

Para finalizar os testes para confirmação da *Pseudomonas aeruginosa*, foi realizado o teste da gelatina, no qual foi considerado positivo quando houve a degradação do meio e o deixa líquido, como representado na Figura 17.

¹⁷ HIMEDIA , Fabricação: Índia, Importação: Eximlab Comércio de Equipamentos de Laboratórios Ltda, Curitiba/PR

Figura 17 - Teste da gelatina que mostra na imagem a esquerda resultado negativo e a direita resultado positivo.



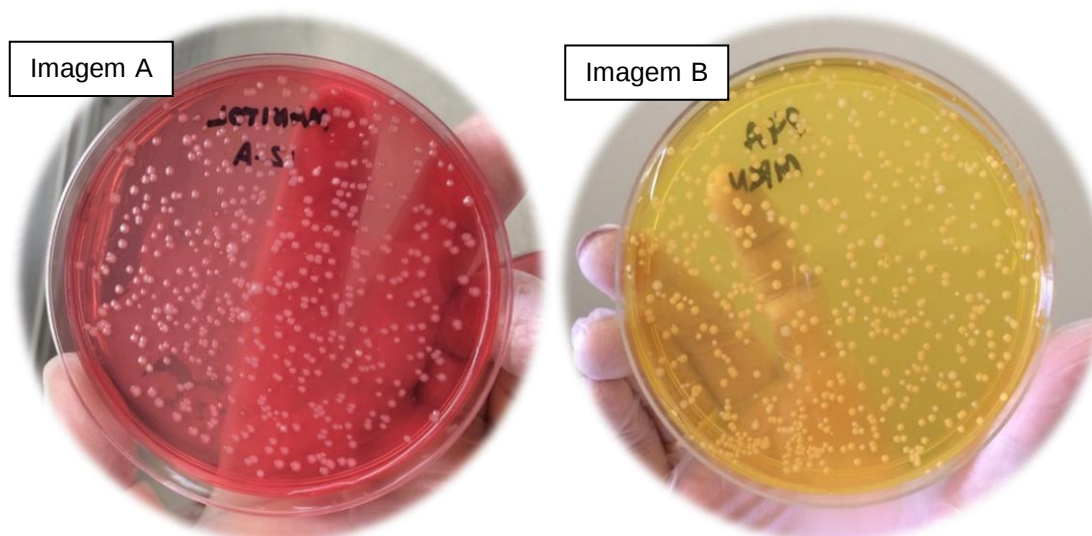
FONTE: A autora.

4.9.3 Testes bioquímicos para a identificação de *Staphylococcus aureus*

O meio Manitol sal, seletivo para *Staphylococcus aureus*, inicialmente de coloração rosa, muda para amarelo quando nele acontece a produção de ácidos pelas bactérias *Staphylococcus aureus*. Para confirmação utilizou-se dos demais testes bioquímicos: coloração de Gram, Catalase, Dnase e MRVP.

As colônias de *Staphylococcus aureus* alteram a cor do meio Manitol sal, que inicialmente é rosa, para a cor amarela. Ele faz isso pela produção de determinados ácidos. Na figura 18 pode-se a diferença da coloração de duas amostras bacterianas.

Figura 18 - Imagem A: meio rosa com microrganismos claros; Imagem B: o meio se tornou amarelo pela presença de *Staphylococcus aureus*.



FONTE: A autora.

4.9.3.1 Coloração de Gram

A coloração de Gram é um método bastante difundido que utiliza da coloração das espécies bacterianas pela composição das suas paredes celulares e as diferencia em dois grupos: gram-positivas e gram-negativas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

A coloração de Gram foi feita para as amostras que cresceram no meio Manitol sal e para ser *Staphylococcus aureus* era preciso que seu resultado fosse positivo.

4.9.3.2 Teste da Catalase

Teste no qual já foi comentado como um dos testes para a identificação dos *Enterococcus spp.*, entretanto as colônias devem obter resultados positivos para catalase para identificação de *Staphylococcus aureus*.

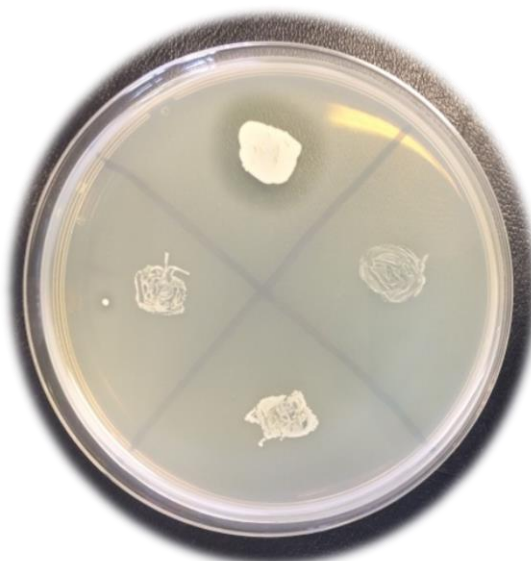
4.9.3.3 Teste da Dnase

Em sequência, elas foram semeadas em Ágar Dnase¹⁸ pela técnica do esfregaço e depois picada central cinco vezes e deixadas em estufa a 37°C por 24 horas. Depois de decorrido o tempo, nos meios foram adicionados HCl (ácido clorídrico) a 1 M até cobrir toda a superfície do ágar e então verificado se as colônias formaram halos.

O meio Dnase possui vários componentes que permitem a identificação de bactérias *Staphylococcus aureus*, pois possui a triptona em sua composição que fornece os nutrientes para o crescimento bacteriano, além do cloreto de sódio que mantém o equilíbrio osmótico. Essa bactéria despolimeriza o DNA por possuir Dnase. Quando o HCl é jogado sobre o meio, acontece a precipitação do DNA polimerizado, tornando o meio opaco. Ou seja, os microrganismos que degradam o DNA produzem uma zona transparente em volta da área do seu crescimento (WECKMAN; CATLIN, 1957). Para diferenciar os *Staphylococcus spp.* dos *Staphylococcus aureus*, foi realizado o teste da Dnase (Figura 19). Neste teste as amostras que formaram halos foram consideradas positivas para *Staphylococcus aureus*.

¹⁸ HIMEDIA , Fabricação: Índia, Importação: Eximlab Comércio de Equipamentos de Laboratórios Ltda, Curitiba/PR

Figura 19 - Dnase com três resultados negativos e um resultado positivo (halo) para *Staphylococcus aureus*.



FONTE: A autora.

4.9.3.4 Teste MRVP

Por fim, foi realizado o teste com o MRVP (*Methyl Red, Voges-Proskauer*)¹⁹. O teste consiste em inocular a colônia com o auxílio da alça de platina no interior do tubo contendo o meio e deixar incubar por 24 horas em estufa 37°C. Depois de decorrido o período, foi então aplicado no interior do tubo inoculado, cinco gotas de KOH (hidróxido de potássio) e três gotas de α -naftol. Aguardado 10 minutos, os tubos foram analisados para verificar se ocorreu ou não a formação de halo vermelho (ZAFALON et al, 2009).

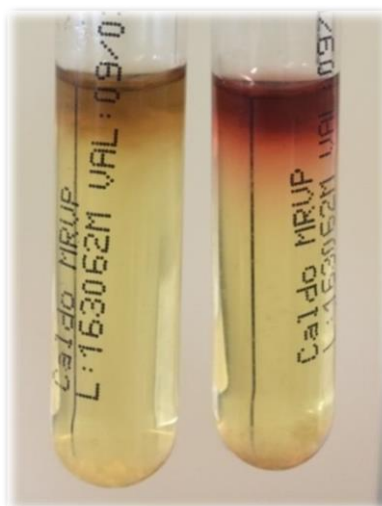
A reação de *Voges Proskauer* ou também chamado de teste de produção de acetoína tem a função de testar a formação do acetilmetilcarbinol (acetoína), a partir da glicose. Em presença de oxigênio atmosférico e hidróxido de potássio a 40%, ela é convertida à diacetila e o α -naftol atua como um catalisador para a produção da cor vermelha (ZAFALON et al, 2009).

O teste do MRVP também é um teste feito para diagnosticar amostras bacterianas de *Staphylococcus aureus*. Depois de ter passado em estufa as 24

¹⁹ KASVI MR-VP Broth, Fabricação: Itália, Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

horas da inoculação, sobre o MRVP com a amostra semeada é pingado o KOH e o α -naftol e então aguardado um período de 10 minutos. Quando finalizado o tempo verificou-se se haviam halos vermelhos na superfície do meio, indicativo de *Staphylococcus aureus*. Nos casos que não houve a formação dos halos a teste é considerado negativo (Figura 20).

Figura 20 - Teste do MRVP: esquerda mostra resultado negativo e direita mostra resultado positivo.



FONTE: A autora.

4.9.4 Testes bioquímicos para a identificação de Enterobacterias: *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*

No meio MacConkey, seletivo para as Enterobacterias, as colônias crescem com cor avermelhada, devido à lactose (LAC). Esse meio possui o cristal violeta e sais biliares em sua formulação, que inibe o crescimento de microrganismos gram-positivos (ANVISA, 2004). Entretanto para a confirmação, foram realizados também os seguintes testes: EPM modificado (analisa TRI, H₂S, GLI, GAS), lisina (LIS), MIO (analisa IND, ORN, MOT), citrato *Simmons* (CIT) e rhamnose (RHA) (Tabela 1). Para cada análise que se torne positiva, o teste realizado recebe o valor indicado na Tabela 1, mas em caso negativo recebe o valor zero.

No primeiro teste que é a prova da lactose (LAC), que é verificada nos meios de isolamento primário, através do meio MacConkey, nos casos positivos recebe valor 2, em caso negativo recebe valor zero.

No segundo teste, do EPM modificado, se ocorrer a desaminação do triptofano (TRI), receberá valor 6; se ocorrer a formação de H_2S (H_2S), receberá valor 1; na avaliação da fermentação da glicose (GLI), caso positiva, receberá valor 6; para a formação de gás (GAS) positiva, receberá valor 2. Nos casos negativos para as avaliações recebem valor zero.

No terceiro teste da lisina (LIS), no caso do teste dar positivo, este receberá valor 1, e se der negativo, receberá valor zero.

No quarto teste, MIO, se o indol (IND) for positivo, terá valor 6, se a ornitina (ORN) for positiva receberá valor 2 e ao avaliar a motilidade (MOT), se for positiva, receberá valor 1. Nas situações negativas, receberão valor zero.

No quinto teste, o citrato Simmons, no caso positivo receberá valor 2 e negativo receberá valor zero.

E no sexto e último teste, o da rhamnose, receberá valor 1 nos casos positivos e zero nos negativos.

No final de toda a análise feita, os valores dos testes realizados são colocados dentro de uma tabela semelhante a Tabela 1, e os valores serão somados da seguinte maneira: TRI + LAC + H_2S com valor máximo de 9; GLI + GAS + LIS com valor máximo de 9; IND + ORN + MOT com valor máximo de 9; CIT + RHA com valor máximo de 3.

Por fim, os resultados das provas bioquímicas são agrupados conforme mostrado na Tabela 1. A soma de cada um dos grupos fornece ao final um número de quatro dígitos, e então esse número é levado para consulta ao Manual para identificação de Enterobactérias (NEWPROV, 2015), e desta maneira propicia a classificação final com o percentual de probabilidade e eventuais provas complementares necessárias para a identificação segura do microrganismo analisado.

E através dessas provas bioquímicas, o nível de confiabilidade para a identificação da *Escherichia coli* é de 95%.

Tabela 1 – Identificação das Enterobactérias

TRI	LAC	H ₂ S	GLI	GAS	LIS	IND	ORN	MOT	CIT	RHA
6	2	1	6	2	1	6	2	1	2	1
	9			9			9		3	

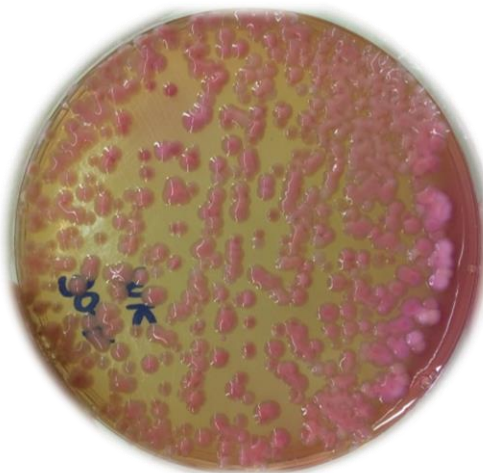
FONTE: NEWPROV. **Mini-Kit para Enterobactérias.** 10 provas. Sistema para identificação de Enterobactérias, 2015.

4.9.4.1 Teste da Lactose

As Enterobacterias fermentam a lactose presente no meio MacConkey e produzem a cor vermelha devido à produção de ácidos. Desse modo, foram selecionadas as colônias avermelhadas para continuação da sequência de testes de identificação. Foram então inoculadas em cinco meios: EPM, caldo lisina, meio MIO, citrato *Simmons* e Caldo de Rhamnose por 24 horas em estufa a 37°C. A técnica utilizada foi inicialmente realizada por picada central e depois estrias na superfície do meio inclinado EPM, seguida de inoculação do caldo lisina sem carregar a alça, e, inoculação no meio MIO sem carregar a alça novamente. Depois realizada estrias no ágar citrato *Simmons* e inoculação em caldo Rhamnose.

O teste da lactose é feito no mesmo momento da análise macroscópica do meio MacConkey, quando é analisado se existiu a formação de colônias de cor rosa ou vermelha sobre o ágar e que significam ser positivas para lactose. (Figura 21). Em casos positivos, recebe valor 2 na tabela, em negativos valor zero.

Figura 21 - A imagem mostra placas de Petri com colônias rosadas, primeiro sinal sugestivo de colônia de *Escherichia coli*.



FONTE: A autora.

4.9.4.2 Teste EPM modificado

O teste do EPM modificado (Escola Paulista de Medicina), ágar inclinado verde, analisa a fermentação da glicose, a produção de gás, H_2S (sulfeto de hidrogênio) e desaminação do triptofano. A análise do EPM pode ser feita com o auxílio do Quadro 1.

Quadro 1 – Interpretação do meio EPM

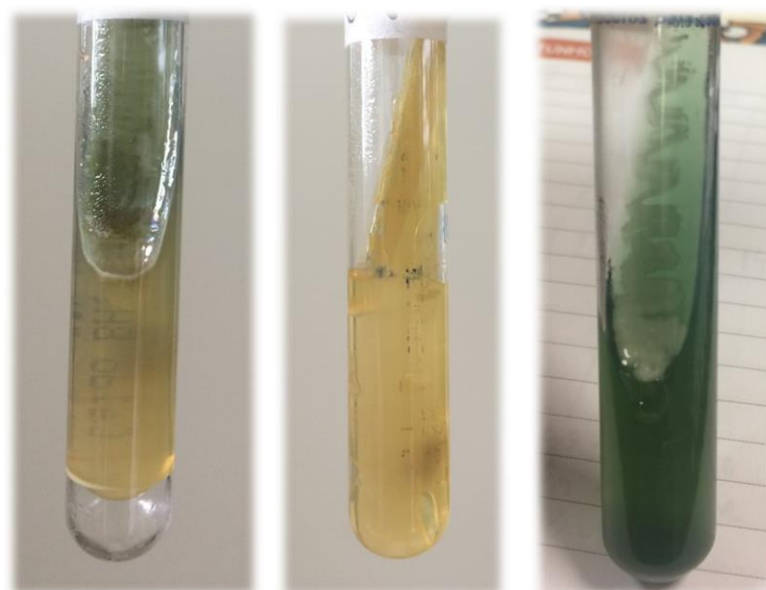
Base	Produção de gás	Formação de bolhas ou rachaduras no meio
	Produção de H_2S	Presença de pigmento negro em qualquer intensidade
	Fermentação da glicose	Coloração do meio se torna amarelada
Superfície	Desaminação do triptofano	Reação positiva – verde escuro ou acastanhado
		Reação negativa – superfície inalterada

FONTE: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica.** Módulo 5, p. 16, 2004.

O EPM é um teste que não é analisado separadamente. Ele é realizado com vários outros testes e as mudanças em cada teste são analisadas e comparadas a uma tabela universal para verificar qual microrganismo cresceu.

Entretanto, dentro do teste EPM, pode ser verificado se aconteceu ou não a fermentação da glicose, analisado pela mudança de cor do meio (inicialmente verde) para amarelo. Caso não tenha acontecido, já pode ser excluída a amostra como *Enterococcus spp.*, pois é obrigatório ter fermentação da glicose (Figura 22). Também pode ser verificada a formação de gás, que é quando o ágar se desprende do tubo de ensaio e forma espaços vazios, como “bolhas”. Além disso, também pode acontecer formação de H_2S , e neste caso, ocorre a formação de pigmento negro no fundo do tubo.

Figura 22 - Diferentes resultados do Teste do EPM.



FONTE: A autora.

4.9.4.3 Teste do caldo Lisina

O teste no caldo lisina²⁰, caldo de cor púrpura, favorece o crescimento bacteriano por sua formulação possuir peptonas e extrato de leveduras. Quando

²⁰ Caldo Lisina NEWPROV Produtos para laboratório, Pinhais/PR

ocorre a fermentação de glicose o pH abaixa e o caldo muda de cor, tornando-se amarelo. Se ocorrer atividade da enzima lisina descarboxilase o pH aumentará novamente, devido a transformação da lisina em uma amina primária: a cadaverina, e o meio retornará a sua cor inicial (KONEMAN, 2001).

O teste da lisina é considerado positivo quando não acontece mudança na cor do meio, ou seja, persiste sendo púrpura. Caso aconteça a mudança para a cor amarela, o teste é considerado negativo (Figura 23).

Figura 23 - Teste da Lisina: tubo da esquerda com resultado positivo (roxo) e tubo da direita com resultado negativo (amarelo).



FONTE: A autora.

4.9.4.4 Teste do meio MIO

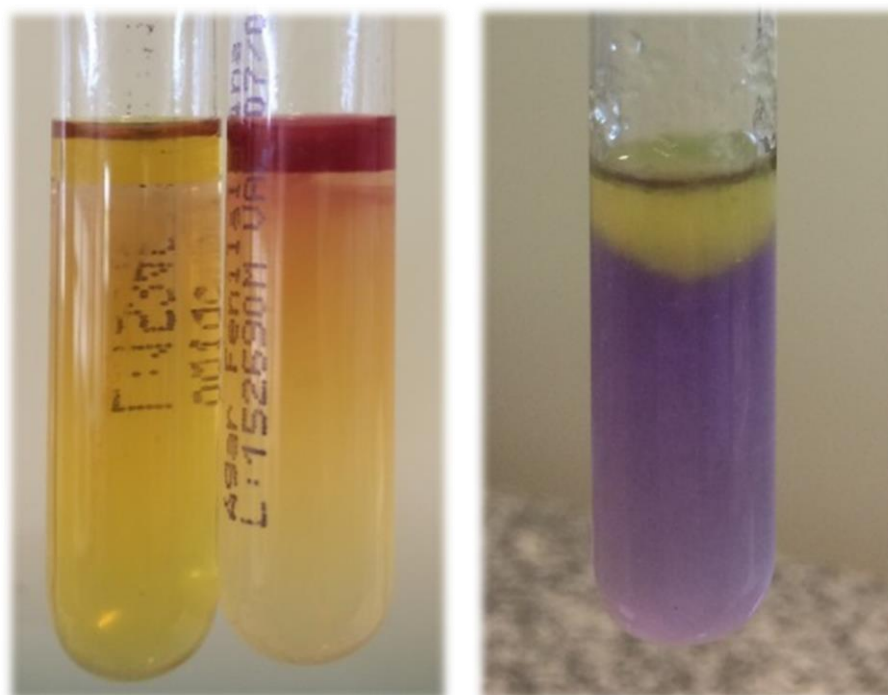
No teste do meio MIO (Motilidade Indol Ornitina)²¹, meio semi-sólido púrpura, é feita a inoculação da colônia bacteriana com o auxílio da alça de platina, depois das 24 horas em estufa após a semeadura, é aplicado sobre ele duas gotas de reagente de Kovacs, e então são analisados os testes de motilidade, indol e ornitina.

²¹ Meio MIO NEWPROV Produtos para laboratório, Pinhais/PR

A motilidade é considerada positiva quando forma turvação em todo o meio, e, negativa quando forma linha fina só onde a amostra foi inoculada. O indol é considerado positivo quando, depois de adicionado o reagente de Kovacs, forma halo vermelho na superfície e negativo quando não o forma. E a ornitina positiva é revelada pela cor púrpura do meio, e negativa quando se torna amarela (ANVISA, 2004).

O teste de MIO é também um dos testes bioquímicos, juntamente com o EPM e a lisina, para auxiliar na identificação das Enterobacterias. Ele consiste em verificar três variáveis: ornitina, que verifica se o meio está púrpura ou amarelo; motilidade que verifica se o meio apresentou turbidez e se quando colocado o reagente de Kovacs acontece à formação de indol. Na figura abaixo (Figura 24) no tubo da esquerda a motilidade, a ornitina e o indol são negativos; no tubo do meio a motilidade é positiva, ornitina negativa e indol positivo; e o tubo da direita apresenta motilidade positiva, ornitina positiva e indol negativo.

Figura 24 - Teste meio MIO.



FONTE: A autora.

4.9.4.5 Teste do Citrato de Simmons

O teste do ágar citrato de *Simmons*²², ágar inclinado verde, é realizado para verificar a capacidade dos microrganismos de utilizarem o citrato como única fonte de carbono para realizar o seu metabolismo e quando o utiliza, altera o pH, mudando também a cor do meio de verde (negativo) para azul (positivo). Ele é feito através da semeadura da colônia bacteriana sobre a superfície do meio e levado a estufa a 37°C por 24 horas (ANVISA 2004).

O teste do Citrato *Simmons* é avaliado como positivo se depois da incubação o meio mudou para a cor azul. Caso continue da cor verde a amostra é considerada negativa. A Figura 25 mostra a esquerda um tubo com resultado negativo e a direita um tubo com resultado positivo.

Figura 25 - Teste Citrato *Simmons*.



FONTE: A autora.

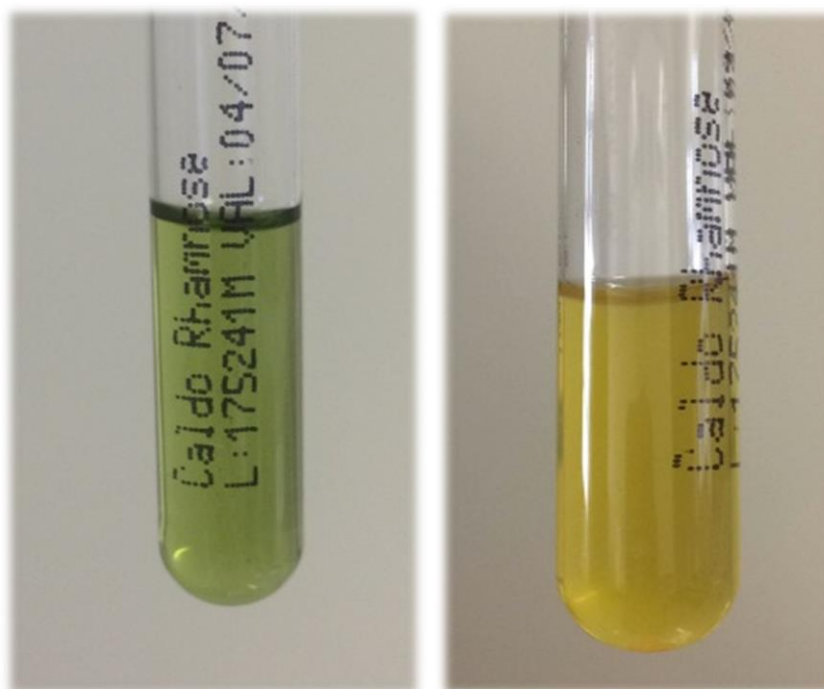
²² Ágar Citrato Simmons NEWPROV Produtos para laboratório, Pinhais/PR

4.9.4.6 Teste Rhamnose

E o último teste da sequência de testes para identificação das Enterobacterias foi o caldo de Rhamnose²³, caldo verde-claro, utilizando a inoculação do microrganismo no caldo e aguardando 24 horas na estufa a 37°C para o resultado. Ele é um tipo de açúcar de cor inicial verde claro e que se ocorrer reação muda sua cor para amarelo (ANVISA, 2004; LABORCLIN).

O teste da Rhamnose é inicialmente verde claro. Após o período de incubação quando o resultado é positivo o meio se torna amarelo e se negativo continua verde (Figura 26).

Figura 26 - Teste da Rhamnose.



FONTE: A autora.

4.10 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA DO CRESCIMENTO BACTERIANO

A análise semi-quantitativa, utilizada posteriormente para avaliação e comparação do crescimento bacteriano nos diferentes tempos e diferentes meios,

²³ Caldo Rhamose NEWPROV Produtos para laboratório, Pinhais/PR

foi feita através da análise macroscópica das placas semeadas e com a utilização da Tabela 2.

Tabela 2 – Escore para análise semi-quantitativa do crescimento de colônias bacterianas.

Colônias	Classificação Numérica	Classificação Definitiva
0	0	Ausência
1 a 5	1	Raras
6 a 15	2	Algumas
16 a 30	3	Moderadas
Maior que 30	4	Acentuadas

FONTE: OPLUSTIL et al., **Microbiologia clínica**. 2 ed. São Paulo: SARVIER, p.28, 2004.

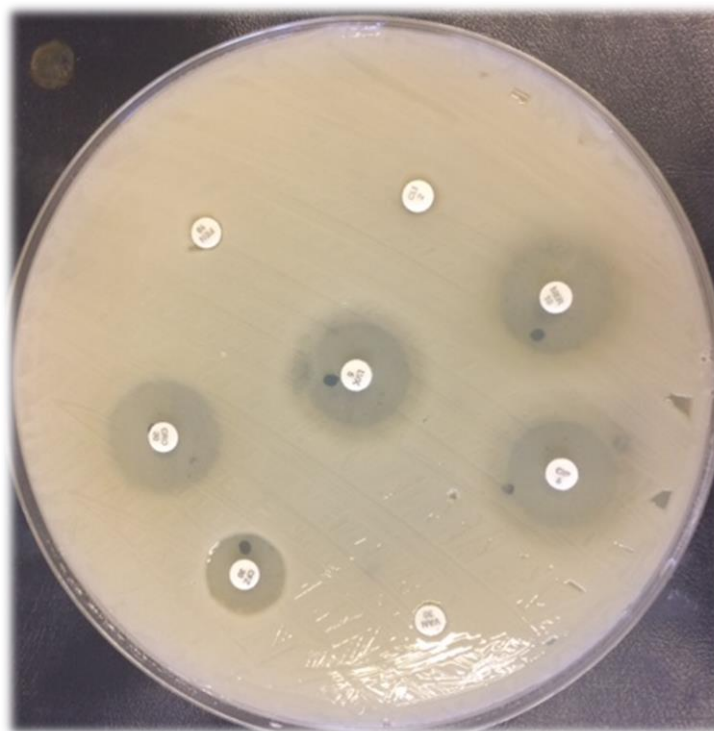
4.11 TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

Depois de todas as bactérias identificadas, foram realizados os Testes de sensibilidade aos antimicrobianos (antibiograma) para cada colônia, verificando dessa maneira, a resistência ou a sensibilidade *in vitro* das bactérias isoladas de amostras clínicas. Primeiramente, as amostras dos microrganismos foram diluídas em solução salina estéril até atingir o padrão 0,5 na escala de *McFarland* ($1,0-2,0 \times 10^8$ UFC/mL). Depois dessa diluição foi utilizado um *swab* estéril para semear a amostra em ágar Mueller Hinton²⁴. O antibiograma foi feito usando o método de difusão do disco, que consiste na utilização de discos especiais de papel²⁵, impregnados com uma concentração padronizada do antimicrobiano, que são colocados sobre uma placa com o meio de cultura. Após o período de incubação de 24 horas, o halo de inibição foi medido em milímetros, da extremidade do disco iniciando em zero mm até o final do halo, conforme mostrado na Figura 27, e depois os halos foram interpretados como sensível (S), intermediário (I) ou resistente (R), de acordo com as normas estabelecidas conforme preconizado pelo manual *Performance Standards for Antimicrobial Suscetibility Testing* (M100, 2019).

²⁴ KASVI Mueller Hinton Broth, Fabricação: Itália, Importação: KASVI Laboratórios, Pinhais/PR

²⁵ CEFAR, Discos de antibiograma SENSIFAR, São Paulo/SP

Figura 27 - Antibiógrama mostrando os diferentes tamanhos de halos formados conforme os diferentes antimicrobianos utilizados.



FONTE: A autora.

Os antimicrobianos utilizados foram definidos conforme o mesmo manual para cada microrganismo identificado conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Sequência dos antimicrobianos utilizados para microrganismo selecionado.

Microrganismo	Antimicrobiano 1	Antimicrobiano 2	Antimicrobiano 3	Antimicrobiano 4	Antimicrobiano 5
<i>Enterococcus spp.</i>	ampicilina (AMP)	penicilina (PEN)	levofloxacina (LVX)	vancomicina (VAN)	linezolida (LNZ)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ceftazidima (CAZ)	gentamicina (GEN)	tobramicina (TOB)	piperacilina-tazobactam (PPT)	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	eritromicina (ERI)	clindamicina (CLI)	penicilina (PEN)	cefoxitina (CFO)	clotrimazol (CTR)
<i>Enterobacterias</i>	ampicilina (AMP)	cefazolina (CFZ)	gentamicina (GEN)	levofloxacina (LVX)	Cefalotina (CFL)

FONTE: A autora.

Depois de realizada todas as análises microbiológicas, as informações foram anotadas na Ficha de Avaliação Microbiológica (Apêndice C).

4.12 PARÂMETROS CLÍNICOS

Em relação aos parâmetros clínicos dos pacientes, foi verificado juntamente ao sistema GSUS (Sistema de Gestão Hospitalar e Ambulatorial) do hospital, os pacientes participantes da pesquisa que apresentaram, durante o tempo de internamento, Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV), tal como a evolução de cada paciente em alta ou óbito.

4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística da distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias foi realizada com modelos não paramétricos, assim, a comparação entre os escores em diferentes tempos de internação para cada meio de cultura e grupo de pacientes (dentados e desdentados) foi realizada com o teste de *Friedman* com pós-teste de *Dunn*.

A comparação entre um mesmo período de avaliação nos diferentes grupos de pacientes foi realizada com o teste de *Mann-Whitney*.

A associação entre a presença de bactérias na cavidade bucal com a alta ou óbito do paciente foi realizado com o teste Exato de *Fisher*.

A análise estatística dos resultados dos antibiogramas foi realizada pelo teste de *Tukey*.

O nível de significância adotado foi de 5%. Todos os cálculos foram realizados com um software específico para análise de estatística (*GraphPad Prism version 7.00 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA*).

5 RESULTADOS

Os resultados foram produtos dos testes bioquímicos realizados, da análise macroscópica das placas, da análise semi-quantitativa das colônias, da verificação dos prontuários dos pacientes e dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos.

Para os resultados que necessitaram das três coletas para ser realizada a análise estatística (testes bioquímicos, análise macroscópica e semi-quantitativa) foram utilizados 18 pacientes (10 dentados e 8 desdentados). Já para a análise da associação da presença de microrganismos com a mortalidade e a sensibilidade dos antimicrobianos, foram utilizados os 20 pacientes (10 dentados e 10 desdentados), pois não foi necessário as três coletas para analisar os dados obtidos.

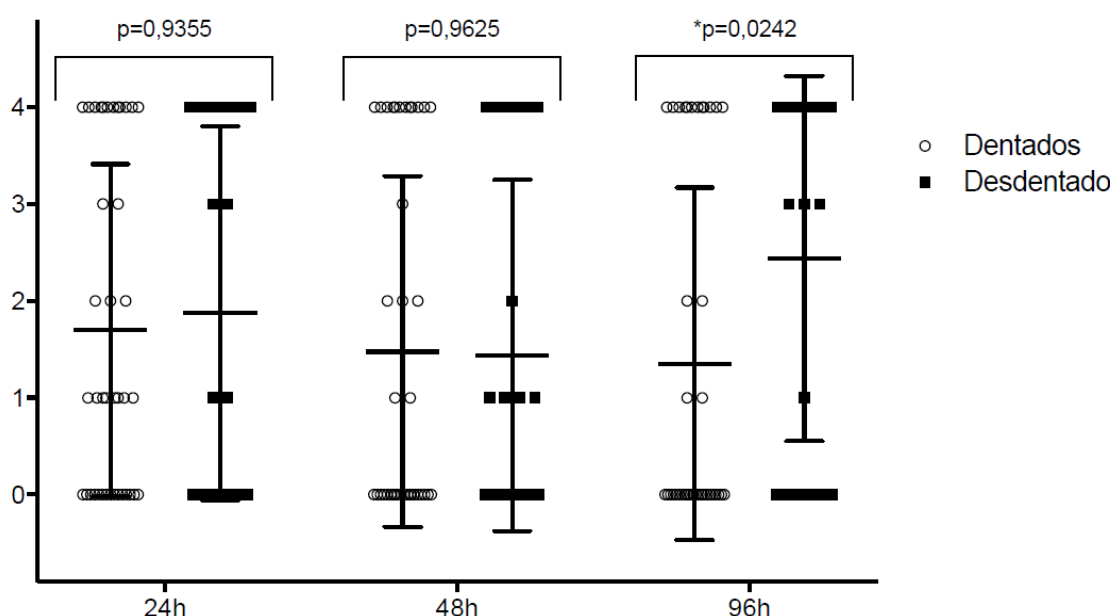
5.1 COMPARAÇÃO DE CRESCIMENTO BACTERIANO ENTRE PACIENTES DENTADOS E DESDENTADOS

O Gráfico 2 mostra seis distribuições que foram formuladas através dos escores obtidos (com base na Tabela 2) pela análise semi-quantitativa das placas em que houve crescimento de microrganismos.

As distribuições são comparadas em pares pelos tempos correspondentes ao momento da coleta da amostra (24, 48 e 96 horas). As duas primeiras barras fazem a comparação do escore da quantidade de unidades formadoras de colônias de todos os meios que cresceram dos pacientes dentados em relação ao escore de todas as unidades formadoras de colônias de todos os meios dos pacientes desdentados no tempo de 24 horas (coleta 1), não mostrando uma diferença significativa entre elas. O mesmo resultado se repete no tempo de 48 horas (coleta 2), ou seja, não mostrou diferença significativa entre os pacientes desdentados com os dentados. Entretanto, quando analisado o resultado de 96 horas, nota-se que houve diferença significativa entre as colunas, demonstrando que houve maior crescimento bacteriano nos pacientes desdentados se comparado com os pacientes dentados.

Os dados analisados que deram origem ao Gráfico 2 podem ser observados no Apêndice D, onde a primeira coluna se refere ao número do paciente e ao período de coleta (a- 24 horas, b- 48 horas, c- 96 horas), a segunda coluna ao meio (1- Manitol sal, 2- MacConkey, 3- Bile esculina, 4- Cetrimide) e a terceira coluna ao resultado do escore.

Gráfico 2 – Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Houve diferença significativa no tempo de 96 horas ($p < 0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.



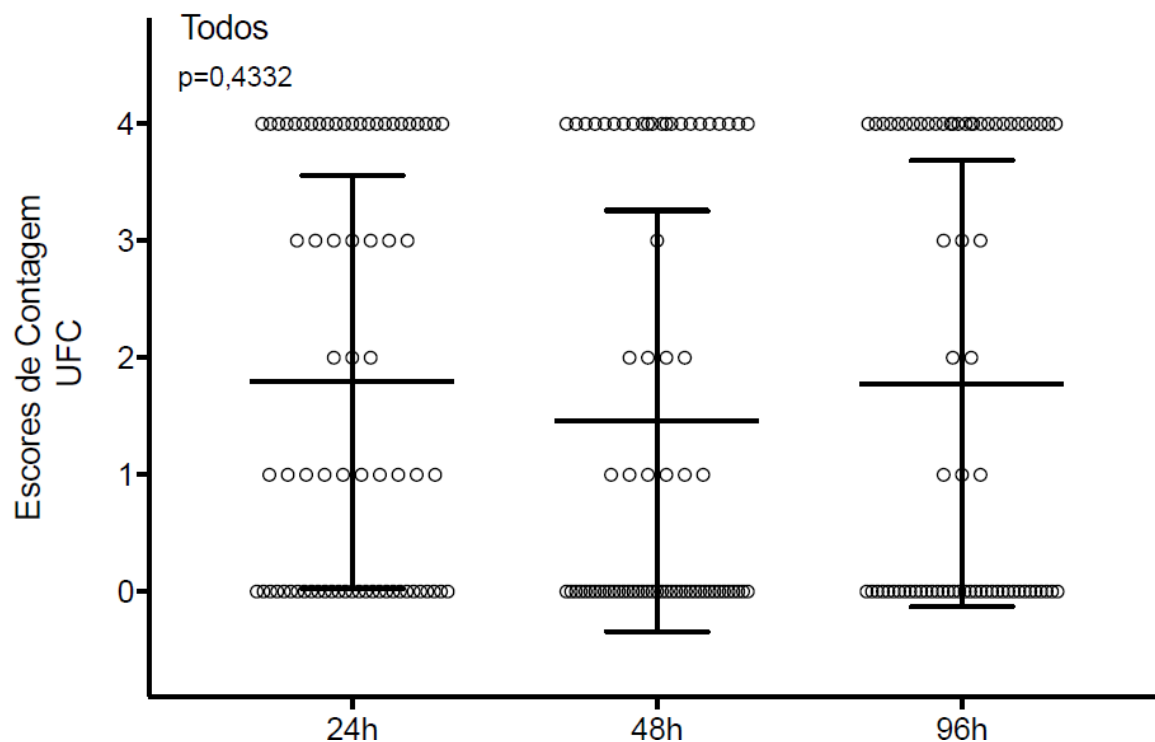
FONTE: A autora.

5.2 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA EM RELAÇÃO AOS TEMPOS DE COLETA PARA CADA MEIO ANALISADO

Os Gráficos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 são também baseados nos dados obtidos pelos dados do Apêndice D.

O Gráfico 3 faz uma comparação entre os três tempos de coleta e do escore das unidades formadoras de colônias de todos os pacientes coletados nesses mesmos tempos. Não foi obtida diferença significativa.

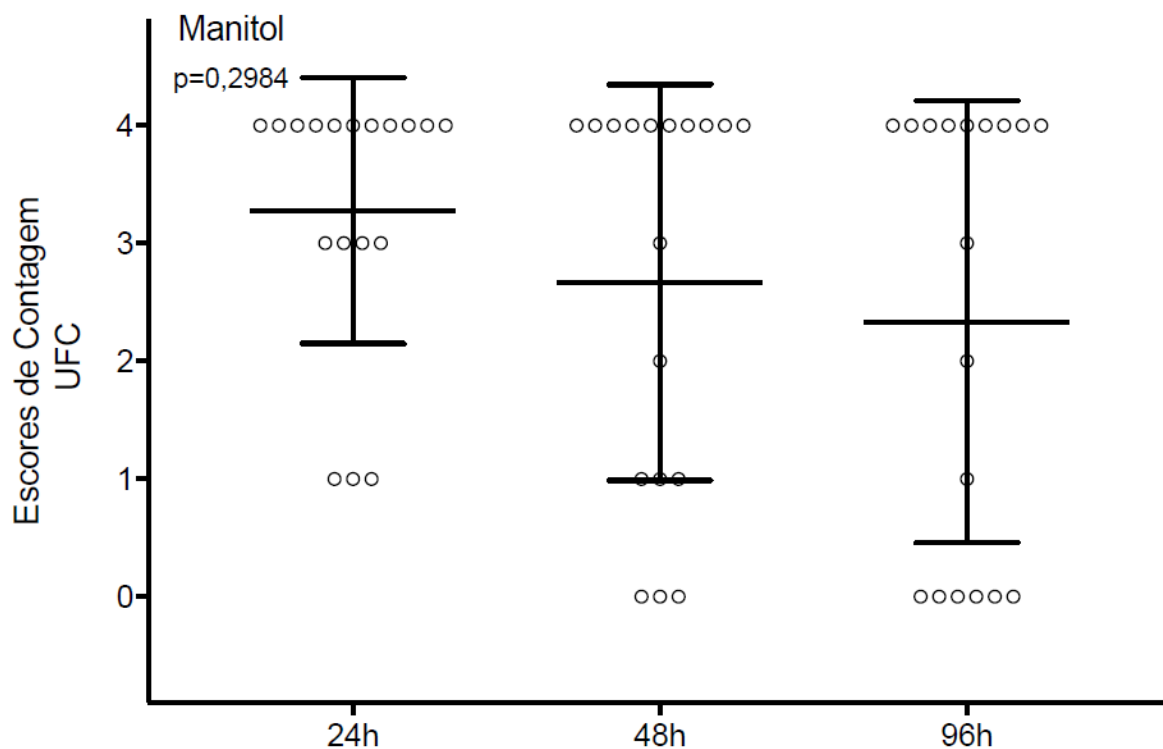
Gráfico 3 – Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa considerando os diferentes meios nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.



FONTE: A autora.

O Gráfico 4 faz uma comparação entre os três tempos de coleta e do escore das unidades formadoras de colônias do meio Bile esculina com azida. Não foi obtida diferença significativa.

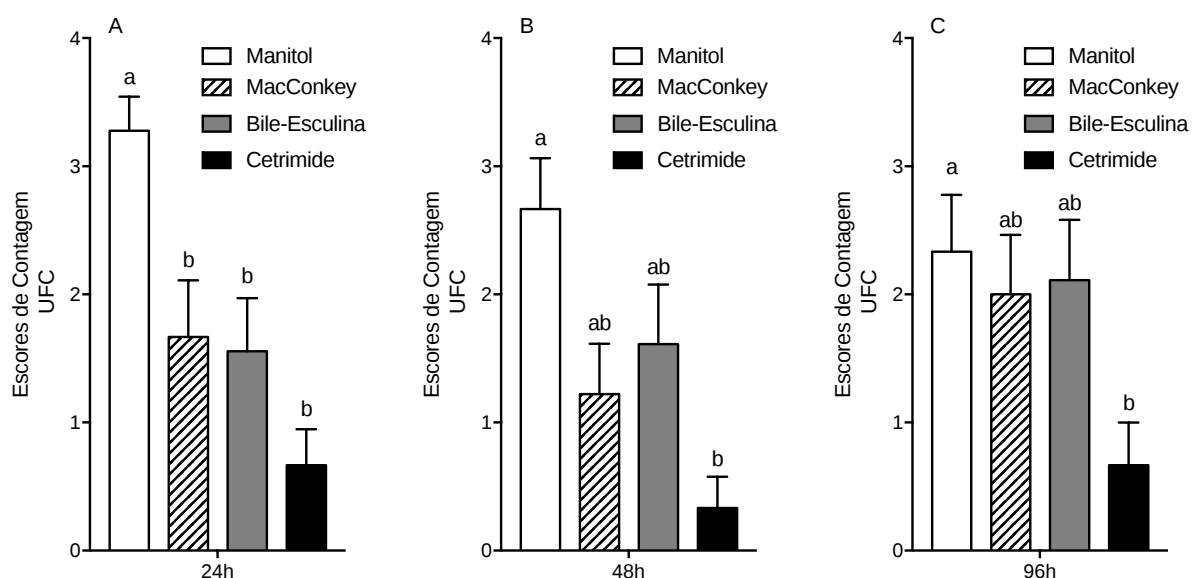
Gráfico 6 – Distribuição dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias que cresceram no meio Manitol sal (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) de pacientes com intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação. Diferença não significativa nos períodos avaliados ($p>0,05$, teste de *Friedman*). Pontos representam cada paciente, linhas representam a média e o desvio padrão.



FONTE: A autora.

O Gráfico 7 faz uma comparação entre os três tempos de coleta e do escore das unidades formadoras de colônias do meio MacConkey. Não foi obtido diferença significativa.

Gráfico 8 – Média e erro padrão dos escores de contagem de unidades formadoras de colônias (0. ausência; 1. raras; 2. algumas; 3. moderadas; 4. acentuadas) obtidos com diferentes meios de cultura de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva após 24h, 48h e 96h da intubação orotraqueal. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os meios em cada tempo experimental ($p < 0,05$ teste de Friedman com pós-teste de Dunn).



FONTE: A autora.

5.4 PRESENÇA DOS MICRORGANISMOS AVALIADOS NOS TRÊS TEMPOS DE COLETA

O crescimento bacteriano que ocorreu nos três momentos da coleta com as características macroscópicas pertinentes para cada meio foi realizado testes bioquímicos e através deles, verificada a confirmação dos microrganismos selecionados para a pesquisa.

Das colônias negras que tiveram crescimento em meio Bile esculina foi observado que o percentual da sua presença em cavidade bucal caiu da primeira coleta em relação aos dois tempos posteriores (Quadro 2).

Quadro 2 – Análise do percentual de amostras positivas para *Enterococcus spp.*

Bile esculina com azida			
Tempo	Total de amostras	Total de resultados + para <i>Enterococcus sp.</i>	Porcentagem
24	10	5	50%
48	10	2	20%
96	14	3	21%

FONTE: A autora.

Das colônias que cresceram em meio Cetrimide (*Pseudomonas aeruginosa*) foi observado que o percentual da sua presença em cavidade bucal, ao contrário do *Enterococcus spp.*, aumentou a medida que o tempo também aumentou (Quadro 3).

Quadro 3 – Análise de amostras positivas para *Pseudomonas aeruginosa*

Cetrimide			
Tempo	Total de amostras	Total de resultados + para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Porcentagem
24	7	1	14 %
48	4	1	25 %
96	3	1	33 %

FONTE: A autora.

Já no Manitol sal a presença do *Staphylococcus aureus* manteve-se praticamente igual nos três tempos, como visto no Quadro 4.

Quadro 4 – Análise de amostras positivas para *Staphylococcus aureus*

Manitol sal			
Tempo	Total de amostras	Total de resultados + para <i>Staphylococcus aureus</i>	Porcentagem
24	31	7	22 %
48	34	7	20 %
96	23	4	17 %

FONTE: A autora.

Por fim, no meio MacConkey, representado no Quadro 5, a *Escherichia coli* faz semelhança com os percentuais verificados com o *Enterococcus spp.*, ou seja, mais encontrados no tempo de 24 horas do que nos tempos de 48 e 96 horas.

Quadro 5 – Análise de amostras positivas para *Escherichia coli*

MacConkey			
Tempo	Total de amostras	Total de resultados + para <i>Escherichia coli</i>	Porcentagem
24	4	0	0%
48	6	1	17%
96	7	2	18%

FONTE: A autora.

5.5 ANÁLISE DA SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA BACTERIANA

Conforme o Apêndice H, que mostra os resultados dos antibiogramas realizados nas amostras clínicas dos vinte pacientes, algumas informações são relevantes para se analisar os resultados:

- Para as taxas de resistência dos isolados clínicos que obtiveram sensibilidade intermediária (I) foram então considerados como resistentes (R);
- A taxa de resistência 0 (zero) significa que a amostra foi sensível.

Diante disso, pode-se tomar como resultados:

Tabela 4 – Taxa de resistência antimicrobiana para *Enterobacteriaceae* conforme tempo de hospitalização.

Antibiograma <i>Enterobacteriaceae</i>	24 horas	48 horas	96 horas
Ampicilina	100	100	100
Cefazolina	100	100	100
Gentamicina	25	0	33,3
Levofloxacina	25	0	33,3
Cefalotina	100	100	83,3

FONTE: A autora.

Diante da Tabela 4, nota-se que as taxas de resistência para ampicilina e cefazolina se mantiveram constantes nos três períodos avaliados (tempos 24, 48 e 96 horas). As taxas para gentamicina e levofloxacina reduziram de 25% para 0 e em 96 horas, a resistência aumenta para 33,3%, a medida que também aumentou o tempo de hospitalização. Já a cefalotina apresentou pequena redução da resistência no tempo de 96 horas, pois nos tempos de 24 e 48 horas a resistência foi de 100%.

Tabela 5 – Taxas de resistência antimicrobiana para *Pseudomonas aeruginosa* conforme tempo de hospitalização.

Antibiograma <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24 horas	48 horas	96 horas
Ceftazidina	0	100	100
Gentamicina	0	100	0
Tobramicina	0	100	0
Piperacilina-tazobactam	0	100	100

FONTE: A autora.

Segundo analisado na Tabela 5, no tempo inicial (24 horas) não foi observado resistência para os antimicrobianos testados. Entretanto, no tempo de 48 horas ocorreu aumento das taxas de resistência de todos os antimicrobianos para 100%. Em relação ao tempo de 96 horas, o microrganismo se mantém com 100% de resistência a ceftazidina e a piperacilina-tazobactam, mas se torna novamente sensível a gentamicina e a tobramicina.

Tabela 6 – Taxas de resistência antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* conforme o tempo de hospitalização.

Antibiograma <i>Staphylococcus aureus</i>	24 horas	48 horas	96 horas
Eritromicina	57,1	33,3	75
Clindamicina	42,9	83,3	50
Penicilina	100	33,3	75
Oxacilina	14,3	66,7	75
Cotrimazol	0	16,7	0

FONTE: A autora.

Para a Tabela 6, na oxacilina (MRSA), observou-se um aumento nas taxas de resistência antimicrobiana diretamente proporcional em relação ao tempo de hospitalização, no primeiro tempo (24 horas) foi de 14,3%, no segundo tempo (48 horas) de aproximadamente 67% e no terceiro tempo (96 horas) para 75%.

A penicilina apresenta resistência de 100% no tempo de 24 horas, diminuindo para 33,3% nas 48 horas e depois sofre um aumento considerável para 75% no tempo de 96 horas. Já a eritromicina também apresenta dados semelhantes a penicilina, aproximadamente 57% de resistência nas primeiras 24 horas, caindo para 33,3% nas 48 horas e aumentando para 96 horas uma resistência de 75%.

A clindamicina apresentou quase 43% nas primeiras 24 horas, depois teve um grande aumento para 83,3% em 48 horas, mas decaiu para 50% a resistência em 96 horas.

E o cotrimazol apenas apresentou diferença no tempo de 48 horas, os demais tempos foram apenas de sensibilidade antimicrobiana.

Tabela 7 – Taxas de resistência antimicrobiana para *Enterococcus spp.* conforme o tempo de hospitalização.

Antibiograma para <i>Enterococcus spp.</i>	24 horas	48 horas	96 horas
Ampicilina	40	100	0
Penicilina	40	50	33,3
Levofloxacina	20	0	0
Vancomicina	40	0	0
Linezolida	60	0	0

FONTE: A autora.

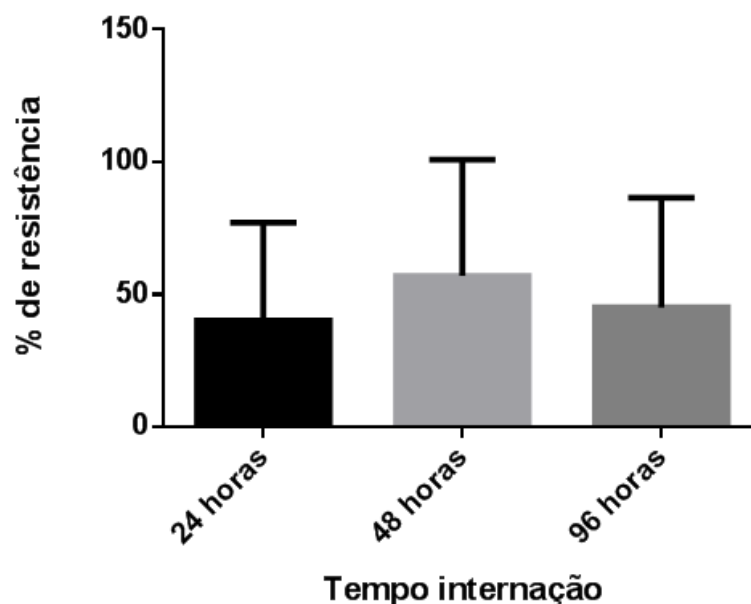
Para *Enterococcus spp.*, representado na Tabela 7, foi observado que para os antimicrobianos levofloxacina, vancomicina e linezolida, com valores respectivos de 20%, 40% e 60% no tempo de 24 horas, entretanto para os tempos de 48 e 96 horas todos apresentaram resistência de 0%.

A ampicilina mostrou-se com resistência de 40% no tempo de 24 horas, de 100% no tempo de 48 horas e redução para 0% no tempo de 96 horas.

E a penicilina, como a ampicilina, também iniciou com 40% no tempo de 24 horas, entretanto em 48 horas ela ficou com resistência de 50%, e em 96 horas ficou com uma resistência de 96 horas, sendo o único antimicrobiano testado para o *Enterococcus spp.* que apresentou certa resistência no tempo de 96 horas.

No gráfico 9, foi realizada a comparação das taxas de resistência de todos os microrganismos testados nos três diferentes tempos, e desta maneira, pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre as taxas nos diferentes tempos.

Gráfico 9 – Comparação das taxas de resistência observada para todas as bactérias isoladas nos diferentes tempos.



FONTE: A autora.

5.6 PARÂMETROS CLÍNICOS

5.6.1 Associação da presença das bactérias avaliadas com a presença de diagnóstico de PAV nos pacientes em uso de IOT na UTI pelo HURCG

Foi verificado com base no Apêndice G, que dos vinte pacientes estudados, sete apresentaram confirmação de pneumonia nosocomial ou sepse de foco pulmonar devido à pneumonia nosocomial, pelo hospital que se encontravam internados. Essa informação nos mostra que 35% dos pacientes com intubação orotraqueal apresentaram Pneumonia associada à ventilação mecânica na UTI.

Além disso, dos sete pacientes diagnosticados com PAV, cinco apresentaram microrganismos na cavidade bucal, com uma representação de 71%, sendo quatro pacientes com a presença de *Staphylococcus aureus* e um com *Pseudomonas aeruginosa*.

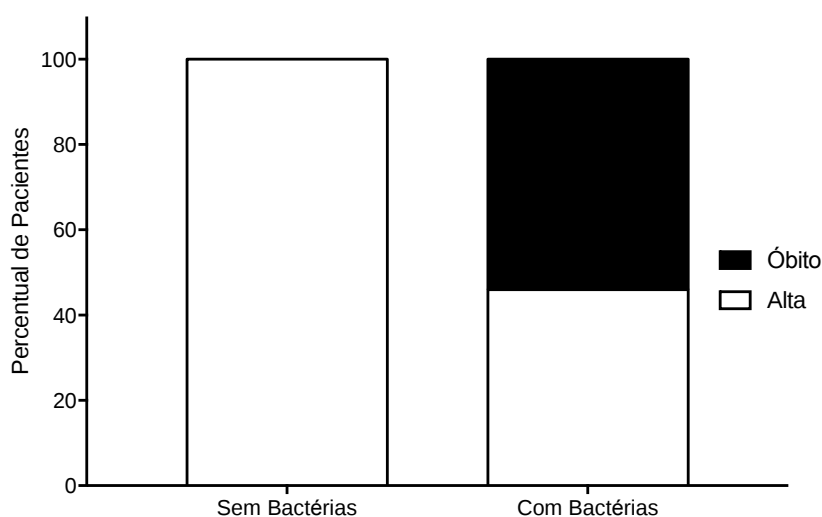
5.6.2 Associação da presença das bactérias avaliadas com a mortalidade do paciente em uso de IOT em UTI

O Gráfico 10 apresenta uma associação entre a presença de microrganismos (com bactérias) e ausência de microrganismos (sem bactérias) com a evolução do quadro clínico do paciente em alta ou óbito.

Através do gráfico pode-se verificar que acontece uma associação significativa entre a presença de bactérias presentes na cavidade bucal com o aumento do percentual de óbitos. Da mesma maneira que o percentual de altas hospitalares está diretamente relacionado com a ausência das bactérias.

Os dados analisados por esse gráfico podem ser observados no Apêndice F.

Gráfico 10 – Percentual de pacientes que tiveram alta ou óbito de acordo com a ausência ou presença de bactérias cavidade bucal durante o período de intubação orotraqueal em Unidade de Terapia Intensiva. *Associação significativa ($p=0,044$, teste Exato de Fisher).



FONTE: A autora.

Através dos resultados obtidos sugere-se forte relação de que a microbiota bacteriana bucal pode estar associada à mortalidade de pacientes em uso da IOT na UTI.

6 DISCUSSÃO

Das Infecções Hospitalares, a Pneumonia associada à ventilação mecânica é a segunda mais prevalente, só ficando atrás da infecção urinária. Ela possui a maior taxa de mortalidade e está diretamente relacionada com o uso de dispositivo para ventilação mecânica, a intubação orotraqueal, para possibilitar a respiração artificial, pois o paciente por algum fator não consegue realizá-la sozinho (WOSKE et al, 2001).

Para Pottera (1999); Bergmans et al (2001) e Mojon, 2002, em torno de 50% dos indivíduos saudáveis aspiram a colonização de microrganismos de sua orofaringe quando estão dormindo e essa porcentagem aumenta em pacientes com rebaixamento nível de consciência, com desordens crônicas na garganta, que utilizam sedativos, com intubação orotraqueal ou com sonda nasogástrica. Estudo de Agarwal et al (2006) relataram que das 77 infecções nosocomias de uma UTI, a PAV correspondeu a 23%. Em outro estudo no mesmo ano, das infecções 31% eram de pneumonia (ANDRADE; LEOPOLDO; HASS, 2006). Ainda tiveram relatos na literatura de prevalência de infecção na Unidade de Terapia Intensiva de 31%, sendo o sítio de maior ocorrência, com quase 60%, o sistema respiratório (BARTLETT et al, 2000; TOUFEN et al, 2003; AGARWAL et al, 2006). Já a pesquisa realizada nesse trabalho mostrou que dos 20 pacientes em uso de IOT, a taxa de PAV foi de 35%, percentual bastante semelhante às pesquisas citadas, e, na unidade hospitalar estudada, é a IRA mais preocupante para o setor do NUCIH, por ser uma doença com altas taxas de morbidade e mortalidade.

6.1 CRESCIMENTO BACTERIANO ENTRE PACIENTES DENTADOS E DESDENTADOS

Em relação à comparação da cavidade bucal de dentados e desdentados, não foi encontrado na literatura artigos que se referem a qual grupo apresenta maior quantidade de colônias bacterianas. Neste trabalho verificou-se que se comparados os três tempos de coleta, no tempo de 96 horas os pacientes desdentados apresentaram diferença significativa em relação aos dentados. Esse

dados sugere que essa condição pode ser devido aos pacientes desdentados apresentarem com o passar do tempo de internação, maior debilitação do seu sistema imune, e, conseqüentemente, facilitando desta forma, maior proliferação de microrganismos em seu organismo.

6.2 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA DOS DIFERENTES MEIOS UTILIZADOS E EM RELAÇÃO AO TEMPOS DE COLETA

Para a análise semi-quantitativa dos meios analisados, não foi encontrada na literatura pesquisas comparando o crescimento bacteriano em três tempos de coleta. Neste estudo foi verificado que se comparados os quatro meios: Cetrimide, Bile esculina com azida, Manitol sal e MacConkey, o meio Manitol sal é o meio de cultura que sempre apresenta maior crescimento bacteriano, se destacando dos demais meios no tempo de 24 horas principalmente, com uma diferença significativa de todos os meios. Ou seja, o microrganismo que mais cresce desde o início nos pacientes com uso de IOT é o *Staphylococcus aureus*.

Pode-se dizer ainda que, tanto pela análise semi-quantitativa, como pelas culturas confirmadas pelo hospital, que a maioria dos casos de PAV na instituição foram decorrentes do microrganismo *Staphylococcus aureus*, pois na análise semi-quantitativa ele se mostra em diferença significativamente maior que as demais bactérias nos tempos de coleta de 24 horas para todos os meios, e na coleta de 48 e 96 horas com diferença significativa para o meio Cetrimide (*Pseudomonas aeruginosa*). Diferentemente de outros três estudos, a *Pseudomonas aeruginosa* é o patógeno mais comum da PAV (EVANS et al, 2018; RHOEDES et al, 2018; PACE, 2007). Entretanto, outros estudos referem que *Staphylococcus coagulase-negativo* foi a bactéria mais frequente (36%), seguido do *Staphylococcus aureus* (19%), com a maioria apresentando resistência a oxacilina (ANDRADE; LEOPOLDO; HASS, 2006; HORIBA et al, 1995; BERNADS et al., 1998).

6.3 ALTERAÇÃO E PRESENÇA DOS MICRORGANISMOS

Relacionando os microrganismos causadores da PAV, a pesquisa de David (1998) os patógenos comumente causadores de PAV foram *Pseudomonas spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* E ainda ressalta que essas infecções envolvem uma microbiota mista, de bactérias aeróbias e anaeróbias, conseqüentes da aspiração de infecções bucais, e colonização das vias aéreas superiores (entre o tubo endotraqueal e o espaço da parede da traqueia) (DAVID, 1998; MACIQUEZ et al, 2002; NOOR; HUSSAIN, 2005).

Por outro estudo, os microrganismos predominantes foram: (34%) *Enterococcus spp.* (26%) *Pseudomonas aeruginosa* e (17%) *Staphylococcus aureus* (TOUFEN et al, 2003). Outros estudos realizados por Evans et al (2018) e Rhoades et al (2018), mostram que os microrganismos mais relacionados com a PAV são bacilos gram-negativos, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter*, e cocos gram-positivos, como *Staphylococcus aureus* (PACE, 2007).

Na UTI do HURCG, os microrganismos mais encontrados causando a PAV são *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Pode-se confirmar com o presente trabalho que existe realmente relação da PAV com esses microrganismos.

Em vários estudos de Kington (1960, 1962, 1965) e Zelante et al. (1982) mostraram a importância da cavidade bucal como reservatório de *Staphylococcus aureus*. Outros autores ainda afirmam que o *Staphylococcus spp.*, não são isolados na cavidade bucal, e, quando isso ocorre eles são considerados microbiota transitória. Em indivíduos imunocomprometidos a presença destes microrganismos é bastante preocupante e também se verifica que pacientes com doença periodontal têm possíveis reservatórios destes microrganismos na cavidade bucal (VAN WINKELHOFF; RAMS; SLOTS, 1996; DAHLÉN; WIKSTROM, 1995; LISTGARTEN; LAI, 1999).

6.4 RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS

Com o grande impacto da utilização da antibioticoterapia, houve um avanço na compreensão da forma correta de utilização, bem como na utilização adequada (CARITHERS, 1974; BELTRÁN, 2003). Entretanto, o uso inapropriado dos antibióticos é uma dos fatores mais importantes no desenvolvimento e aumento da resistência de microrganismos e um problema alarmante, de grande importância clínica nas UTIs (FONSECA, CONTERNO, 2004). A ocorrência de sepse e do aumento da mortalidade aumentam de 56 a 78% quando o antibiótico utilizado não é apropriado (LEONE et al, 2003).

Com a utilização desenfreada dos antibióticos, os microrganismos *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* e *Pseudomonas spp.* tiveram modificações na sua estrutura, o que levou a resistência de determinadas cepas, causando preocupação para os profissionais de saúde e grandes dificuldades na terapêutica anti-infecciosa (TAVARES, 2000).

Dentre as prescrições médicas realizadas na UTI para os pacientes que apresentaram PAV, os antibióticos são 50% (CRAVEN et al, 1986) e outro estudo comparou que 63% dos pacientes intubados utilizam prescrições de antimicrobianos comparados com 43% daqueles que usam tubo endotraqueal (BERGAMNS, 2001). No presente estudo, o *Staphylococcus aureus* se mostrou, conforme as coletas foram sendo realizadas, resistência à oxacilina, fato de extrema importância para o diagnóstico de MRSA, que aumenta grandemente as chances de mortalidade. Além disso, a *Pseudomonas aeruginosa* também apresentou aumento de sua resistência conforme as coletas foram sendo realizadas, levando o único paciente positivo para essa bactéria ao óbito.

6.5 MORTALIDADE RELACIONADA COM A PRESENÇA DE MICRORGANISMOS

Associa-se que a mortalidade de pacientes ventilados por tempo superior a 48 horas é de 20 a 25%, e vai aumentando 1% por cada dia a mais na VM. Em diferentes estudos a mortalidade relacionada com a VM varia de 30 a 70% (ARANCIBIA, 2000; FAGON, 1993).

Em relação às taxas de mortalidade, um estudo mostrou que a PAV apresenta taxa de mortalidade hospitalar para pacientes ventilados com PAV a 46% em comparação a 32% daqueles ventilados, porém sem PAV (IBRAHIM et al, 2001).

Outro estudo, realizado com uma amostra de 68 indivíduos mostrou uma taxa de óbito de 48% (PACE, 2007). No levantamento das UTIs do estado de São Paulo, pesquisa realizada entre junho a agosto de 1997, a taxa de mortalidade foi de 28% (CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA, 2000; GARCIA, et al. 2007). E em mais uma literatura, de Andrade; Leopoldo; Hass, (2006), evidenciaram que de 69 pacientes, 51% evoluíram para óbitos. Já no presente estudo, em relação aos dados encontrados para mortalidade, verificou-se que aproximadamente 45% dos pacientes com microrganismos identificados como causadores de PAV foram a óbito, mostrando que existe uma associação significativa entre os microrganismos estudados e o aumento da taxa de mortalidade. Essa associação possui inúmeros fatores envolvidos e que devem ser estudados detalhadamente como a idade do paciente, doença de base, resistência bacteriana, condições hospitalares, dentre outros, para que possa se estabelecer uma relação mais detalhada do que realmente leva o paciente ao óbito.

Por essa razão a literatura recomenda que a higienização bucal de pacientes com nível de consciência rebaixado ou debilitados em VM seja realizada frequentemente, além de evitar o ressecamento das mucosas da boca. Faz-se necessário a presença do cirurgião-dentista que poderá identificar os danos causados por intubação orotraqueal, especificar técnicas para a higiene bucal, a necessidade de antissépticos, saliva artificial para paciente com redução de fluxo salivar e aplicação de laser de alta potência em lesões como aftas, herpes, etc (WOLFF et al, 1983; POTTER; PERRY, 1997). A literatura também frisa pela importância da existência de um protocolo que facilite o cuidado bucal de pacientes críticos por parte da equipe multiprofissional (MCNEILL, 2000; DESVARIEUX et al, 2003; ALLEN et al, 2004; CUTLER; DAVIS, 2005).

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nas condições estabelecidas na metodologia empregada, pôde-se concluir que:

- a) Pacientes dentados e pacientes desdentados em uso de IOT em UTI não apresentaram diferença significativa entre a quantidade de microrganismos presentes na cavidade bucal;
- b) Não houve diferença significativa entre os três tempos de coleta para nenhum dos quatro meios utilizados; e comparando os meios entre si no mesmo tempo de coleta, houve diferença significativa: em 24 horas o meio Manitol mostrou diferença com os outros três meios, e tanto em 48 quanto 96 horas o meio Manitol mostrou diferença significativa com o meio Cetrimide, porém MacConkey e Bile esculina não mostraram diferença significativa;
- c) Na análise descritiva dos resultados dos testes bioquímicos, verifica-se que tanto o *Enterococcus spp.* quanto a *Escherichia coli* foram mais encontrados no tempo 24 horas, a *Pseudomonas aeruginosa* aumentou com o tempo e o *Staphylococcus aureus* se manteve proporcional em todas as coletas;
- d) Em relação à resistência bacteriana de todos os microrganismos avaliados, não houve diferença significativa em comparação dos tempos de coleta;
- e) E em relação aos parâmetros clínicos, houve 35% de casos de PAV nos pacientes com IOT. Já na associação da presença dessas bactérias com a alta ou óbito, mostrou-se que pode ter uma associação da relação óbito com a presença de bactérias, e da alta hospitalar com a ausência delas na cavidade bucal dos pacientes.

Perante os dados obtidos, pode-se concluir que é de suma importância a inserção do cirurgião-dentista na equipe interdisciplinar das unidades hospitalares, principalmente da UTI, para reduzir as taxas de mortalidade associada com a presença de bactérias patogênicas na cavidade bucal.

REFERÊNCIAS

- AGARWALL, R. et al. Epidemiology, risk factors and outcome of nosocomial infections in a Respiratory Intensive Care Unit in North India. **J. Infect.**, v. 53, n. 2, p. 98-105, 2006.
- AGUIAR, M. C. A. **Eficácia de medidas de higiene bucal sobre a microbiota oral potencialmente patogênica para pneumonia aspirativa em idosos residentes em instituições de longa permanência.** [Dissertação de Mestrado em Saúde Coletiva]. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, p. 1-103, 2008.
- ALLEN, F. L. Factors affecting quality of oral care in intensive care units. **J. Adv. Nurs**, v. 48, n. 5, p. 454-62, 2004.
- ALTHERTUM, F. **Microbiologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2015.
- ÁLVAREZ-LERMA, F.; SANCHEZ GARCIA, M. The multimodal approach for ventilator-associated pneumonia prevention - requirements for nationwide implementation. **Ann. Transl. Med.**, v. 6, n. 420, 2018.
- AMARAL, S. M.; CORTES, A. Q.; PIRES, F. R. Nosocomial pneumonia: importance of the oral environment. **J. Bras Pneumol**, v. 35, n. 11, p. 1116-24, 2009.
- AMARAL, C. O. F. Importance of dentist on intensive care unit: multidisciplinary analysis. **Rev assoc paul cir dent**, v. 67, n.2, p. 107-11, 2013.
- ANDRADE, D.; LEOPOLDO, V. C.; HAAS, V. J. Ocorrência de bactérias multirresistentes em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. **Rev. Bras. Ter. Int.**, v. 18, n. 1, p. 31-7, 2006.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Descrição dos Meios de Cultura empregados nos Exames Microbiológicos**. Módulo 4, p.1-66, 2004.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica**. Módulo 5, p.1-95, 2004.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica**. Módulo 5, p. 16, 2004.
- ANVISA **Legislação e Criação de um Programa de Prevenção e Controle de Infecção Hospitalar (Infecção Relacionada à Assistência à Saúde – IRAS)**. Módulo 1, p.1-52, 2004.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medidas de prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Série: Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde, v. 4, p. 01-87, 2013.

APOSTOLOPOULOU, E. et al. Incidence and risk factors for ventilator-associated pneumonia in 4 multidisciplinary intensive care units in Athens. **Greece. Respir. Care.** v. 48, p. 681–688, 2003.

ARANCIBIA, H. F. et al. Diagnóstico de neumonía asociada a ventilación mecánica. **Rev Chil Infect**, v. 18, n. 2, p. 41-57, 2001.

ARANEGA, A. M. et al. Qual a importância da odontologia hospitalar? **Rev. bras. odontol.**, v. 69, n. 1, p. 90-3, 2012.

BARTLETT, J. G. et al. Practice guidelines for management of community – acquired pneumonia in adults. **Clin. Inf. Dis.**, v. 31, p. 347-82, 2000.

BELDA-FERRE, P. et al. The oral metagenome in health and disease. **ISME J**, v. 6, n. 1, p. 46-56, 2012.

BELTRÁN, B. C. Antimicrobianos em Unidades de Cuidados Intensivos: formas de administracion. **Rev. Child. Infect.**, v. 20, p. 80-86, 2003.

BERGMANS, D. C. J. J. et al. Prevention of ventilator-associated pneumonia by oral decontamination: A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Am. J. Resp. Crit. Care Med**, v. 164, n. 3, p. 382-388, 2001.

BERNADS, A. T. et al. Methicilin – resistance *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii*: an unexpected difference in epidemiologic behavior. **Am. J. Infect. Control.**, v.26, n. 6, p. 554-551, 1998.

BERRY, A. M.; DAVIDSON, P. M. Beyond comfort: oral hygiene as a critical nursing activity in the intensive care unit. **Int. Crit. Care Nurs.**, v. 22, p. 318-328, 2006.

BIRLUTIU, V.; BIRLUTIU, R. M.; COSTACHE, V. S. Endocardite infecciosa estreptocócica de Viridans associada a aparelho ortodôntico fixo, gerenciado cirurgicamente por valva mitral: relato de caso. **Baltimore**, v. 97, n. 27, 2018.

BRANDÃO, D. F.; SILVA, A. P. G.; PENTEADO, L. A. M. Bidirectional relationship between periodontal disease and diabetes mellitus. **Odontol. Clín.-Cient.**, v.10, n, 2, p.117-120, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2612 de 12 de maio de 1998**. Dispõe a obrigatoriedade da manutenção pelos hospitais, de programas de controle de infecções hospitalares. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 1998.

BREIDENSTEIN, E. B. M.; De la FUENTE-NUNEZ, C.; HANCOCK, R. E. W. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. **Trends Microbiol**, v. 19, p. 419-426, 2011.

BRUNETTI, M. C. et al. **Periodontia Médica: Uma abordagem integrada**. São Paulo: SENAC, p. 626, 2003.

BURGOS, J.; FALCÓ, F.; ALMIRANTE, B. Farmacoterapia química para pneumonia hospitalar em idosos, **Reveja**, p. 4230-434, 2019.

CAI, J. C. et al. Deteccion of KPC-2 and qnrS1 in clinical isolates of *Morganella morganii* from China. **Diagn Microbiol and Infect Dis**, v. 73, n. 2, p. 207-9, 2012.

CARCERERI, D. L. et al. Formação em Odontologia e interdisciplinaridade: o Pró-Saúde da UFSC. **Revista da ABENO**, v. 11, n. 1, p. 62-70, 2011.

CARINCI, F et al. Focus on periodontal disease and development of endocarditis. **Journal of biological regulators & homeostatic agentes**, v. 32, n. 2, p. 143-147, 2018.

CARITHERS, H. The first use of an antibiotic in America. **Am. J. Dis. Child**, v. 128, p. 207-211, 1974.

CARVALHO, C. R. R. Pneumonia associada à ventilação mecânica. **J Bras Pneumol.**, v. 32, n. 4, p. 20-22, 2006.

CASSIAN, T. M. A enfermagem e o controle da infecção cruzada. **RBen**, v. 30, p. 412-422, 1977.

CECCATO, A. et al. Lymphocytopenia as a predictor of mortality in patients with ICU-Acquired Pneumonia. **J. Clin. Med**, v. 8, n. 843, p. 1-11, 2019.

CHO, I.; BLASER, M. J. The human microbiome: at the interface of health and disease. **Nat Rev Genet**, v. 13, n.4, p. 260-270, 2012.

CHOW, J. et al. Host-bacter ial symbiosis in health and disease. **Adv Immunol**, v. 107, n.1, p. 243-274, 2010.

CILLO, J. E. The development of hospital dentistry in America – the first one hundred years (1850-1950). **J Dent**, v. 44, p. 105-109, 1996.

CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. Código de Ética. **Resolução CFO-42 de 20 de maio de 2003**. Disponível em: www.cfo.org/download/pdf/codigo_etica.pdf. Acesso em: 20 de maio de 2019.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA. **Avaliação dos serviços de terapia intensiva na estado de São Paulo**. 1997-1998. São Paulo, p. 47-48, 2000.

CORREA, S. **A interdisciplinaridade no contexto do tratamento de saúde do paciente internado na pediatria do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Tiago**. [Trabalho de Conclusão de Curso em Mestrado em Serviço Social]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, p. 1-88, 2011.

CRAVEN, D. E. et al. Risk factors for pneumonia and fatality in patients receiving continuous mechanical ventilation. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 133, n. 5, p. 792-796, 1986.

CRUM, N. F. et al. Estudo de quinze anos sobre a evolução da epidemiologia do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Am J Med**. v. 119, p. 943-951, 2006.

CUNHA-CRUZ, J.; NADANOVSKY, P. Does periodontal disease cause cardiovascular disease? Analysis of epidemiological evidence. **Cad. Saúde Pública**, v. 19, n. 2, p. 357-368, 2003.

CUTLER, C. J.; DAVIS, N. Improving oral care in patients receiving mechanical ventilation. **Am. J. Crit. Care**, v. 14, n. 5, p. 389-394, 2005.

DAHLÉN, G.; WIKSTROM, M. Occurrence of enteric rods, staphylococcus e candida subgingival samples. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 10, p.42-46, 1995.

DALMORA, C. H. et al. Definindo pneumonia associada à ventilação mecânica: um conceito em (des) construção. **Rev. Bras. Ter. Intensiva**, v. 25, n. 2, p. 81-86, 2013.

DARVEAU, R. P. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. **Nat Rev Microbiol**, v. 8, n. 7, p. 481-490, 2010.

DAVID, C. M. N. Infecção em UTI. **Medicina**, v. 33, p. 337-348, 1998.

DAVID, L. A. et al. Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. **Genome Biol**, v. 15, n. 7, 2014.

DAVIS, B. D. et al. **Microbiology**. 1 ed. New York: Hoeber Medical Division, 1967.

DENNESEN, P. et al. Inadequate salivary flow and poor mucosal status in intubed intensive care unit patients. **Crit. Care. Med**, v. 31, n. 3, p. 781-786, 2003.

DEO, P. N.; DESHMUKH, R. Oral microbiome: Unveiling the Fundamentals. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 23, n. 1, p. 122-128, 2019.

DESVARIEUX, M. et al. Relation between periodontal disease, tooth loss, and carotid artery plaque: the oral infection and vascular disease epidemiology study (INVEST). **STROKE**, v. 34, p. 2120-2125, 2003.

DESVARIEUX, M. et al. Periodontal bacteria and hypertension: the oral infections and vascular disease epidemiology study. **J Hypertens**, v. 28, n.1, p. 1413-21, 2010.

DEWHIRST, F. E. et al. The human oral microbiome. **J Bacteriol**, v. 192, n. 19, p. 5002-5017, 2010.

DHOTRE, S. et al. Assessment of periodontitis and its role in viridans streptococcal bacteremia and infective endocarditis. **Indian Heart Journal**, v. 70, n. 1, p. 225-232, 2018.

DIAZ, M. M. O. **Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica em pacientes adultos internados nas Unidades de Terapia Intensiva de hospital público e privado, janeiro de 2006 a junho de 2010.** [Dissertação de Pós-graduação em Medicina Tropical]. Brasília: Universidade de Brasília, p. 1-127, 2011.

DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. The microbiome-gut-brain axis in health and disease. **Gastroenterol Clin North Am**, v. 46, n. 1, p. 77-89, 2017.

DONATO, S. T. **Comparação de Métodos Convencionais e Semi-automatizados para identificação de Enterococcus spp. frente à biologia molecular em identificações discrepantes.** [Dissertação de Mestrado em Microbiologia Médica] Fortaleza: Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, p. 1-85, 2007.

DOS SANTOS, C. T. et al. Avaliação da microbiota bucal de pacientes idosos internados em unidade de terapia intensiva e clínica médica hospitalar. **Revista Espacios (Caracas)**, v. 38, n. 3, p. 25, 2017.

EGGIMANN, P.; PITTET, D. Infection control in the ICU. **Chest**, v. 120, p. 2059-2093, 2001.

ENGEL, J.; BALACHANDRAN, P. Role of *Pseudomonas aeruginosa* type III effectors in disease. **Curr Opin Microbiol**, v. 12, p. 61-66, 2009.

EVANS, C. R. et al. Keeping it Simple: Impact of a Restrictive Antibiotic Policy for Ventilator-Associated Pneumonia in Trauma Patients on Incidence and Sensitivities of Causative Pathogens. **Surg. Infect (Larchmt)**, v. 19, n. 7, p. 672-678, 2018.

FABBRI, L.; PAUWELS, R. A.; HURD, S. S. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: GOLD Executive Summary updated 2003. **COPD**, v. 1, n. 1, p. 105-41, 2004.

FAGON, J. Y. et al. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. **Am J Med**, v. 94, p. 291-8, 1993.

FIDEL JUNIOR, R. A. S.; LOURENÇO, R. A.; FISCHER, R. G. A doença periodontal e o idoso frágil. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 12, n. 1, p. 1-14, 2013.

FIONA, Q. B. et al. Association between periodontal pathogens and systemic disease. **Biomedical Journal**, v. 42, n. 1, p. 27-35, 2019.

FONSECA, L. G.; CONTERNO, L. O. Audit of antibiotic use in a Brazilian university hospital. **BJID**, v. 8, n. 4, p. 272-280, 2004.

FORBES, B. A.; SAHM, D. F.; WEISSFELD, A. S. **Diagnostic Microbiology**. 10 ed. Missouri: Mosbi, 1998.

FOURRIER, F. et al. Colonization of dental plaque: a source of nosocomial infections in intensive care unit patients. **Crit Care Med**, v. 26, p. 301-308, 1998.

GALHARDO, T. S. C. et al. Associação de periodontite crônica severa generalizada em pacientes com diabetes melito tipo 2 e dislipidemia grave: Relato de caso. **Braz. J. Periodontol**, v. 25, n.1, p. 46-51, 2015.

GARCIA, M. A. A. et al. A interdisciplinaridade necessária à educação médica. **Revista brasileira de educação médica**, v. 31, n. 2, p. 147-155, 2007.

GARIBALDI, R. A.; BRONDINE, S.; MATSUMIYA, S. Infections among patients in nursing homes: Policies, prevalence and problems. **N. Engl. J. Med.**, v. 305, p. 731-735, 1981.

GLURICH, I. The Oral-Systemic Personalized Medicine Model at Marshfield Clinic. **Oral Dis**, v. 19, n. 1, p. 1-17, 2014.

GODOI, A. P. T. Odontologia hospitalar no Brasil: Uma visão geral. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 2, p. 105-109, 2009.

GOMES, S. F.; ESTEVES, M. C. L. Atuação do cirurgião-dentista na UTI: um novo paradigma. **Rev. bras. odontol.**, v. 69, n. 1, p. 67-70, 2012.

GREENBERG, J. A. et al. Distinct T-helper cell responses to *Staphylococcus aureus* bacteremia reflect immunologic comorbidities and correlate with mortality. **Critical Care**, v. 22, n. 107, p. 1-13, 2018.

GRIFFEN, A. L. et al. Distinct and complex bacterial profiles in human periodont is and health revealed by 16S pyrosequencing. **ISME J**, v. 6, n.6, p. 1176-1185, 2012.

GUIMARÃES, M. M. Q.; ROCCO, J. R. Prevalência e prognóstico dos pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica em um hospital universitário. **J. Bras. Pneumol**, v.32, n.4, p. 339-346, 2006.

HAJISHENGALLIS, G et al. Importance of TLR2 in early innate immune response to acute pulmonary infection with *Porphyromonas gingivalis* in mice. **J Immunol**, v. 181, n. 6, 2008.

HASAN, N. A. et. al. Microbial community profiling of human saliva using shotgun metagenomic sequencing. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, 2014.

HEZEL, M. P.; WEITZBERG, E. The oral microbiome and nitric oxide homeostasis. **Oral Dis**, v. 21, n. 1, p. 7-16, 2015.

HORAN, T. C.; ANDRUS, M.; DUDECK, M. A. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. **Am. J. Infect. Control.**, v. 36, p. 309–332, 2008.

HORIBA, N. et al. Isolation of methicillin-resistant staphylococci in dental operator. **J. Endod.**, v. 21, p. 21-25, 1995.

HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. Structure, function, and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 207-214, 2012.

HUNTER, J. D. Ventilator associated pneumonia. **BMJ**, v. 344, n. 1, 2012.

IBRAHIM, E. H. et al. The occurrence of ventilator-associated pneumonia in a community Hospital. **Chest**, v. 120, n. 2, p. 555-561, 2001.

JOSHI, V. et al. Smoking decreases structural and functional resilience in the subgingival ecosystem. **J Clin Periodontol**, v. 41, n. 11, p. 1037-1047, 2014.

KEANE, S.; MARTIN-LOECHES, I. Host-pathogen interaction during mechanical ventilation: systemic or compartmentalized response? **Critical Care**, v. 23, n. 134, p. 1-7, 2019.

KILIAN, M. et al. The oral microbiome – an update for oral health care professionals. **BRITISH DENTAL JOURNAL**, v. 221, n. 10, p. 657-66, 2016.

KIPNIS, E.; SAWA, T.; WIWNWR-KRONISH, J. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. **Med Mal Infect**, v. 36, p. 78-91, 2007.

KNIGHTON, H. T. Study of bacteriophage patterns of *Staphylococcus* isolated from oral and nasal areas. **J. Dent. Res.**, v. 39, p. 906-911, 1960.

KNIGHTON, H. T. Relative constancy of specific bacteriophage patterns of *Staphylococcus* isolated from oral and nasal areas. **J. Dent. Res.**, v. 41, p. 701-706, 1962.

KNIGHTON, H. T. Coagulase positive of *Staphylococcus* in oral and nasal areas of dental students: a four year study. **J. Dent. Res.**, v. 44, p. 467-70, 1965.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. Rio de Janeiro: MEDSI, ed. 5, 2001.

KRETH, J. et al. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. **J Bacteriol**, v. 187, n. 21, p. 7193-7203, 2005.

KSHIRSAGAR, A. V. et al. Periodontal disease is associated with renal insufficiency in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. **Am J Kidney Dis**, v. 45, n. 1, p. 650-657, 2005.

LABORCLIN. **Kit para Enterobacterias**. Laborclin produtos para laboratórios Ltda.

LAZAREVIC, V. et al. Challenges in the culture-independent analysis of oral and respiratory samples from intubated patients. **Cellular and infection microbiology**, v. 4, n. 65, p. 1-15, 2014.

LEONE, M. et al. Empirical antimicrobial therapy of septic patients: adequacy and impact on the outcome. **Crit. Care. Med.**, v. 31, n. 2, p. 648-650, 2003.

LISTGARTEN, M. A.; LAI, C. H. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally disease teeth. **J. Periodontol.**, v. 70, p. 431-437, 1999.

LIU, Y.; DI, Y.; FU, S. Fatores de risco para pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes submetidos à cirurgia oncológica de grande porte para câncer de cabeça e pescoço. **Frente. Med**, v. 11, p. 239-246, 2017.

M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. ed 29, 2019.

MACHADO, L. G. **Etiologia, fatores de risco e terapia inapropriada em pneumonias associadas à ventilação em pacientes adultos internados em uma unidade de terapia intensiva de um hospital de ensino no Brasil**. [Dissertação de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia] Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, p. 1-63, 2018.

MACIQUEZ, R. et al. Neumonía nosocomial asociada a ventilación mecánica. **Rev Cubana Pediatric**, v. 74, p. 222-32, 2002.

MAHAPATRA, A. et al. Bacteriological profile of ventilator-associated pneumonia in a tertiary care hospital. **Indian J. Pathol. Microbiol.**, v. 61, p. 375-379, 2018.

MARSH, P. D. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. **Adv Dent Res.**, v. 8, n. 2, p. 263-271, 1994.

MARSH, P. D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? **Microbiology**, v. 149, n. 2, p. 279-294, 2003.

MARSH, P. D. In Sickness and in Health – What Does the Oral Microbiome Mean to Us? An Ecological Perspective. **Oral Microbiome in Health and Disease**, v. 29, n. 1, p. 60-65, 2018.

MCNEILL, H. E. Biting back at poor oral hygiene. **Int. Crit. Care Nurs.**, v. 16, p. 367-372, 2000.

MILLER, D. P. et al. Transcriptome analysis of *Porphyromonas gingivalis* and *Acinetobacter baumannii* in polymicrobial communities. **Mol Oral Microbiol**, v. 33, n. 1, p. 364-377, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Técnicas de Coloração de Gram**. Brasília: Secretaria de Políticas de Saúde/Programa Nacional de DST e AIDS, p. 1-67, 2001.

MIRA, A.; SIMON-SORO, A.; CURITS, M. A. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. **J Clin Periodontol**, v. 44, n. 18, p. 23-38, 2017.

MIRTALAEI, N. et al. Efficacy of antibiotic prophylaxis against ventilator-associated pneumonia. **J. Hosp. Infect.**, v. 101, p. 272–275, 2019.

MOJON, P. Orl health and respiratory infection. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 68, n. 6, p. 340-345, 2002.

MORAIS, T. M. N. et al. Importância da atuação odontológica em pacientes internados em unidades de terapia intensiva. **Rev Bras Terap Int**, v. 18, n.4, p.412-427, 2006.

MURRAY, P. R. et al. **Manual of clinical microbiology**. Washington: American Society for Microbiology, ed. 7, 1999.

NEWPROV, **Mini-Kit para Enterobactérias**. 10 provas. Sistema para identificação de Enterobactérias, 2015.

NOOR, A.; HUSSAIN, F. Risk factors associated with development of ventilator associated pneumonia. **J Coll Physicians Surg Pak**, v. 15, p. 92-5, 2005.

OCHOA, S. A. et al. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. **Bol Med Hosp Infant Mex**, v. 70, n.2, p.138-150, 2013.

OPLUSTIL, C. P. et al. **Microbiologia Clínica**. 2 ed. São Paulo: SAVIER, 2004.

PACE, M. A. **Avaliação clínica e microbiológica da cavidade bucal de pacientes críticos com entubação orotraqueal de um hospital de emergência**. [Dissertação de Mestrado em Enfermagem]. Ribeirão Preto: EERP-USP, p.108, 2007.

PALLASCH, T. J. Global antibiotic resistance and its impact on the dental community. **J. Calif. Dent. Assoc.**, v. 28, p. 251-233, 2000.

PAPAKRIVOU, E. et al. Intra-abdominal Hypertension causes bacterial growth in lungs: an animal study. **BioMed Research International**, v. 1, n. 1, 2017.

PILONETTO et al. Hospital gowns as a vehicle for bacterial dissemination in an intensive care unit. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 8, n. 3, p. 206-210, 2004.

PINEDA, L. A.; SALIBA, R. G.; SOLH, A. A. Effect of oral descontamination with clorexidine on the incidence of nosocomial pneumonia: meta-analysis. **Crit. Care**, v. 10, n.1, p. 206-210, 2006.

PINHEIRO, P. G. et al. Perfil periodontal de indivíduos adultos traqueostomizados com pneumonia nosocomial. **Periodontia**, v. 17, n. 3, p. 67-72, 2007.

PIOCHI, B. J. A.; ZELANTE, F. Contribuição para o estudo de Staphylococcus isolados da cavidade bucal. III Isolados da placa dental. **Rev. Fac. Odont.**, v. 13, p. 91-98, 1975.

PITTET, D.; DONALDSON, L. Challenging the world: Patient safety and health care associated infection. **International Journal for Quality in Health Care**, v. 18, n. 1, p. 4-8, 2006.

POTERA, C. Forging a let between biofilms and disease. **Scien.**, v. 283, p. 1837-1839, 1999.

POTTER, A. P.; PERRY, A. G. **Fundamentos de Enfermagem**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

PRODAN, A.; LEVIN, E.; NIEUWDORP, M. Does diseases start in the mouth, the gut or both? **eLife**, v. 8, n. 1, 2019.

RABELO, G. D.; QUEIROZ, C. I.; SANTOS, P. S. S. Atendimento odontológico ao paciente em unidade de terapia intensiva. **Arq Med Hosp Fac Cien Med Santa Casa São Paulo**, v. 55, n. 2, p. 67-70, 2010.

RANZANI, O. et al. Invasive and non-invasive diagnostic approaches for microbiological diagnosis of hospital-acquired pneumonia. **BMC**, v. 23, n. 51, 2019.

RASIAH, I. A.; ANDERSON, S. A.; SISSONS, C. H. Variation in bacterial corresponding dental plaque microcosms. **Arch Oral Biol.**, v. 50, n. 9, p. 779-787, 2005.

RELMAN, D. A. The human microbiome: ecosystem resilience and health. **Nutr Rev**, v. 70, n. 1, p. 2-9, 2012.

RHOEDES, N. J. et al. Resistance trends and treatment options in pneumonia associated with gram-negative mechanical ventilation. **Curr. Infectar. Dis. Rep.**, v. 20, n. 3, 2018.

RODRIGUES-ANGELES. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. **Salud pública de México**, v. 44, n. 5, 2002.

RODRIGUES, M. M.; REIS, S. M. A. S. A interdisciplinaridade e a integração no ensino odontológico: reflexos sobre o perfil profissional em relação às reais demandas da maioria da população por atenção odontológica. **EM EXTENSÃO**, v. 4, n. 1, p. 20-27, 2004.

ROSIER, B. T.; MARSH, P.D.; MIRA, A. Resilience of the Oral Microbiota in Health: Mechanisms That Prevent Dysbiosis. **Journal of Dental Research**, v. 97, n. 4, p. 371-380, 2018.

RYDER, C.; BYRD, M.; WOZNIAK, D. J. Role of polysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. **Curr Opin Microbiol**, v. 10, p. 644-648, 2007.

SANTOS, P. S. et al. Uso de solução bucal com sistema enzimático em pacientes totalmente dependentes de cuidados em unidade de terapia intensiva. **RBTI**, v. 20, p. 154-9, 2008.

SCANNAPIECO, F. A.; STEWART, E. M.; MYLOTTE, J. M. Colonization of dental plaque by respiratory pathogens in medical intensive care patients. **Crit. Care. Med.**, v. 20, n. 6, p. 740-745, 1992.

SCANNAPIECO, F. A. **Relação entre Doença Periodontal e Doenças Respiratórias**. Medicina Periodontal, São Paulo: Santos, 8 ed, p. 3-97, 2002.

SCANNAPIECO, F. A.; BUSH, B. R.; PAJU, S. Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke: A systematic review. **Ann. Periodontol.**, v. 8, n. 1, p. 38-69, 2003.

SCANNAPIECO, F. A.; RETHMAN, M. P. The relationship between periodontal diseases and respiratory diseases. **Dent Today**, v. 22, n. 8, p. 79-83, 2003.

SCANNAPIECO, F. A., ROSSA JÚNIOR, C. **Doenças Periodontais versus Doenças Respiratórias**. Periodontia Médica, São Paulo: Senac, p. 391-409, 2004.

SCHRÖDER, C. et al. Hospital ownership: a risk factor for nosocomial infection rate? **Journal of Hospital Infection**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2018.

SEIBERT, G. et al. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em um hospital escola. **Einstein**, v. 12, n. 3, p. 282-6, 2014.

SILVA, R. F. Infecções fúngicas em imunocomprometidos. **J Bras Pneumol**, v. 36, n. 1, p. 142-147, 2010.

SINHA, A. K. Colorimetric Assay of Catalase. **Analytical biochemistry**, v. 47, p. 389-394, 1972.

SOMMERSTEIN, R. et al. Patterns in the longitudinal oropharyngeal microbiome evolution related to ventilator-associated pneumonia. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 8, n. 81, p. 1-10, 2019.

SONTI, R.; FLEURY, C. *Fusobacterium necrophorum* presenting as isolated lung nodules. **Respir Med Case Rep**, v. 15, p.80-82, 2015.

STEEL, K. J. The oxidase reaction as a taxonomic tool. **J. Gen. Microbiol**, v. 25, p. 297-306, 1961.

STOVER, C. K. et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. **Nature**, v. 406, p. 959-964, 2000.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e de pneumococo aos antimicrobianos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

THATRIMONTRCHAI, A. et al. Outcomes and risk factors of ventilator-associated pneumonia in neonates. **World J. Pediatr**, v. 13, p. 328–334, 2017.

TOREGEANI, J. F. et al. Periodontal disease and atherosclerosis. **J Vasc Bras**, v. 13, n. 3, p. 208-216, 2014.

TOUFEN, J. C. et al. Prevalences rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. **Rev. Hosp. Clin. Med. S. Paulo**, v. 58, n. 5, p. 254-259, 2003.

VAN WINKELHOFF, A. J.; RAMS, T. R.; SLOTS, J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. **Periodontol.**, v. 10, p. 45-78, 1996.

VICENTE, J. L. Nosocomial infections in adult intensive-care units. **Lancet**, v. 36, p. 2068-2077, 2003.

YUAN, T. M.; CHEN, L. H.; YU, H. M. Risk factors and outcomes for ventilator-associated pneumonia in neonatal intensive care unit patients. **J. Perinat. Med.** v. 35, p. 334–338, 2007.

WALASZEK, M. et al. The risk factors for hospital-acquired pneumonia in the intensive care unit. **Przegl. Epidemiol.**, v. 70, p. 107–110, 2016.

WANG, J. et al. Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease. **Sci Rep**, v. 3, n. 1, p. 1843, 2013.

WASHIO, J. et al. Effects of pH and lactate on hydrogen sulfide production by oral *Veillonella* spp. **Appl Environ Microbiol**, v. 80, n.1, p. 4184-8, 2014.

WECKMAN, B. G.; CATLIN, B. W. Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources. **J. Bacteriol.**, v. 73, p. 747-753, 1957.

WILLIAMS, M. D.; KERBER, C. A.; TERGIN, H. F. Unusual presentation of Lemiere's syndrome due to *Fusobacterium nucleatum*. **J Clin Microbiol**, v. 41, n. 7, p. 3445-3448, 2003.

WILSON, M. Microbial inhabitants of humans. **Cambridge University Press**, 2005.

WOLFF, L. et al. **Fundamentals of nursing**. 7 ed. Philadelphia, 1983.

WOSKE, J. et al. Ventilator-associated pneumonia in a surgical intensive care unit: epidemiology, etiology and comparison of three bronchoscopic methods for microbiological specimen sampling. **Crit Care**, v. 5, p. 167-73, 2005.

ZAFALON, L. F. et al. Utilização do teste de Voges-Proskauer e da coagulase para o diagnóstico laboratorial de *Staphylococcus aureus* envolvidos na epidemiologia da mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1285-1293, 2009.

ZELANTE, F. et al. *Staphylococcus aureus* na boca e no nariz de indivíduos sãos: verificação de identidade entre as cepas isoladas. **Rev. Saúde Pública**, v. 16, p. 92-96, 1982.

ZHANG, Y. et al. Network meta-analysis and pharmacoeconomic evaluation of antibiotics for the treatment of patients infected with complicated skin and soft structure infection and hospital-acquired or ventilator-associated pneumonia. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 8, n. 72, p. 1-19, 2019.

ZHOU, Y. et al. Biogeography of the ecosystems of the healthy human body. **Genome Biol.**, v. 14, n. 1, p. 1-18, 2013.

ZHU, S. et al. The clinical impacts and risk factors for non-central line-associated bloodstream infection in 5046 intensiv care unit patients: an observational study based on electronic medical records. **Critical Care**, v. 23, n. 52, p. 1-10, 2019.

APÊNDICE A Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

Eu, _____, RG _____, com _____ anos, tendo sido convidado(a) a participar como voluntário(a) do estudo **“Avaliação da microbiota bucal de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva”**, que será realizado no Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG) recebi dos pesquisadores **Fernanda Couto Miléo, Shelon Cristina Souza Bandeca e Luís Antônio Esmerino**, responsáveis por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas que o estudo se destina a verificar se há mudança na condição microbiológica da cavidade bucal de um mesmo paciente em diferentes tempos e este estudo permitirá identificar a presença de microrganismos epidemiologicamente importantes na cavidade bucal dos pacientes em Unidade de Terapia Intensiva do HURCG, correlacionando os achados microbiológicos com os parâmetros clínicos. O estudo começará em janeiro de 2018 e terminará em janeiro de 2019. Serão obtidas informações quanto aos dados pessoais do paciente internado, bem como sua história médica e odontológica a partir da avaliação odontológica inicial (que poderá ser modificada de acordo com os dias passados de internamento). Além disso, será coletada amostra microbiológica da condição bucal, da região de dorso de língua para análise no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Em momento algum serão repassadas informações sigilosas com a identificação do paciente. Sei que se houver dúvidas quanto ao estudo solicitarei ajuda ao pesquisador. Não terei incômodo algum durante a participação na pesquisa. Quanto aos possíveis riscos à minha saúde física e mental são quase inexistentes, pois serão adotadas todas as normas para garantir o sigilo das informações e a privacidade do participante.

Tenho conhecimento que a minha participação na pesquisa será em no máximo três dias.

Os benefícios diretos decorrentes da minha participação neste estudo é a orientação sobre a saúde bucal que pode influenciar na saúde geral e no tempo de internamento. Também tenho conhecimento que poderei contar com toda orientação que necessitar da Cirurgiã-dentista **Fernanda Couto Miléo** e caso surjam dúvidas ou queira maiores esclarecimentos em qualquer etapa do estudo, os pesquisadores estarão totalmente disponíveis para saná-las. Não está previsto ressarcimento, pois não haverá nenhum gasto extra, decorrente da participação na pesquisa, uma vez que as informações serão coletadas durante a avaliação odontológica. Também não estão previstas indenizações uma vez que os riscos decorrentes da minha participação na pesquisa são quase inexistentes. Caso comprove-se que houve algum dano decorrente da minha participação, os pesquisadores assumem o compromisso de me dar assistência e indenizar-me, se for o caso.

As informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo; e que os dados obtidos neste estudo serão divulgados na comunidade científica, porém sem identificar-me.

Também tenho ciência que a qualquer momento, **eu poderei recusar a continuar participando do estudo** e, também, que eu **poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo no atendimento, cuidado e/ou tratamento pela equipe da Odontologia do HURCG**.

Tenho pleno conhecimento que a **minha participação é voluntária e que não sou obrigado a participar do estudo**. E em casos de dúvidas poderei consultar tanto o COEP (Comitê de Ética em Pesquisa) e o pesquisador responsável nos endereços abaixo informados:

Endereço do Pesquisador Responsável:

Nome: Fernanda Couto Miléo

Endereço: Alameda Nabuco de Araújo, 601 - Uvaranas, Ponta Grossa - PR, CEP: 84031-510

Telefone p/ contato: (42) 3222-0254 – e-mail: fernandacmileo_31@hotmail.com

Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais / Universidade Estadual de Ponta Grossa

Comissão de Ética em Pesquisa (COEP – UEPG)

Universidade Estadual de Ponta Grossa:

Av. Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas (Campus Universitário). Bloco M – Sala 100. Ponta Grossa (PR). CEP: 84030-900. Telefone: 3220-3108 (horário de funcionamento: segunda a Sexta - 08h ao 12h).

Home page: www.uepg.br/coep e e-mails: coep@uepg.br (Coordenação); seccoep@uepg.br (Secretaria)

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e, estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implica, concordo em dela participar e, para tanto eu **DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO**. Assinarei no final deste documento, que está em duas vias, sendo uma delas minha e a outra é do pesquisador responsável.

Endereço do(a) participante voluntário (a):

Endereço: _____

CEP: _____

Fone: _____

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas, dirija-se a secretaria da Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa: Av. Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas. Bloco M - Campus Universitário. CEP: 84030-900 - Ponta Grossa (PR). Telefone: 3220-3108.

Ponta Grossa, ____ de _____ de 2018.

Assinatura ou impressão datiloscópica
do voluntário(a) ou responsável legal
(rubricar demais folhas)

Assinatura do responsável pela pesquisa
(rubricar demais folhas)

APÊNDICE B Ficha de avaliação odontológica

Data: _____

DADOS PESSOAIS E MÉDICOS

Nome: _____ Idade: ____ Prontuário: _____

Gênero: Masculino () Feminino () Cor da pele: _____

Município de origem: _____

Data de internamento: _____ Data de alta/óbito: _____ Tempo de internação: ____

Motivo do internamento: _____

Doença(s) de base: _____

Medicamentos utilizados durante o internamento: _____

Intubação orotraqueal: Não () Sim ()

Infecção nosocomial: Não () Sim ()

Qual? _____

Microrganismo desencadeante: _____

EXAME CLÍNICO

Presença de dentes: Desdentado () Dentado () Superior – nº__ Inferior – nº__

Condição periodontal: Gengivite () Mobilidade dentária () Recessão gengival ()

Uso de prótese removível: Não () Sim () Total Superior () Total Inferior ()

Parcial Superior () Parcial Inferior ()

Higiene bucal: Satisfatória () Regular () Deficiente ()

Lesão em mucosa bucal: Não () Sim ()

Descrição:_____

Observações:_____

APÊNDICE C Ficha de avaliação microbiológica

Data: _____

Nome: _____ Prontuário: _____

Período da coleta de material biológico:

1ª coleta - 1º Dia () 2ª coleta - 48h () 3ª coleta - 96h ()

ÁGAR MANITOL SAL

Crescimento microbiano: Não () Sim () Número de colônias: _____

Descrição da(s) colônia(s):

ÁGAR CETRIMIDE

Crescimento microbiano: Não () Sim () Número de colônias: _____

Descrição da(s) colônia(s):

ENTEROCOCCUS ÁGAR (com azida)

Crescimento microbiano: Não () Sim () Número de colônias: _____

Descrição da(s) colônia(s):

ÁGAR MACCONKEY

Crescimento microbiano: Não () Sim () Número de colônias: _____

Descrição da(s) colônia(s):

APÊNDICE D Dados da análise-semi-quantitativa

PACIENTE	MEIO	ANÁLISE
2a	1	4
2a	2	0
2a	3	4
2a	4	0
2b	1	4
2b	2	4
2b	3	4
2b	4	0
2c	1	4
2c	2	4
2c	3	4
2c	4	0
3a	1	4
3a	2	4
3a	3	4
3a	4	2
3b	1	4
3b	2	0
3b	3	4
3b	4	0
3c	1	4
3c	2	0
3c	3	2
3c	4	0
5a	1	4
5a	2	4
5a	3	4
5a	4	1
5b	1	0
5b	2	0
5b	3	0
5b	4	0
5c	1	4
5c	2	0
5c	3	4
5c	4	0

6a	1	4
6a	2	4
6a	3	2
6a	4	0
6b	1	1
6b	2	1
6b	3	0
6b	4	0
6c	1	0
6c	2	1
6c	3	0
6c	4	0
7a	1	4
7a	2	4
7a	3	0
7a	4	0
7b	1	4
7b	2	1
7b	3	4
7b	4	0
7c	1	4
7c	2	4
7c	3	4
7c	4	3
8a	1	3
8a	2	2
8a	3	1
8a	4	0
8b	1	3
8b	2	0
8b	3	0
8b	4	0
8c	1	0
8c	2	0
8c	3	0
8c	4	0
9a	1	3
9a	2	0

9a	3	1
9a	4	0
9b	1	4
9b	2	2
9b	3	0
9b	4	0
9c	1	1
9c	2	0
9c	3	0
9c	4	0
10a	1	3
10a	2	4
10a	3	0
10a	4	4
10b	1	4
10b	2	4
10b	3	4
10b	4	4
10c	1	4
10c	2	4
10c	3	4
10c	4	4
12a	1	4
12a	2	4
12a	3	4
12a	4	1
12b	1	4
12b	2	0
12b	3	0
12b	4	0
12c	1	4
12c	2	4
12c	3	4
12c	4	0
15a	1	4
15a	2	0
15a	3	1
15a	4	0
15b	1	4

15b	2	0
15b	3	0
15b	4	0
15c	1	0
15c	2	0
15c	3	0
15c	4	0
17a	1	4
17a	2	0
17a	3	4
17a	4	0
17b	1	4
17b	2	0
17b	3	1
17b	4	0
17c	1	3
17c	2	4
17c	3	4
17c	4	0
22a	1	1
22a	2	0
22a	3	0
22a	4	0
22b	1	0
22b	2	2
22b	3	0
22b	4	0
22c	1	0
22c	2	0
22c	3	0
22c	4	0
23a	1	4
23a	2	4
23a	3	0
23a	4	4
23b	1	1
23b	2	0
23b	3	0
23b	4	2

23c	1	0
23c	2	0
23c	3	0
23c	4	0
24a	1	4
24a	2	0
24a	3	0
24a	4	1
24b	1	4
24b	2	0
24b	3	4
24b	4	0
24c	1	4
24c	2	4
24c	3	0
24c	4	4
25a	1	4
25a	2	0
25a	3	0
25a	4	0
25b	1	0
25b	2	0
25b	3	0
25b	4	0
25c	1	4
25c	2	3
25c	3	0
25c	4	0
26a	1	3
26a	2	0
26a	3	0
26a	4	0
26b	1	1
26b	2	4
26b	3	0
26b	4	0
26c	1	4
26c	2	4
26c	3	4

26c	4	1
27a	1	1
27a	2	1
27a	3	0
27a	4	0
27b	1	2
27b	2	4
27b	3	4
27b	4	0
27c	1	2
27c	2	4
27c	3	4
27c	4	0
29a	1	1
29a	2	0
29a	3	0
29a	4	0
29b	1	4
29b	2	0
29b	3	4
29b	4	0
29c	1	4
29c	2	0
29c	3	4
29c	4	0
30a	1	4
30a	2	4
30a	3	4
30a	4	0
31a	1	4
31a	2	0
31a	3	4
31a	4	0
31b	1	4
31b	2	4
31b	3	4
31b	4	0

APÊNDICE E Planilha de resultados dos testes bioquímicos

N	P	MEIO	TIPO	TESTE 1	RESULT 1	TESTE 2	RESULT 2	TESTE 3	RESULT 3	TESTE 4	RESULT 4	FINAL
1	2-A	Manitol	rosa	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
2	2-A	Manitol	amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
3	2-A	Bile-esculina	branca pequena	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
4	2-B	Manitol	amarela (esgotamento)	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
5	2-B	Manitol	amarela (esgotamento)	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
6	2-B	Manitol	branca pequena	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
7	2-B	Bile-esculina	branca pequena	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
8	2-B	MacConkey	rosa pequena									negativo
9	2-C	Manitol	amarela grande (esgotamento)	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
10	2-C	Manitol	escura grande (esgotamento)	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
11	2-C	Manitol	pequena	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
12	2-C	Bile-esculina	branca pequena	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
13	2-C	MacConkey	branca pequena não vermelha									negativo
14	3-A	Manitol	branca pequena	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
15	3-A	Cetrimide	escura grande	Oxidase	Positivo (+)	BHI	turvou (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
16	3-A	Cetrimide	clara grande	Oxidase	Positivo (+)	BHI	turvou (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
17	3-A	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
18	3-A	MacConkey	tapete escuro (esgotamento)									negativo
19	3-B	Manitol	amarela grande	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
20	3-B	Manitol	clara grande	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Positivo (+)	DNASE	Negativo (-)	negativo
21	3-B	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
22	3-C	Manitol	amarela grande	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Positivo (+)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
23	3-C	Manitol	branca grande	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
24	3-C	Bile-esculina	preta grande (esgotamento)	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
25	3-C	Bile-esculina	preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
26	5-A	Cetrimide	branca 1	Oxidase	Negativo (-)	BHI	não turvou (-)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
27	5-A	Manitol	amarelo escuro	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
28	5-A	Manitol	amarelo opaco	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Positivo (+)	DNASE	Negativo (-)	negativo
29	5-A	Manitol	branca pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Positivo (+)	DNASE	Negativo (-)	negativo
30	5-A	Bile-esculina	preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
31	5-A	MacConkey	transparente pequena 1 não vermelha									negativo
32	5-C	Manitol	amarela opaca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
33	5-C	Manitol	branca grande	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
34	5-C	Manitol	branca pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Positivo (+)	DNASE	Negativo (-)	negativo
35	5-C	Bile-esculina	preta (esgotamento)	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
36	5-C	Bile-esculina	preta (esgotamento)	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
37	5-C	Bile-esculina	amarela grande (esgotamento)	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
38	5-C	Bile-esculina	verde grande (esgotamento)	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
39	6A	Manitol	branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo

81	12-a	MacConkey	grande rosa									negativo
82	12-a	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
83	12-a	Cetrimide	grande branca	Oxidase	Negativo (-)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
84	10-b	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
85	10-b	MacConkey	tapete amarelo	não vermelha								negativo
86	10-b	Manitol	amarela pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
87	10-b	Manitol	amarela pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
88	10-b	Manitol	branca pequena	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
89	10-b	Cetrimide	grande branca	Oxidase	Negativo (-)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
90	10-c	Cetrimide	branca leitosa	Oxidase	Negativo (-)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
91	10-c	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
92	10-c	Manitol	amarela pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
93	10-c	MacConkey	laranjada									negativo
94	10-c	MacConkey	rosa fosca									negativo
95	12-b	Manitol	rosa	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
96	12-b	Manitol	amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
97	15-a	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
98	15-a	Manitol	rosa pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
99	17-a	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
100	17-a	Manitol	grande branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
101	17-a	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
102	12-c	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
103	12-c	MacConkey	rosa opaca									negativo
104	12-c	Manitol	branca pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
105	12-c	Manitol	grande amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
106	12-c	Manitol	pequeníssima branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
107	15-b	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
108	15-b	Manitol	grande amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
109	17-b	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
110	17-b	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
111	17-b	Manitol	média amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
112	17-b	Manitol	grande amarela	Gram	Negativo (-)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
113	17-c	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
114	17-c	MacConkey	tapete branco leitoso	não vermelha								negativo
115	17-c	Manitol	pequena branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
116	17-c	Manitol	grande branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
117	22-a	Manitol	amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Positivo (+)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus
118	23-a	Cetrimide	tapete rosa	Oxidase	Negativo (-)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
119	23-a	Manitol	branca pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
120	23-a	MacConkey	branca minúscula	não vermelha								negativo
121	24-a	Cetrimide	branca com halo verde	Oxidase	Positivo (+)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Positivo (+)	motilidade	Positivo (+)	P. aeruginosa
122	24-a	Manitol	pequena amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Positivo (+)	S. aureus

123	24-a	Manitol	pequena branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
124	25-a	Manitol	amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
125	25-a	Manitol	branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
126	23-b	Cetrimide	grande leitosa	Oxidase	Negativo (-)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
127	23-b	Cetrimide	branca média	Oxidase	Negativo (-)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Negativo (-)	motilidade	Negativo (-)	negativo
128	23-b	Manitol	pequena branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
129	23-b	Manitol	pequena amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
130	24-b	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
131	24-b	Cetrimide	tapete verde fluorescente	Oxidase	Positivo (+)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Positivo (+)	motilidade	Positivo (+)	P. aeruginosa
132	24-b	Manitol	branca pequenissima	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
133	24-b	Manitol	pequena amarela	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
134	23-c	Manitol	pequena branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
135	24-c	Cetrimide	tapete verde fluorescente	Oxidase	Positivo (+)	BHI	Positivo (+)	gelatina	Positivo (+)	motilidade	Positivo (+)	P. aeruginosa
136	24-c	MacConkey	tapete marrom									negativo
137	24-c	Manitol	amarela pequena	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
138	24-c	Manitol	branca pequena	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
139	25-c	Manitol	brancas	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
140	26-a	Manitol	amarela	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
141	26-a	Manitol	rosa	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
142	26-b	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
143	26-b	MacConkey	tapete viscoso não vermelha									negativo
144	26-b	Manitol	amarela	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
145	27-a	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
146	27-a	MacConkey	grande branca não vermelha									negativo
147	27-a	Manitol	pequena branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
148	29-a	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp
149	29-a	MacConkey	tapete leitoso não vermelha									negativo
150	29-a	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
151	26-c	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
152	26-c	Manitol	branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Positivo (+)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
153	26-c	MacConkey	tapete leitoso não vermelha									negativo
154	27-b	Bile-esculina	tapete preto	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
155	27-b	MacConkey	tapete rosa									negativo
156	27-b	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
157	29-b	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
158	29-b	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
159	27-c	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Negativo (-)					negativo
160	27-c	MacConkey	tapete rosa									negativo
161	27-c	Manitol	pequena branca	Gram	Negativo (-)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
162	29-c	Bile-esculina	tapete preto	Catalase	Positivo (+)	NaCl 6.5	Positivo (+)					negativo
163	29-c	Manitol	pequena branca	Gram	Positivo (+)	Catalase	Negativo (-)	MRVP	Negativo (-)	DNASE	Negativo (-)	negativo
164	30-a	Bile-esculina	pequena preta	Catalase	Negativo (-)	NaCl 6.5	Positivo (+)					Enterococcus sp

APÊNDICE F Planilha com os resultados dos testes bioquímicos para Enterobacterias

PACIENTE	LTD	Lactose	H2S	Fermentação de glicose	Produção de gás	Lisina	Indol	Ornitina	Motilidade	Citrato	Ramnose
72	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
67	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
18	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
8	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
52	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
66	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
75	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
81	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
93	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
94	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
103	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
136	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
143	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
155	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
160	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
165	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
175	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)

PACIENTE						Identificação		%
72	620=8	621=9	000=0	01=1	8901	Escherichia coli	100	
67	020=2	620=8	621=9	01=1	2891	Escherichia coli	92,6	
18	620=8	620=8	621=9	21=3	8893	Cronobacter sakazakii	99,99	
8	NF							
52	NF							
66	NF							
75	020=2	621=9	021=3	21=3	2933	Klebsiella aerogenes	73,54	
81	020=2	621=9	001=1	21=3	2913	Klebsiella aerogenes	81,73	
93	620=8	621=9	021=3	21=3	8933	Serratia liquefaciens	99,96	
94	020=2	601=7	001=1	01=1	2711	Serratia rubddea	99,98	
103	020=2	621=9	021=3	21=3	2933	Klebsiella aerogenes	73,54	
136	NF							
143	NF							
155	020=2	621=9	021=3	01=1	2931	Klebsiella aerogenes	55,89	
160	020=2	621=9	021=3	01=1	2931	Klebsiella aerogenes	55,89	
165	620=8	621=9	621=9	01=1	8991	Escherichia coli	99,94	
175	NF							

APÊNDICE G Planilha de evolução hospitalar dos pacientes

NÚMERO	NOME	PRONTUÁRIO	DENTÇÃO	DOENÇA DE BASE	INTERCORRÊNCIA	ALTA/ÓBITO	IDENTIFICAÇÃO
2	celmon	1093299	dentado	ferimento por faca	PNEUMONIA NOSOCOMIAL	óbito	Staphylococcus aureus
3	francisco	1099894	dentado	traumatismo múltiplo	não	alta	NÃO
5	onei	1100604	desdentado	hda	PNEUMONIA NOSOCOMIAL	óbito	Staphylococcus aureus
6	carlos	1104086	dentado	traumatismo múltiplo	não	alta	NÃO
7	jean	1103948	desdentado	estado de mal epilético	não	alta	Staphylococcus aureus
8	sérgio	1103865	dentado	AVC	PNEUMONIA NOSOCOMIAL (MRSA)	alta	NÃO
9	claiton	1104095	dentado	choque hemorrágico	KLEBSIELLA MR - abdomen	alta	Staphylococcus aureus
10	avelino	1141328	desdentado	AVC	SEPSE DE FOCO PULMONAR	óbito	Staphylococcus aureus
12	ezio	1142451	dentado	traumatismo múltiplo	PNEUMONIA NOSOCOMIAL	alta	NÃO
15	romair	1143331	dentado	traumatismomúltiplo	não	alta	Enterococcus sp.
17	sebastião	1141692	desdentado	AVC	IRA RENAL?	óbito	Staphylococcus aureus e Enterococcus
22	eliane aparecida	760581	dentado	cetoacidose diabética	não	alta	Staphylococcus aureus
23	wilmar	1167554	desdentado	Emplema pleural	ainda internado		NÃO
24	rafael	1167196	dentado	Insuficiencia respiratória aguda	SEPSE DE FOCO PULMONAR	obito	Pseudomonas aeruginosa
25	jose machado	835641	desdentado	DPOC	não	alta	NÃO
26	vandir	1184843	desdentado	TCE	Realizou culturas no HU, Meropenem	alta	Enterococcus
27	clebson	1185357	dentado	POLITRAUMA	não	alta	NÃO
29	lindair	1140854	desdentado	cirurgia	não	alta	Enterococcus
30	iolanda	347322	desdentado	FA	não	obito	Staphylococcus aureus e Enterococcus
31	joão angelo	1190517	desdentado	AVC	PNEUMONIA NOSOCOMIAL	obito	Staphylococcus aureus

APÊNDICE H Planilha dos Antibiogramas

Antibiograma <i>Enterococcus sp.</i>						
PACIENTE	TEMPO	ampicilina	penicilina	levofloxacina	vancomicina	linezolid
5	96 horas	S	S	S	S	S
6	24 horas	R	R	R	R	R
10	96 horas	S	R	S	S	S
15	24 horas	S	S	S	S	R
17	24 horas	S	S	S	S	S
17	96 horas	S	S	S	S	S
24	48 horas	R	R	S	S	S
26	48 horas	R	S	S	S	S
29	24 horas	S	S	S	S	S
30	24 horas	R	R	S	R	R

Antibiograma <i>Pseudomonas aeruginosa</i>					
PACIENTE	TEMPO	ceftazidina	gentamicina	tobramicina	piperacilina-tazobactam
24	24 horas	S	S	S	S
24	48 horas	R	I	R	R
24	96 horas	R	S	S	I

Antibiograma <i>Staphylococcus aureus</i>						
PACIENTE	TEMPO	eritromicina	clindamicina	penicilina	cefoxitina	cotrimazol
2	24 horas	S	S	R	S	S
2	48 horas	S	I	S	R	S
2	48 horas	S	R	S	R	S
2	96 horas	S	S	R	R	S
3	96 horas	R	S	S	S	S
5	96 horas	R	R	R	R	S
9	48 horas	R	R	R	S	S
7	96 horas	R	R	R	R	S
10	24 horas	I	R	R	R	S
10	48 horas	R	R	R	R	R
17	48 horas	S	S	S	S	S

22	24 horas	S	S	R	S	S
24	24 horas	I	S	R	S	S
30	24 horas	R	R	R	S	S
30	24 horas	I	R	R	S	S
31	24 horas	S	S	R	S	S
31	48 horas	S	I	S	R	S

Antibiograma <i>Enterobacteriaceae</i>						
PACIENTE	TEMPO	ampicilina	cefazolina	gentamicina	levofloxacina	cefalotina
6	96 horas	R	R	R	R	R
3	24 horas	R	R	S	S	S
12	24 horas	R	R	S	S	R
12	96 horas	R	R	S	S	R
10	24 horas	R	R	S	S	R
10	96 horas	R	I	S	S	S
10	96 horas	R	R	S	S	R
7	96 horas	R	R	R	R	R
27	48 horas	R	R	S	S	R
27	96 horas	R	R	S	S	R
30	24 horas	R	R	R	R	R

ANEXO A Parecer consubstanciado COEP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
PONTA GROSSA - UEPG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da alteração da microbiota bucal de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva

Pesquisador: Shelon Cristina Souza Pinto

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 80709617.7.0000.0105

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.422.774

Apresentação do Projeto:

Avaliação da alteração da microbiota bucal de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar a presença e a alteração dos micro-organismos: *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., e *Enterococcus* spp.

relacionados à PAV na cavidade bucal em três momentos diferentes (inicial – 0 hora, 48 horas e 96 horas do

internamento) nos pacientes internados

em UTI e em uso de intubação orotraqueal;- Comparar as diferenças nas alterações da microbiota bucal de pacientes dentados e desdentados;-

Correlacionar os achados microbiológicos com os parâmetros clínicos (idade, gênero, doença de base, infecção nosocomial); - Analisar se as

alterações na microbiota bucal podem ter relações com o estado clínico do paciente, morbidade ou mortalidade.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos dos sujeitos participantes da pesquisa são mínimos, porém existentes. Entre eles pode-se citar: a contaminação da escova citológica

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748. UEPG, Campus Uvaranas, Bloco M, Sala 100.
Bairro: Uvaranas **CEP:** 84.030-900
UF: PR **Município:** PONTA GROSSA
Telefone: (42)3220-3108 **E-mail:** coep@uepg.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA - UEPG



Continuação do Parecer: 2.422.774

estéril previamente a introdução da cavidade bucal do paciente, podendo ocasionar na disseminação de micro-organismos; e a contaminação também prévia das luvas de procedimento do pesquisador, podendo trazer micro-organismos antes não presentes na cavidade bucal e que poderão trazer malefícios a saúde sistêmica do paciente. No entanto, todos os envolvidos na pesquisa apresentam conhecimento teórico quanto prático em biossegurança, e todos os riscos serão evitados por eles.

Benefícios:

Como benefícios aos sujeitos da pesquisa, pode-se citar: que haverá um acompanhamento odontológico durante os primeiros cinco dias de internamento do paciente e esclarecimento ao paciente ou aos familiares a qualquer dúvida sobre a situação odontológica.

Com o posterior desenvolvimento da pesquisa, haverá esclarecimentos da relação das alterações da microbiota bucal durante o período de internamento da UTI associada ao uso da intubação orotraqueal e os malefícios que elas trazem, e com isso possibilitar que sejam planejadas futuramente as melhores intervenções, de modo mais adequado, para reduzir ao máximo os danos acarretados ao paciente no internamento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Espera-se observar uma alteração na microbiota dos pacientes durante o período de internamento na UTI, e, que esta propicie o desenvolvimento de doenças, principalmente a relação do número de casos de PAV com respectiva presença de micro-organismos patogênicos na cavidade bucal, concomitantemente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em anexo e de acordo com as normas 466/2012

Recomendações:

Solicita-se que ao final do projeto de pesquisa seja enviado o relatório final via on-line pela Plataforma Brasil por notificação para evitar pendências com a Propesp ou com o Comitê de Ética

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748. UEPG, Campus Uvaranas, Bloco M, Sala 100.
Bairro: Uvaranas CEP: 84.030-900
UF: PR Município: PONTA GROSSA
Telefone: (42)3220-3108 E-mail: coep@uepg.br

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
PONTA GROSSA - UEPG**



Continuação do Parecer: 2.422.774

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_976992.pdf	30/11/2017 15:12:31		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Shelon.docx	23/11/2017 03:01:45	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Fernanda.pdf	13/10/2017 21:00:14	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Luis.docx	13/10/2017 12:05:43	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Fabio.pdf	13/10/2017 12:05:18	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Eduardo.docx	13/10/2017 12:04:46	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Camila.docx	13/10/2017 12:04:12	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	24/08/2017 17:02:37	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa.doc	24/08/2017 16:58:03	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Escelarecido.docx	24/08/2017 16:55:55	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	24/08/2017 16:50:36	Shelon Cristina Souza Pinto	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748. UEPG, Campus Uvaranas, Bloco M, Sala 100.
Bairro: Uvaranas CEP: 84.030-900
UF: PR Município: PONTA GROSSA
Telefone: (42)3220-3108 E-mail: coep@uepg.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
PONTA GROSSA - UEPG



Continuação do Parecer: 2.422.774

PONTA GROSSA, 07 de Dezembro de 2017

Assinado por:
ULISSES COELHO
(Coordenador)

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748. UEPG, Campus Uvaranas, Bloco M, Sala 100.
Bairro: Uvaranas CEP: 84.030-900
UF: PR Município: PONTA GROSSA
Telefone: (42)3220-3108 E-mail: coep@uepg.br