

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**Faculdade de Ciências da Saúde**  
**Programa de Pós-Graduação em Odontologia**



Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE E DA TRANSIÇÃO DA MICROBIOTA  
BUCAL DE PACIENTES HOSPITALIZADOS – ESTUDO OBSERVACIONAL**

**ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ**

Brasília, 10 de junho de 2019

**Adriana Silva da Costa Cruz**

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE E DA TRANSIÇÃO DA MICROBIOTA  
BUCAL DE PACIENTES HOSPITALIZADOS – ESTUDO OBSERVACIONAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Professora Dra. Érica Negrini Lia  
Coorientador: Professor Dr. Vicente de Paulo Martins

Brasília, 2019

**Adriana Silva da Costa Cruz**

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE E DA TRANSIÇÃO DA MICROBIOTA  
BUCAL DE PACIENTES HOSPITALIZADOS – ESTUDO OBSERVACIONAL**

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Data da defesa: 10 de Junho de 2019

Banca examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Érica Negrini Lia (Orientadora)

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Loise Pedrosa Salles

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Elza Ferreira Noronha

*Dedico esse trabalho aos meus filhos Frederico e Maria Fernanda, que, trazem mais brilho, mais amor, mais sentido e mais vida à minha existência, fazendo com que eu tenha vontade de ser uma pessoa cada vez melhor. Para vocês que, mesmo ainda crianças, vibram com as minhas vitórias, que, na verdade, são todas nossas!*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus sendo graças a todo momento por tudo que tenho e por tudo que sou! Obrigada por me ensinar que tudo tem seu tempo e que devemos confiar em Ti sempre! Obrigada por me inspirar a buscar sempre um pouco mais!

Ao meu marido Fabricio, grande amor da minha vida, por tudo que construímos juntos e por sonhar todos os meus sonhos junto comigo! Por compartilhar todos os momentos da vida, inclusive tabelas, gráficos e outras tantas ajudas nesse trabalho! Seu apoio e seu incentivo me fizeram seguir em frente sempre!

Aos meus pais Rafael e Marta, meus grandes exemplos de vida, por tudo o que me ensinaram, todo o apoio, incentivo, cuidado, carinho, amor incondicional de toda a minha vida. Sem vocês, eu não seria nada do que sou!

À minha irmã Adélia, minha grande amiga e companheira na vida, por toda ajuda com as crianças e todo apoio, incentivo e amor!

À minha orientadora Érica, profissional humana, competente e dedicada, exemplo de amor ao que faz, agradeço por acreditar em mim e me conceder a oportunidade de estar aqui!

Ao meu coorientador Vicente, sempre tranquilo e seguro nas suas orientações, agradeço a confiança, a disponibilidade e o conhecimento compartilhado!

Às colegas Yeda e Cláudia, agradeço a ajuda com as coletas no HUB e o companheirismo durante todo o curso!

Às acadêmicas Yara e Danielly, companheiras nas manhãs de coletas no HUB e nos trabalhos no laboratório, agradeço por toda a parceria e amizade!

Às colegas Ingrid, Daniela, Lúcia, Érica pela amizade e troca de experiências durante o curso!

Aos colegas Herick e Luís do Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos, por tudo que me ensinaram, pela paciência em todas as minhas dúvidas e toda a ajuda que deram!

Aos meus colegas, amigos da equipe do Programa de Qualidade de Vida do TJDFT, Marcella, Margarete, Vanessa, Leida, Diogo, Carlos e Renata por me incentivarem e me ajudarem nos ajustes de horário que foram necessários para que eu conseguisse alcançar esse sonho! Trabalhamos pela qualidade de vida e a temos em nossas relações no ambiente de trabalho!

À equipe da Enfermaria de Clínica Médica do HUB por toda colaboração e paciência durante o período de coletas!

Aos pacientes do HUB, que se deixaram examinar e colaboraram para esta pesquisa! Essa convivência foi uma experiência riquíssima! Com cada um aprendi um pouco! Várias histórias ficaram no meu coração!

*“Tudo posso naquele que me fortalece.”  
Filipenses 4, 13*

## RESUMO

Estudos demonstram a deterioração da saúde bucal em pacientes hospitalizados em função do acúmulo do biofilme microbiano em dentes e língua, além da inflamação gengival. A microbiota bucal adquirida após hospitalização pode ser composta de microrganismos mais agressivos e passível de aspiração, podendo causar agravos à saúde geral, a exemplo da pneumonia nosocomial. O objetivo desse estudo foi caracterizar o estado de saúde e a microbiota bucal relacionada a infecções hospitalares e à resistência microbiana de pacientes internados no Hospital Universitário de Brasília e a transição microbiana em até sete dias após a admissão hospitalar. Pacientes hospitalizados foram examinados por um cirurgião dentista e três swabs da mucosa bucal foram coletados respectivamente nos tempos T1 (até 48 horas da hospitalização), T2 (48 horas após T1) e T3 (7 dias após hospitalização). Para determinação do status de saúde bucal foi utilizado o Instrumento de Avaliação da Saúde Bucal para a Triagem Odontológica (IASBTO) e o Índice de Saburra Lingual (ISL). Os swabs foram processados em laboratório de microbiologia e as amostras foram inoculadas em meios de cultura cromogênicos para identificação de microrganismos relacionados à infecções hospitalares. A média do IASBTO em T1 foi de 6,17 ( $\pm$  1,88) e do ISL foi de 2,41 ( $\pm$  0,88). As médias no sétimo dia foram 5,78 ( $\pm$  2,26) e 2,46 ( $\pm$  0,69), respectivamente. Identificou-se a presença de *Escherichia coli* em 80% das amostras iniciais, *Enterococcus* em 69%, *Enterobacter* em 60%, *Pseudomonas* em 52%, *Candida albicans* em 52%, *Staphylococcus aureus* em 39% e *Klebsiella* em 17%. A prevalência de *Enterococcus*, *Pseudomonas* e *Proteus* aumentou no sétimo dia, enquanto diminuiu a de *E. coli*, *Enterobacter* e *S. aureus*. Conclui-se que, nos pacientes internados em Enfermaria, o status de saúde bucal se manteve mediano entre o segundo e o sétimo dia de hospitalização. O índice de saburra lingual foi considerado alto em todo o período de sete dias de acompanhamento. A prevalência de microrganismos potencialmente patogênicos e relacionados à veiculação de resistência aos antimicrobianos na cavidade bucal foi alta nos três tempos de acompanhamento.

**Palavras-chave:** microbiota; saúde bucal; hospitalização.

## ABSTRACT

Previous research has shown that deterioration in oral health occurs in hospitalized patients as a result of increased dental plaque accumulation on teeth and tongue, in addition to inflamed gums. The oral microbiota acquired after hospitalization may comprise aggressive pathogens that are prone to aspiration and may cause systemic diseases as the nosocomial pneumonia. The purpose of this study was to characterize the oral health and microbiota related to nosocomial infections and microbial resistance of hospitalized patients at the University Hospital of Brasília and their follow up evolution during seven days after the hospital admission. The hospitalized patients were examined by a dentist and oral swabs were collected in three moments during the hospitalization period: T1 (48 hours of hospitalization or less), T2 (48 hours after T1) and T3 (7 days after hospitalization). The oral health status was determined according to the tools: Instrumento de Avaliação da Saúde Bucal para a Triagem Odontológica (IASBTO) and Índice de Saburra Lingual (ISL). The swabs were processed in a microbiology laboratory and samples were plated on chromogenic culture media to identify the oral microbiota related to nosocomial infections. In T1, the IASBTO mean was 5.63 ( $\pm$  2.22) and ISL mean was 2.58 ( $\pm$  0.73). After seven days, the respective means were 5.78 ( $\pm$  2.26) and 2.46 ( $\pm$  0.69). The most prevalent microorganisms in T1 were *Escherichia coli* (80%), *Enterococcus* (69%), *Enterobacter* (60%), *Pseudomonas* (52%), *Candida albicans* (50%), *Staphylococcus aureus* (39%) and *Klebsiella* (15%). There was increase in *Enterococcus*, *Pseudomonas* and *Proteus* after seven days, while there was a decrease in *E. coli*, *Enterobacter* and *S. aureus*. This study shows that, in non-intensive care units hospitalized patients, the oral health status had a reasonable average during all the seven days. The tongue coating index was considered high throughout the follow up period. There was a great prevalence of potential nosocomial pathogens related to antimicrobial resistance in all three evaluated moments of hospitalization.

**Keywords:** microbiota; oral health; hospitalization

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização da amostra de pacientes internados na unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília de julho a dezembro de 2018. Distribuição absoluta(n) e percentual(%) das respostas (n = 103)	34
Tabela 2	Queixas relacionadas à saúde bucal de pacientes internados na unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília de julho a dezembro de 2018. Distribuição absoluta (n) e percentual (%) das respostas (n = 103)	37
Tabela 3	Índice de Avaliação da Saúde Bucal para Triagem Odontológica (IASBTO) e Índice de Saburra Lingual (ISL) dos pacientes internados na Unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília nos três tempos do estudo, no período de julho a dezembro de 2018. Dados apresentados como média e desvio padrão (n=46)	38
Tabela 4	Distribuição absoluta e percentual de microrganismos presentes nas amostras bucais coletadas nos três tempos de pacientes internados na Unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília, no período de julho a dezembro de 2018	41
Tabela 5	Distribuição absoluta e percentual dos microrganismos presentes em pacientes internados na Enfermaria de Clínica Médica do HUB nos três tempos de coleta (2018) (n=46)	42

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação esquemática da composição da microbiota oral de dez indivíduos saudáveis [25] 17
- Figura 2 - Aparência típica de colônias microbianas no meio de cultura CHROmagar™ Orientation Fonte: Instruções de uso (CHROmagar Company, França) 29
- Figura 3 - Colônias retiradas de uma suspensão mista de quatro espécies diferentes de *Candida* e incubadas por 48 horas a 37°C em CHROMagar™ *Candida* [52] 30
- Figura 4 - Fluxograma da fase clínica do estudo 33
- Figura 5 - Distribuição percentual do uso de medicamentos por pacientes internados na Unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília, no período de julho a dezembro de 2018 (n = 103) 36
- Figura 6 - Frequência percentual de lesões bucais diagnosticadas em T1 nos pacientes internados na unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília de julho a dezembro de 2018 (n = 26) 38
- Figura 7 - Fluxograma da fase laboratorial do estudo 40
- Figura 8 - Distribuição percentual dos microrganismos identificados nos pacientes que permaneceram internados na Enfermaria de Clínica Médica do HUB nos três tempos de coleta no período de julho a dezembro de 2018 42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

EUA - Estados Unidos da América

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HUB - Hospital Universitário de Brasília

IASBTO - Instrumento de Avaliação da Saúde Bucal para a Triagem Odontológica

ISL - Índice de Saburra Lingual

CRF - Case Report Form

OHAT - Oral Health Assessment Tool

LAMP - Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>14</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
3.1 MICROBIOTA BUCAL .....	15
3.2 DISBIOSE BUCAL .....	17
3.3 A SAÚDE BUCAL DURANTE A HOSPITALIZAÇÃO .....	19
3.4 MICROBIOTA BUCAL E INFECÇÃO HOSPITALAR .....	20
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
4.1 OBJETIVO GERAL .....	23
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
5.1 DESENHO E CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO .....	24
5.2 PARTICIPANTES .....	24
5.3 TREINAMENTO E CALIBRAÇÃO .....	25
5.4 COLETA DE DADOS CLÍNICOS .....	26
5.5 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS .....	28
5.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA LABORATORIAL .....	28
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	32
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
6.1 RESULTADOS CLÍNICOS .....	36
6.2 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS .....	39
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>8 CONCLUSÃO</b> .....	<b>50</b>
<b>9 PRESS RELEASE</b> .....	<b>51</b>
<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	<b>52</b>
<b>APÊNDICE B – CASE REPORT FORM</b> .....	<b>53</b>
<b>ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA</b> .....	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A boca é naturalmente colonizada por uma microbiota bastante diversificada que, quando mantida em equilíbrio, impede a proliferação de microrganismos potencialmente patogênicos que aumentam o risco de doenças [1]. A composição dessa microbiota se altera ao longo da vida e pode ser influenciada por diversos fatores, tais como dieta, presença/ausência de dentes, hábitos de higiene bucal, mudanças hormonais, condições de saúde, além do fluxo salivar e status imunológico do hospedeiro [2].

Há relatos da ocorrência de transição na microbiota bucal durante um período de hospitalização, a exemplo do que ocorre em outros sítios do organismo, como o intestino [3]. Em adultos saudáveis, os microrganismos que predominam na cavidade bucal são *Streptococcus* spp., entretanto, em pacientes hospitalizados, principalmente os que se encontram em estado de saúde crítico, o microbioma oral sofre modificações e passa a ser predominantemente composto por microrganismos gram-negativos, constituindo-se uma microbiota mais agressiva [4,5].

A inter-relação entre a microbiota bucal e doenças sistêmicas têm sido abordada por várias pesquisas. A deterioração da saúde bucal como consequência de hospitalização é comum, em função do aumento do acúmulo do biofilme dentário e presença de inflamação gengival decorrente da dificuldade de realização da higiene bucal no ambiente hospitalar [6]. As condições de saúde bucal e a microbiota residente e adquirida na área após um período de hospitalização podem influenciar a saúde geral, agravando quadros sistêmicos, e podendo até mesmo ser relacionadas à pneumonia nosocomial [7].

As infecções hospitalares, como a pneumonia nosocomial, são uma grande preocupação e representam um desafio mundial [8]. A infecção hospitalar é definida pela Portaria MS nº 2616 de 12/05/1998 como aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifeste durante o período de hospitalização ou após a alta, quando puder ser relacionada à internação ou a procedimentos hospitalares.

A microbiota existente em ambientes hospitalares é muitas vezes composta de microrganismos portadores de resistência a múltiplos fármacos [9]. Assim, muitas

das infecções adquiridas no ambiente hospitalar são de difícil tratamento, e geram aumento do tempo de internação e dos custos, além do risco aumentado de óbito [10].

Pressupõe-se que a aspiração de resíduos da cavidade bucal contendo grande quantidade de microrganismos seja uma das causas de pneumonia em idosos [11]. De maneira análoga, em pacientes hospitalizados, a microbiota bucal pode estar associada às infecções respiratórias causadas por aspiração de microrganismos patogênicos, presentes na língua, dentes e mucosa [12]. A recomendação de procedimentos de higiene e descontaminação bucal em pacientes hospitalizados tem sido tratada em diversos estudos e faz parte de protocolos para prevenção de infecções nosocomiais, principalmente as do trato respiratório [13].

É de grande importância o conhecimento acerca da composição e do comportamento da microbiota bucal durante a internação hospitalar, pois essa informação pode ter grande valor no estabelecimento de protocolos de prevenção, tratamento e biossegurança no ambiente hospitalar [5]. Além disso, o conhecimento acerca do estado de saúde bucal e a compreensão dos fatores responsáveis pela dificuldade de higiene bucal ao longo da hospitalização possibilitam o planejamento de ações de assistência odontológica específicas, direcionadas às demandas dos pacientes internados, visando ao atendimento de suas necessidades e prevenindo agravos à saúde sistêmica.

## **2 JUSTIFICATIVA**

A descrição dos microrganismos relacionados a infecções hospitalares que colonizam a boca dos pacientes hospitalizados pode oferecer informações relevantes sobre as características da microbiota presente no ambiente hospitalar e contribuir para o aprimoramento de protocolos para a prevenção e o tratamento de infecções hospitalares. Além disso, o conhecimento acerca do estado de saúde bucal e a compreensão dos fatores responsáveis pela dificuldade de higiene bucal ao longo da hospitalização são aspectos importantes para a reavaliação de protocolos de assistência odontológica específicos, direcionados às demandas dos pacientes que necessitam ficar hospitalizados.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 MICROBIOTA BUCAL

O corpo humano é colonizado por uma imensa variedade de microrganismos que podem influenciar os processos de saúde e doença [14]. O desequilíbrio desse ecossistema pode estar associado a doenças como obesidade, doença de Crohn, diabetes e periodontite [15-17]. Os recentes avanços de tecnologias de sequenciamento genético e de bioinformática possibilitaram o estudo e a caracterização de diversas espécies de microrganismos que colonizam o corpo humano [18].

Em 2007, o Projeto Microbioma Humano foi iniciado, liderado por pesquisadores americanos, com o objetivo de mapear a microbiota de diversas regiões do corpo humano e compreender seu papel na saúde e nas doenças [18]. Os investigadores deste projeto acreditam ser impossível a compreensão de diversos processos de saúde e doença nos seres humanos sem o conhecimento da imensa quantidade de microrganismos que colonizam o corpo humano [19]. O estudo do microbioma bucal é parte integrante do Projeto Microbioma Humano. Para organizar os dados referentes à identificação dos microrganismos encontrados na cavidade bucal, foi criado um banco de dados, *Human Oral Microbiome Database* ([www.homd.org](http://www.homd.org)). O objetivo do banco é disponibilizar à comunidade científica informações sobre as mais de 600 espécies microbianas que formam o chamado microbioma bucal [19].

A boca é um complexo ecossistema onde centenas de bactérias e outros microrganismos interagem entre si e com o hospedeiro [19,20]. A cavidade bucal de recém-nascidos é rapidamente colonizada por microrganismos semelhantes aos da cavidade bucal da mãe [21]. A microbiota que se estabelece na boca do bebê também é influenciada pelas condições do nascimento e por outros fatores como, por exemplo, o uso de antibiótico pela mãe no momento do parto [22]. Ao longo do tempo, vai se estabelecendo uma microbiota extremamente diversificada cuja

composição depende de fatores do ambiente e do hospedeiro [2]. A cavidade bucal abriga o segundo maior microbioma do corpo humano, sendo o primeiro o intestinal [23,24].

Cada indivíduo abriga uma comunidade microbiana composta de maneira personalizada, mas existe similaridade entre os gêneros encontrados de uma maneira geral na boca [18,25], que possui diferentes nichos com características que proporcionam composições distintas de microbiota em locais como dentes, sulco gengival, língua, lábios, palato duro e palato mole [26], o que pode explicar a grande diversidade de microrganismos que ali habitam.

Na microbiota habitual da boca em pessoas da comunidade, podem ser encontrados vírus, protozoários, arqueias, e principalmente fungos e bactérias [20]. Vários estudos tiveram como objetivo descrever a microbiota presente na boca saudável [19,20,25,26]. O estudo de Bik e colaboradores, realizado com dez indivíduos clinicamente saudáveis, determinou a composição da microbiota bucal utilizando técnicas de extração de DNA e amplificação do gene rRNA 16S e demonstrou a presença frequente de microrganismos pertencentes aos filos Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria, Bacteroidetes e Spirochaetes [25]. Os principais gêneros encontrados foram *Neisseria*, *Cardiobacterium*, *Haemophilus* e *Campylobacter* (Proteobacteria); *Streptococcus*, *Granulicatella* e *Veillonella* (Firmicutes); *Fusobacterium* (Fusobacteria); *Rothia*, *Actinomyces*, *Corynebacterium* e *Atopobium* (Actinobacteria); e *Prevotella*, *Capnocytophaga* e *Bergeyella* (Bacteroidetes), sendo mais abundantes as bactérias do gênero *Streptococcus* em cinco indivíduos e do gênero *Prevotella* em dois [25]. A figura 1 mostra de forma esquemática a composição da microbiota bucal descrita por Bik e colaboradores em dez indivíduos saudáveis. No círculo mais interno estão os gêneros microbianos encontrados em 100% dos indivíduos estudados. No segundo círculo estão os gêneros identificados em 6-9 dos 10 indivíduos, no terceiro, os identificados em 3-5 indivíduos e no mais externo, 1-2 indivíduos [25].

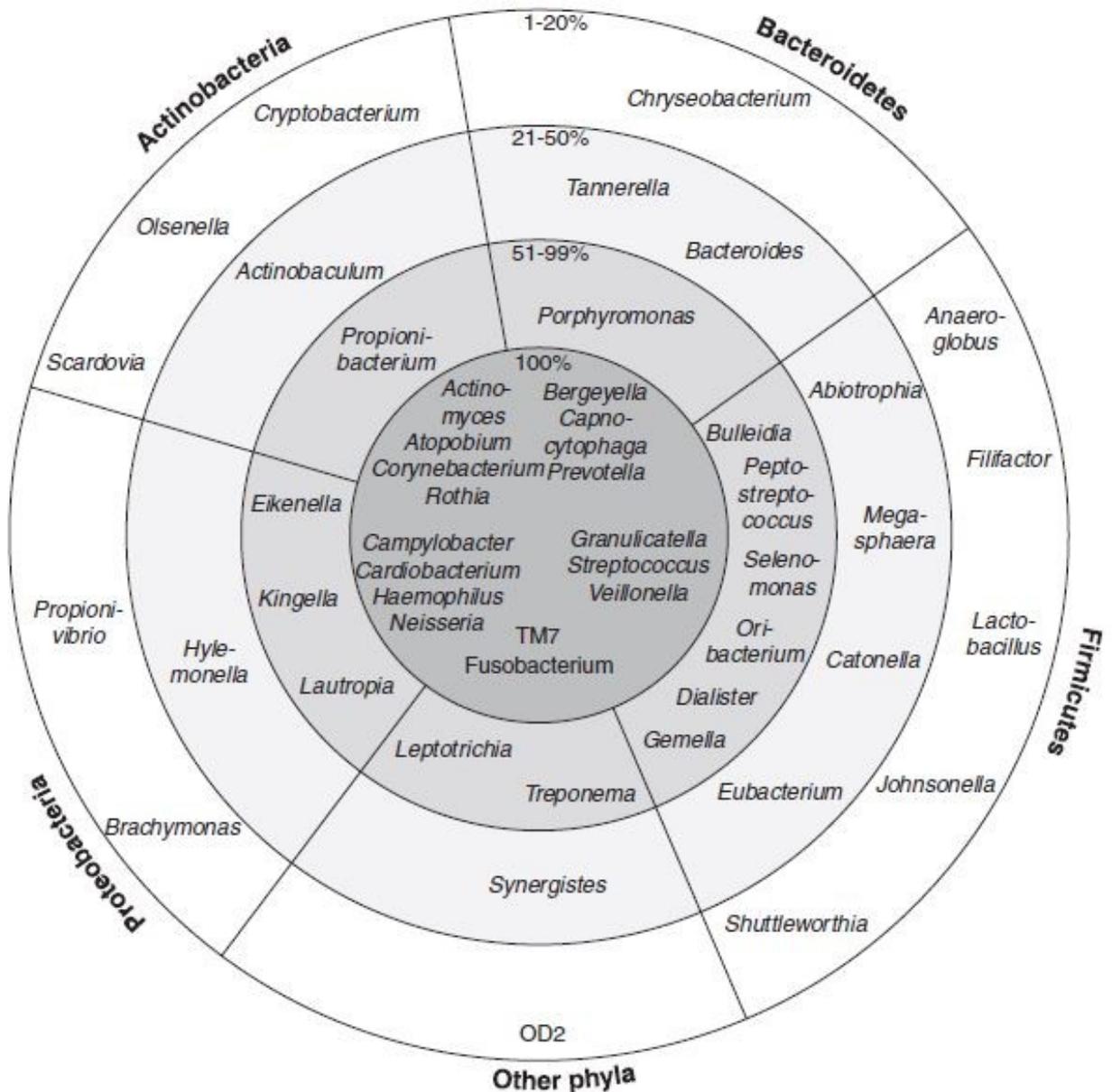


Figura 1 - Representação esquemática da composição da microbiota oral de dez indivíduos saudáveis - No círculo interno estão os gêneros mais prevalentes nos indivíduos e assim sucessivamente nos círculos externos [25].

### 3.2 DISBIOSE BUCAL

Disbiose é o desequilíbrio da microbiota de um determinado local rompendo a relação simbiótica entre microrganismos e hospedeiro [27]. Acredita-se que a microbiota bucal, quando em equilíbrio, contribui para um estado de simbiose entre

os microrganismos e o hospedeiro, onde a homeostase é fundamental para a saúde bucal [23].

Doenças bucais como a cárie e a periodontite não são causadas por espécies microbianas isoladas, mas por um conjunto de espécies que vivem na boca em pequeno número sem causar problemas [28]. Por isso, as principais doenças bucais são consideradas infecções por microrganismos oportunistas que se manifestam quando surgem circunstâncias favoráveis do hospedeiro como mudanças na dieta, má higiene bucal, alterações do sistema imunológico, variações do pH bucal e outras [18].

Os limites entre o ecossistema bucal saudável e as alterações ecológicas que promovem a disbiose não são bem claros [29]. O risco de disbiose parece estar relacionado a uma mudança no perfil da microbiota que, em um determinado momento, torna-se mais especializada do ponto de vista metabólico, constituindo-se uma comunidade com predomínio de microrganismos proteolíticos ou sacarolíticos por exemplo [29].

Há vários estudos buscando comprovar a associação entre doenças sistêmicas e microbiota bucal, como exposto a seguir. A composição do microbioma oral se mostra diferente em pacientes obesos e não obesos, com redução da diversidade microbiana em pessoas obesas [16]. Na presença de diabetes também parece ocorrer uma modificação da microbiota bucal, que se torna mais patogênica com diferenças na alfa diversidade (diversidade média de espécies em determinado local ou habitat) e na beta diversidade (mudança na composição da comunidade microbiana) quando comparada à microbiota bucal de camundongos saudáveis e portadores de diabetes [30]. Na comparação entre pacientes com carcinoma de fígado e pacientes saudáveis houve diferenças significativas na composição da microbiota presente na saburra lingual, que apresentava uma diversidade aumentada nos pacientes com carcinoma de fígado [31].

O papel da microbiota bucal na patogênese de diversas doenças relacionadas ao sistema imunológico também tem sido estudado. Há achados na literatura demonstrando que ocorre disbiose, com aumento significativo de gêneros microbianos como *Veillonella* e *Eubacterium* e redução de *Streptococcus* e *Fusobacterium*, na microbiota bucal de pacientes com doenças autoimunes, como a

colangite biliar primária e a hepatite autoimune, quando comparada a pacientes saudáveis [32].

É de grande importância o entendimento da diversidade microbiana bucal e suas modificações na presença de doença local ou sistêmica [23]. As técnicas de sequenciamento de DNA têm permitido a identificação da microbiota em condições de saúde e de doença, porém, estudos de genômica, transcriptômica e metabolômica devem permitir o conhecimento da atividade dos microrganismos, suas interações com o hospedeiro e os mecanismos pelos quais eles influenciam nas doenças humanas [18].

### 3.3 A SAÚDE BUCAL DURANTE A HOSPITALIZAÇÃO

A atenção relacionada às condições bucais dos pacientes hospitalizados geralmente é inadequada e insuficiente frente ao atendimento de diversas demandas [33]. Um dos motivos é a sobrecarga da equipe de enfermagem, que possui várias outras atribuições, e frequentemente não apresenta preparação para esta tarefa [34].

Um estudo observacional realizado em dois hospitais de Curitiba (Brasil) verificou que pouca atenção era dispensada à higiene bucal de pacientes em estado de coma, mesmo quando o biofilme bacteriano se apresentava visível sobre a superfície de dentes e mucosas [35]. Na comparação entre o grupo de pacientes desacordados e outro grupo com capacidade preservada de realizar sua própria higiene bucal, observou-se aumento progressivo da contagem de microrganismos no primeiro grupo e não no segundo em um período de até sete dias [35]. Em outro estudo, por meio da análise da saliva de pacientes em um período de 72 horas de hospitalização, não foi constatado grande impacto sobre a composição da microbiota, demonstrando grau de estabilidade dessas comunidades microbianas em hospitalizações curtas [36].

Uma coorte de pacientes idosos, respirando em ar ambiente, hospitalizados após fratura dos membros inferiores, foi acompanhada durante 14 dias e chegou-se

à conclusão de que fatores relacionados ao hospedeiro, como idade, grau de fragilidade e comorbidades, apresentam maior impacto sobre a composição da microbiota da orofaringe do que o tempo de hospitalização. [37].

Em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva da Santa Casa de Misericórdia de Barretos (Brasil) houve incremento progressivo do biofilme dentário e saburra lingual, mensurados em dois tempos, 48 e 72 horas após hospitalização, sugerindo que o aumento da quantidade de biofilme bacteriano nas superfícies dentárias pode ser diretamente relacionada ao tempo de hospitalização [38]. Este achado aliado às evidências de colonização do biofilme dentário por microrganismos relacionados à pneumonia nosocomial, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, reforçam as evidências de que pode ocorrer deterioração da saúde bucal durante o período de internação em UTI, impactando em eventos negativos para a saúde e qualidade de vida do paciente [7].

Em outro estudo com 93 pacientes idosos, hospitalizados devido à fratura de membros inferiores, constatou-se deterioração da saúde bucal nos pacientes dentados em um período de 14 dias de acompanhamento. Houve significativo aumento do índice de placa bacteriana diretamente proporcional ao grau de dependência do indivíduo para realizar sua higiene bucal [34].

É fundamental que o paciente hospitalizado receba cuidados de higiene bucal, pois, a saúde bucal deficiente está intimamente ligada à piora da qualidade de vida e bem-estar, além de contribuir para infecções relacionadas à assistência à saúde [7]. A prioridade deve ser estabelecer os melhores procedimentos e intervenções a serem realizados para melhorar e manter a saúde bucal dos pacientes hospitalizados de modo a contribuir com seu restabelecimento.

#### 3.4 MICROBIOTA BUCAL E INFECÇÃO HOSPITALAR

Sabe-se hoje que o microbioma presente nos ambientes hospitalares pode apresentar características próprias e únicas em cada instituição [10] e que há um intercâmbio entre a microbiota do ambiente e a do ser humano que o ocupa [39].

Um estudo desenvolvido durante e logo após a construção e inauguração de uma nova ala do hospital da Universidade de Chicago (EUA) teve o objetivo de compreender a sequência de eventos dos microrganismos durante o processo de colonização dos ambientes hospitalares [40]. Dentre os principais achados está a semelhança encontrada entre a microbiota de pacientes e de superfícies do ambiente hospitalar. Quando um paciente é hospitalizado, inicialmente, adquire a microbiota do ambiente, mas, ao longo de sua permanência, a microbiota do seu quarto de hospital se torna semelhante à microbiota de sua pele [39].

O ambiente hospitalar é colonizado por uma incrível diversidade de microrganismos e compreender a evolução do ecossistema nesse ambiente pode ser fundamental para o controle das infecções hospitalares e para barrar o surgimento de cepas microbianas resistentes [41].

As infecções hospitalares ou infecções relacionadas à assistência em saúde (IRAS) estão entre os maiores problemas enfrentados dentro dos hospitais [42]. Com o rápido aumento da resistência microbiana aos antibióticos em todo o mundo, e, em particular, nos ambientes hospitalares, o tratamento das IRAS fica cada vez mais difícil, exigindo altos custos e maiores riscos ao paciente [43].

Um estudo realizado na UTI de um hospital oncológico de Curitiba (Brasil) se propôs a avaliar clínica e microbiologicamente a boca de pacientes nos tempos de 24, 72 e 120 horas após admissão à UTI. Foi constatada presença e progressão do biofilme visível ao longo do período de acompanhamento e presença de saburra lingual em 92,1% dos pacientes. Além disso, microrganismos relacionados à pneumonia nosocomial foram isolados já no primeiro dia de internação, com maior prevalência de colonização por microrganismos como *Staphylococcus* não produtor de coagulase, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina-MRSA, *Escherichia coli*-ESBL e *Moraxella catarrhalis* [5].

Uma revisão sistemática publicada em 2015 concluiu que cuidados de higiene bucal estão associados a uma redução do risco de pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes de alto risco [44]. Concluiu ainda que, apesar de haver estudos controversos sobre a efetividade da clorexidina, ela pode ser um meio eficaz de reduzir o risco de pneumonia nosocomial. A eficácia de outras técnicas de

higiene bucal como escovação dentária ou limpeza com swab embebido em solução de iodo é incerta [44].

Porém, revisão sistemática publicada em 2018 pela Cochrane, tratando sobre pessoas de qualquer idade residentes em instituições de longa permanência, concluiu que existem evidências pouco confiáveis de que o cuidado odontológico profissional possa reduzir a mortalidade relacionada à pneumonia quando comparado a cuidados odontológicos usuais e que mais estudos são necessários para que se chegue a uma conclusão realmente confiável [45].

Em síntese, a boca é um local amplamente colonizado por microrganismos e pode ser um sítio importante para prevenção de infecções sistêmicas, principalmente as do trato respiratório [46]. Alguns patógenos envolvidos em infecções nosocomiais, como *Staphylococcus* spp., *Enterobacter* spp. e *Candida* spp., colonizam a cavidade oral de pacientes impossibilitados de realizar de forma adequada sua própria higiene bucal, como os pacientes em estado de coma [35].

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o estado de saúde bucal e caracterizar a microbiota bucal relacionada a infecções hospitalares e à resistência microbiana de pacientes internados na Enfermaria de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília em um período de até 7 dias após admissão hospitalar.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Identificar as espécies de *Candida* spp. e espécies bacterianas relacionadas a infecções hospitalares encontradas na boca de pacientes hospitalizados, no início e ao longo de 7 dias de hospitalização
- b. Avaliar de forma geral a saúde bucal, no início e ao longo de 7 dias de hospitalização
- c. Avaliar a presença de lesões de mucosa bucal, número de dentes presentes e próteses dentárias
- d. Avaliar o índice de saburra lingual, no início e ao longo de 7 dias de hospitalização

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 DESENHO E CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO

Trata-se de estudo observacional, transversal e descritivo. O estudo foi realizado entre os meses de julho a dezembro de 2018 na Enfermaria de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília (HUB). Foram realizados três momentos de coleta de dados, sendo o primeiro até 48 horas após a admissão hospitalar, o segundo em 48 horas após o primeiro momento, e o terceiro em 7 dias após admissão hospitalar.

Esse estudo está de acordo com a Resolução CONEP 466/12 e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (Parecer n. 2.628.620; CAAE 87378818.7.0000.5558) (Anexo A).

### 5.2 PARTICIPANTES

Foram recrutados participantes de pesquisa dentre pacientes internados na Enfermaria de Clínica Médica do HUB. Os participantes inicialmente foram abordados em seu leito hospitalar e convidados a participar da pesquisa, após explicação acerca dos objetivos do estudo e do protocolo de pesquisa. Uma vez aceito o convite, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

Os critérios de inclusão foram apresentar idade igual ou superior a 18 anos, estar hospitalizado há menos de 48 horas na Enfermaria de Clínica Médica do HUB e não apresentar qualquer déficit cognitivo ou dificuldade de compreensão.

Os critérios de exclusão foram estar em condição de imunossupressão (realizando quimioterapia, pós-transplantados, HIV), história de hospitalizações

recentes (últimos 30 dias). Além disso, pacientes que não concordaram ou não desejaram participar do estudo.

### 5.3 TREINAMENTO E CALIBRAÇÃO

Foi realizado um projeto piloto de treinamento dos procedimentos clínicos e laboratoriais, em que foram realizados exame e coleta de amostra biológica em oito pacientes internados na Enfermaria do HUB. Cinco destes pacientes permaneceram mais de sete dias internados, possibilitando três coletas neste período. Essas amostras foram processadas em laboratório, sendo realizada a inoculação delas em placas de petri com os meios de cultura Chromagar Candida (BD, Alemanha), ágar Sabouraud (Difco, EUA) acrescido de cloranfenicol na concentração de 0,1 mg/mL para o cultivo de fungos e os meios BHI - Brain Heart Infusion (Acumedia, Neogen, EUA), e ágar MacConkey (Acumedia, Neogen, EUA) para o cultivo de bactérias. Estas placas foram fotografadas para simples registro, sem posterior isolamento ou identificação das colônias microbianas.

Ainda antes do início do estudo, considerando que a coleta de dados clínicos e de amostras biológicas foi realizada por um único examinador, foi realizada calibração e cálculo do coeficiente Kappa para avaliação da concordância intra-examinador na aplicação dos instrumentos para determinação do status de saúde bucal, como o Instrumento de Avaliação da Saúde Bucal para a Triagem Odontológica (IASBTO) [47] e o Índice de Saburra Lingual (ISL) [48]. Foram examinados 14 pacientes da Enfermaria de Clínica Médica do HUB. Cada paciente foi examinado duas vezes em um intervalo de aproximadamente uma hora, para verificação do grau de concordância entre os índices aferidos para o mesmo paciente, em cada um dos exames. Para o IASBTO, o índice Kappa calculado foi de 0,83, indicando concordância quase perfeita e para o ISL o índice foi de 0,74 indicando concordância forte ou substancial, segundo a interpretação de magnitude do coeficiente Kappa sugerida por Landis e Koch [49].

## 5.4 COLETA DE DADOS CLÍNICOS

Foi realizado o preenchimento do *Case Report Form - CRF* (Apêndice B), com dados sobre os motivos da internação, os principais problemas de saúde, os medicamentos em uso, a higiene bucal no hospital, as queixas bucais, o uso de prótese removível e a presença de dentes na boca. Para complementar as informações, também foi consultado o prontuário médico de cada participante incluído na pesquisa.

Os participantes passaram por exame físico intrabucal no leito, realizado sob iluminação artificial, com o auxílio de espátulas de madeira e luvas, de acordo com todas as normas de biossegurança. Foram aplicados dois índices, o IASBTO [47] para mensuração das condições de saúde bucal e o ISL [48], para classificação da saburra lingual.

O ISL vem sendo utilizado desde 1995 para classificar a saburra lingual de acordo com a sua extensão. Para tanto, considera-se a divisão do dorso da língua em três terços e avalia-se a presença ou ausência de saburra lingual, sem considerar a espessura desta. Os escores variam de 0 a 3, sendo 0 indicativo de nenhuma saburra visível, 1 indicativo de extensão inferior a  $\frac{1}{3}$  do dorso da língua, 2 indicativo de extensão inferior a  $\frac{2}{3}$  e 3 extensão superior a mais de  $\frac{2}{3}$  do dorso da língua coberto por saburra. O IASBTO (Quadro 1) foi traduzido para o português a partir do instrumento *Oral Health Assessment Tool* (OHAT) [50]. Este instrumento foi validado na Austrália e utilizado para avaliar as condições de saúde bucal de idosos em instituições de longa permanência. No Brasil, foi realizado um estudo de validação da tradução para o português em 2010, que resultou no IASBTO, instrumento que avalia oito itens a saber, lábios, língua, gengivas e tecidos moles, saliva, presença de dentes naturais, presença de próteses, higiene bucal e dor [47]. Cada um desses itens é avaliado visualmente e recebe uma pontuação, sendo 0 (zero) indicativo de aspecto saudável, 1 indicativo da presença de alterações e 2 indicativo de aspecto não saudável. O escore final é definido como a soma das pontuações obtidas em cada um dos itens, variando entre 0 (muito saudável) e 16 (muito doente) [47].

Quadro 1 - Instrumento de Avaliação da Saúde Bucal para a Triagem Odontológica [47]

Paciente: _____ Preenchido por: _____ Data: ____/____/____ Pontuação: a pontuação final resulta da soma dos pontos das oito categorias e varia entre zero (muito saudável) e 16 (muito doente). Uma vez que os pontos cumulativos são importantes para a avaliação da saúde bucal, a pontuação de cada item precisa ser considerada individualmente. Os sintomas sublinhados requerem atenção imediata. *Se qualquer categoria tiver uma pontuação de 1 ou 2, providencie para que o paciente seja examinado por um dentista. * A presença de qualquer um dos aspectos mencionados nas categorias determina o escore nela indica do.				
1) Categoria	0 = saudável	1 = presença de alterações*	2 = não saudável*	Pontuação por categoria
2) Lábios	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lisos, rosados, úmidos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rachados</li> <li>Avermelhados nas <u>comissuras(cantos dos lábios)</u></li> <li>Secos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Inchaço ou caroço/saliência local</li> <li><u>Mancha branca ou avermelhada</u></li> <li>Úlcera</li> <li><u>Sangramento</u></li> <li>Inflamação nas comissuras</li> </ul>	
3) Língua	<ul style="list-style-type: none"> <li>Normal, úmida, rugosa, rosada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Presença de fissuras</li> <li>Recoberta por saburra (placa branca)</li> <li>Avermelhada</li> <li>Manchada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><u>Úlcerada</u></li> <li>Inchada</li> <li>Mancha <u>avermelhada e/ou branca</u></li> </ul>	
4) Gengivas e tecidos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rosados, úmidos, macios, sem sangramento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Avermelhados</li> <li>Secos</li> <li>Inchados</li> <li>Brilhosos</li> <li>Ásperos/rugoso</li> <li>Mancha ou úlcera</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><u>Manchas brancas ou avermelhadas</u></li> <li>Vermelhidão generalizada</li> <li><u>Gengivas inchadas</u></li> <li><u>Sangramento</u></li> <li><u>Úlceras</u></li> </ul>	
5) Saliva	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tecidos úmidos, salivagem aquosa, fluxo livre desimpedido sem obstrução</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tecidos secos e pegajosos</li> <li>Presença de pouca saliva</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tecidos ressecados e avermelhados</li> <li>Pouquíssima ou nenhuma saliva</li> <li>Saliva muito espessa</li> </ul>	
6) Dentes naturais Sim ou Não	<ul style="list-style-type: none"> <li>Todos os dentes íntegros</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1 a 3 raízes ou dentes com cáries ou <u>quebrados</u></li> <li>Ou dentes muito desgastados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>4 ou mais raízes ou dentes com cáries ou quebrados</li> <li>Ou presença de menos de 4 dentes</li> <li>Ou ainda dentes muito desgastados</li> </ul>	
7) Dentaduras Sim ou Não	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nenhuma área ou dente quebrado.</li> <li>Dentaduras utilizadas em ambas as arcadas continuamente durante o dia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1 área ou 1 dente danificado</li> <li>Dentaduras utilizadas por apenas 1 a 2 h ao dia</li> <li>Dentaduras soltas/frouxas</li> <li>Usa somente uma dentadura (superior ou inferior)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mais de 1 área ou mais de 1 dente danificado</li> <li><u>Falta de dentadura ou dentadura não utilizada</u></li> <li>Precisa de adesivo para dentadura</li> </ul>	
8) Higiene bucal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Boca limpa; Sem resíduos de alimento; Sem tártaro em boca ou nas dentaduras</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Resíduos de alimento tártaro ou placa bacteriana em 1 a 2 áreas da boca ou em pequena área da dentadura</li> <li>Mau hálito (halitose)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Restos de alimento ou tártaro ou placa bacteriana na maioria das áreas da boca ou na maior parte das dentaduras</li> <li>Mau hálito severo (halitose)</li> </ul>	
9) Dor de dente	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sem sinais comportamentais, verbais ou físicos de dor de dente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sinais verbais ou comportamentais de dor de dente como caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sinais físicos como <u>inchaço facial, abscessos nas gengivas</u>, dentes quebrados, grandes ulcerações, e sinais verbais ou comportamentais como <u>caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade</u></li> </ul>	
<input type="checkbox"/> Encaminhe o paciente para ser examinado por um dentista <input type="checkbox"/> O paciente ou a família/responsáveis recusam o tratamento dentário <input type="checkbox"/> Próxima revisão da saúde bucal do paciente em: ____/____/____				Pontuação total:

## 5.5 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Foram coletadas amostras microbiológicas de cada participante da pesquisa, por meio de fricção de uma haste flexível com extremidade de algodão (swab) estéril nos seguintes sítios bucais: superfície vestibular dos dentes molares inferiores de um dos lados (quando presentes na boca), mucosa do fundo de saco vestibular de um dos lados na região de molares inferiores e dorso de língua. Essas coletas foram realizadas sempre pela manhã, aproximadamente uma hora após alimentação, em três momentos do período de internação:

1ª coleta (T1): até 48 horas após admissão hospitalar

2ª coleta (T2): 48 horas após a 1ª coleta

3ª coleta (T3): 7 dias após a admissão hospitalar

Os swabs, contidos em embalagens individuais fechadas sem meio de cultura, foram transportados em recipiente refrigerado ao Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos (LAMP) do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, onde foram processados no mesmo dia da coleta, para determinação dos microrganismos presentes em cada amostra.

## 5.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA LABORATORIAL

As amostras biológicas contidas nos swabs foram homogeneizadas individualmente em 1 mL de soro fisiológico estéril e centrifugadas a 10.000 x G, por 1 minuto e 30 segundos à temperatura ambiente. O volume de 800 microlitros do sobrenadante foi descartado e o precipitado contido no volume restante novamente homogeneizado por pipetagem para a realização da semeadura por esgotamento em placas com meios de cultura cromogênicos CHROmagar™ Candida (BD, Alemanha) e CHROmagar™ Orientation (BD, Alemanha). Esses meios de cultura foram escolhidos para permitir a identificação qualitativa de microrganismos

epidemiologicamente significativos no tocante a infecções nosocomiais e à resistência microbiana.

O CHROmagar™ Orientation é um meio não seletivo para o isolamento, identificação direta, diferenciação e enumeração de agentes patogênicos do aparelho urinário. Ele permite a diferenciação e identificação de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp diretamente na placa de isolamento, sem necessidade de realizar testes de confirmação, além disso, é possível realizar uma presumível identificação da maioria das estirpes de *Staphylococcus saprophyticus* e *Streptococcus agalactiae*, bem como dos grupos *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (=KES) e *Proteus-Morganella-Providencia* (=PMP). A identificação é feita através de substratos cromogênicos incorporados ao meio que reagem com enzimas bacterianas de tal maneira, que as colônias aparecem com cor e morfologia características [51] (Figura 2).

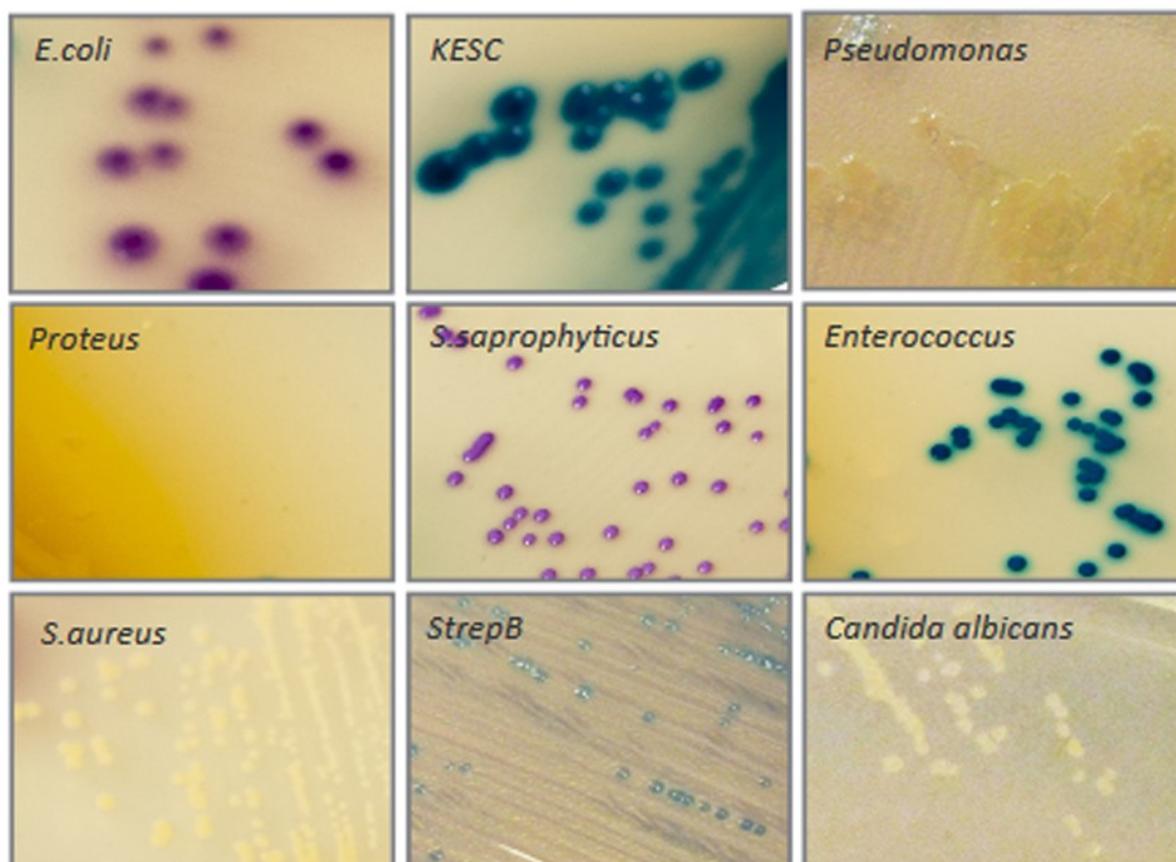


Figura 2 – Aparência típica de colônias microbianas no meio de cultura Chromagar™ Orientation

Fonte: Instruções de uso (Chromagar Company, França)

O CHROMagar™ Candida é um meio seletivo para diferenciação e isolamento de fungos. Com a inclusão de substratos cromogênicos no meio, as colônias de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* produzem cores diferentes, permitindo assim a detecção direta destas espécies de leveduras na placa de isolamento. As colônias de *C. albicans* aparecem com uma cor verde-claro a verde médio, as de *C. tropicalis* aparecem azuis esverdeadas a azul metalizado e as de *C. krusei* aparecem cor-de-rosa claro com um rebordo esbranquiçado. Outras espécies de leveduras poderão desenvolver a sua cor natural (creme) ou aparecer cor-de-rosa ou cor de malva claro a escuro [52,53].

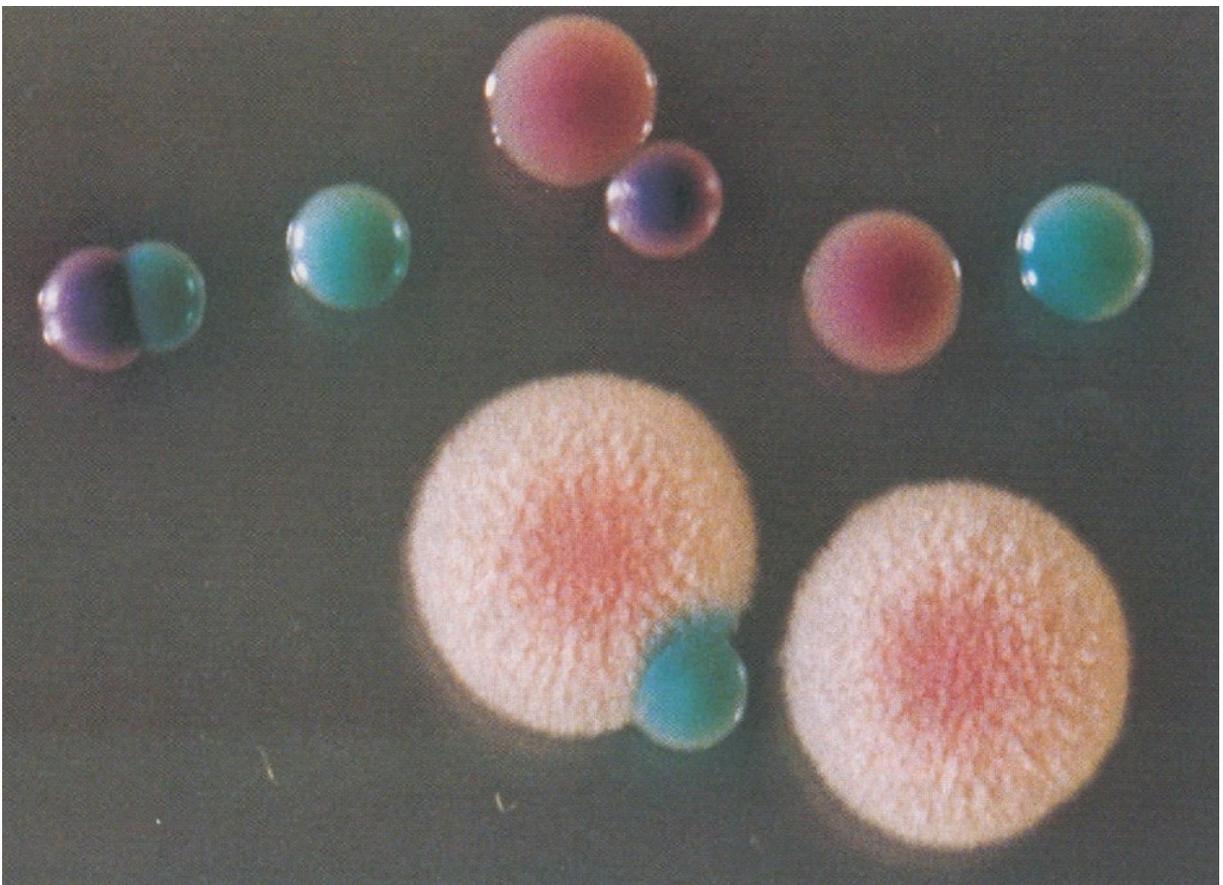


Figura 3 - Colônias retiradas de uma suspensão mista de quatro espécies diferentes de *Candida* e incubadas por 48 horas a 37 ° C em CHROMagar™ *Candida*. Todas as quatro espécies podem ser distinguidas: duas colônias de *C. glabrata* são rosa, duas colônias de *C. tropicalis* são roxo-azuladas, quatro colônias de *C. albicans* são verdes e as duas grandes colônias ásperas, rosa-pálidas são *C. krusei*. Ampliação x5.5 [52]

As placas foram incubadas a 37°C por 20-24 horas para culturas bacterianas e 48-72 horas para culturas de fungos. Após esse tempo, foi possível diferenciar e identificar os microrganismos através do aspecto físico e da cor das colônias que cresceram nos meios de cultura anteriormente citados. Os dados da identificação foram anotados numa tabela com um código para cada microrganismo identificado.

Para o isolamento e armazenamento das espécies de microrganismos, as colônias identificadas nas placas foram inoculadas separadamente em tubos estéreis contendo meios de cultura BHI (Brain Heart Infusion) para bactérias e YPD (Yeast extract-Peptide-Dextrose) para fungos. Com uma alça de transferência ou pequena haste de madeira previamente esterilizada, foi removida uma colônia do microrganismo identificado na placa de petri e inoculada no interior de um tubo contendo 5 mL de um dos meios de cultura citados anteriormente.

Os tubos foram incubados a 37°C por 48-72 horas e após esse tempo a turvação do meio de cultura no interior do tubo era indicativa do crescimento microbiano. Dos tubos em que houve crescimento microbiano, foram preparados dois tubos do tipo Eppendorf para armazenamento. Em cada um deles foi colocada uma alíquota de 500 microlitros do meio de cultura turvo e 500 microlitros de solução de glicerol a 50%. Essa mistura foi homogeneizada e congelada a - 80°C para utilização futura. Também foi preparado um terceiro tubo com 500 microlitros do meio de cultura contendo o microrganismo e armazenado em câmara fria para conferência da identificação microbiológica realizada nas placas de Petri. Todos os tubos foram identificados com o código previamente estabelecido na identificação e que possibilitou saber a qual paciente e a qual tempo de coleta pertence cada uma das amostras.

Para confirmação das identificações de microrganismos realizadas, foi feita nova inoculação em placas com meios de cultura CHROMagar™ Candida e CHROMagar™ Orientation a partir dos tubos tipo Eppendorf que estavam na câmara fria.

## 5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados sob a forma de estatística descritiva. As variáveis categóricas foram apresentadas por meio do valor absoluto e porcentagem e as variáveis quantitativas por média e desvio padrão.

Para avaliar o efeito do tempo de hospitalização sobre os índices de saúde bucal utilizados (IASBTO e ISL), foi utilizado o teste de Friedman, seguido do pós-teste de Dunn.

A análise estatística dos índices de saúde bucal foi realizada por meio do programa Graphpad Prism (La Jolla, California).

Para avaliar diferenças na proporção de microrganismos encontrada em cada tempo de coleta foi utilizado o teste Q de Cochran para grupos relacionados. A análise estatística da parte microbiológica foi realizada no programa IBM SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) 23, 2015.

## 6 RESULTADOS

Foram avaliados 403 participantes por meio de entrevista e/ou consulta ao prontuário médico, dos quais 300 foram enquadrados em critérios de exclusão. Portanto, foram incluídos no estudo 103 indivíduos, sendo que 40 deles receberam alta hospitalar logo após a primeira coleta e 17 após a segunda. A Figura 4 mostra o fluxograma da fase clínica do estudo.

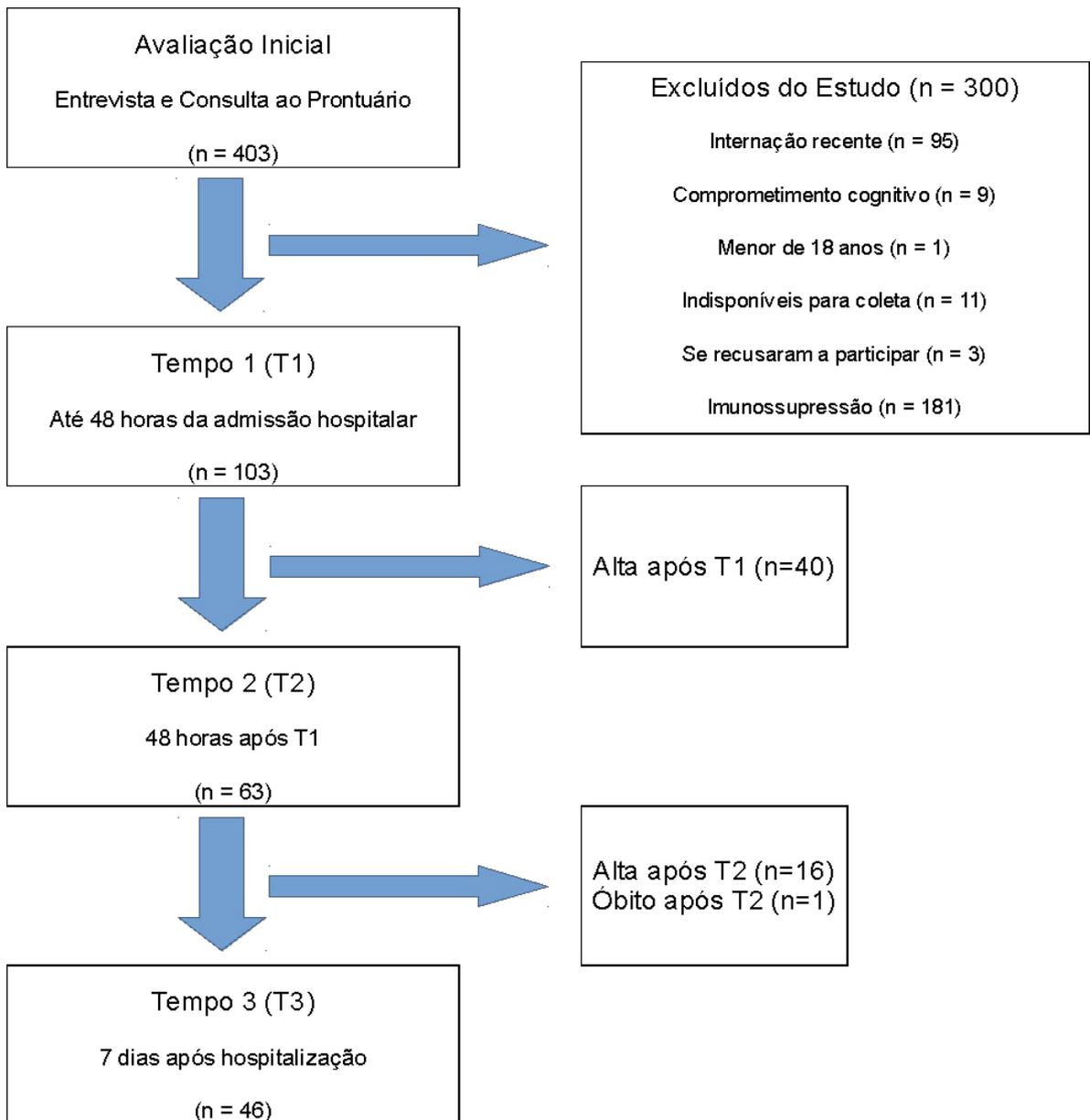


Figura 4 – Fluxograma da fase clínica do estudo

A amostra de 103 participantes foi composta por 64 mulheres (62,1%) e 39 homens (37,8%) com média de idade de 53 ( $\pm 17,5$ ), variando entre 19 e 92 anos. Apenas um paciente se declarou etilista e 12 tabagistas. A média do número de dentes presentes foi de 13 ( $\pm 11,9$ ). Havia 34 pacientes desdentados totais e 50 usuários de prótese removível. Dentre os 34 desdentados totais, somente 25 (73,5%) usavam prótese dentária. Dos usuários de prótese dentária, apenas oito a retiravam para dormir. Oito pacientes declararam não realizar higiene bucal, sendo cinco deles desdentados totais. A caracterização da amostra estudada está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização da amostra de pacientes internados na unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília de julho a dezembro de 2018. Distribuição absoluta(n) e percentual(%) das respostas (n = 103) (continua)

		n	%
Sexo	Masculino	39	37,86
	Feminino	64	62,14
Idade (em anos)	19 - 29	9	8,74
	30 - 39	15	14,56
	40 - 49	20	19,42
	50 - 59	16	15,53
	60 - 69	25	24,27
	70 - 79	8	7,77
	80 - 92	10	9,71
Fumante	Sim	12	11,65
	Não	91	88,35
Via de Alimentação	Oral	101	98,06
	Outras	2	1,94
Presença de dentes	Desdentados totais	34	33,01
	De 1 a 6 dentes na boca	6	5,82
	De 7 a 20 dentes na boca	19	18,45
	Mais de 21 dentes na boca	44	42,72
Usuário de prótese removível	Sim	50	48,54
	Não	53	51,46

Tabela 1 – Caracterização da amostra de pacientes internados na unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília de julho a dezembro de 2018. Distribuição absoluta(n) e percentual(%) das respostas (n = 103) (continuação)

Retira a prótese para dormir (n = 50)	Sim	9	18
	Não	41	82
Realiza higiene bucal no hospital	Sim	95	92,23
	Não	8	7,77
Necessidade de auxílio para higiene bucal	Sim	5	4,85
	Não	98	95,15
Frequência diária da higiene bucal	1 x	15	14,56
	2 x	39	37,86
	3 x ou mais	41	39,81
	Não se aplica	8	7,77
Causa da hospitalização	Investigação clínica	30	29,13
	Agravamento de doença de base	17	16,50
	Realização de exames	8	7,77
	Infecções agudas	19	18,45
	Realização de procedimento	3	2,91
	Outras condições agudas	25	24,27
	Troca de medicação	1	0,97
Comorbidades	Hipertensão	63	60,17
	Diabetes	28	27,18
	Cardiopatía	16	15,53
	Artrite	4	3,88
	Problemas gástricos	10	9,71
	Distúrbios da tireóide	17	16,50
	Depressão	10	9,71
	Asma	8	7,77
	Nefropatia	11	10,68
	Hepatopatía	3	2,91
	Epilepsia	2	1,94
	Fibromialgia	2	1,94
	Hanseníase	3	2,91
Leishmaniose	7	6,80	

As medicações mais utilizadas foram as relacionadas ao controle da pressão arterial, como os hipotensores, utilizados por 58 pacientes e os diuréticos (40), seguidos de anticoagulantes (51), conforme demonstra o gráfico da Figura 5. Estas medicações incluíram tanto aquelas de uso contínuo quanto as prescritas durante a internação hospitalar.

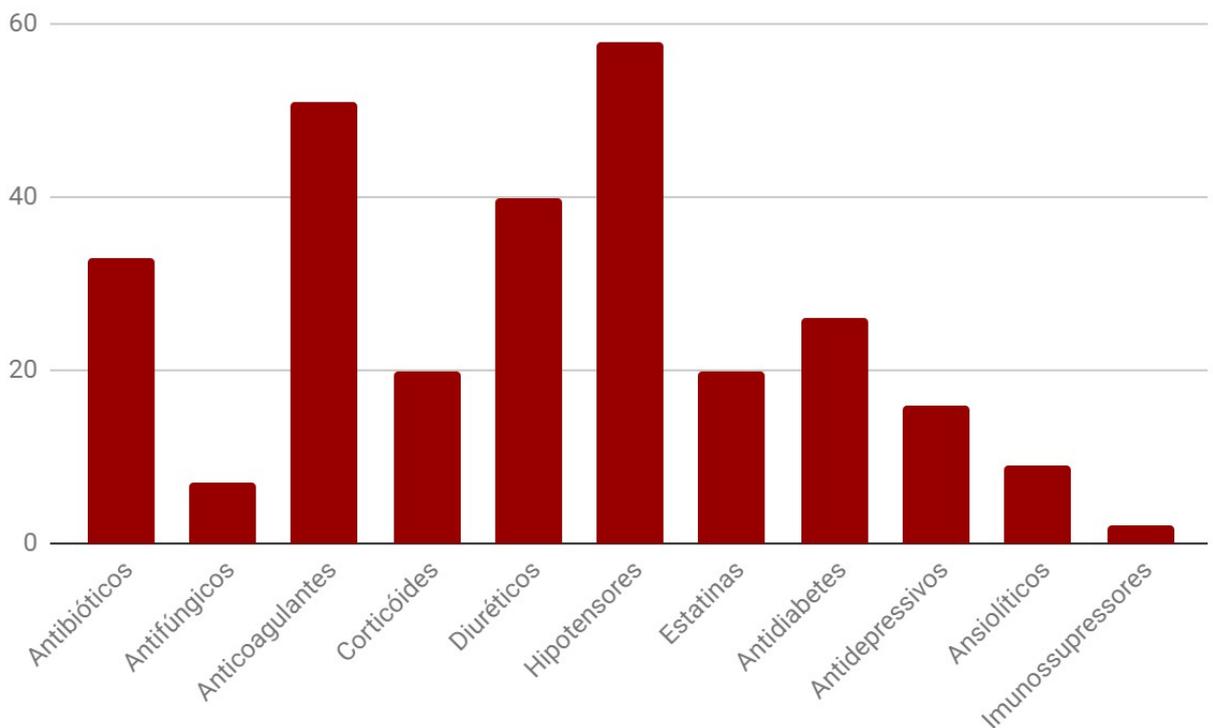


Figura 5 - Distribuição percentual do uso de medicamentos por pacientes internados na Unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília, no período de julho a dezembro de 2018 (n = 103).

## 6.1 RESULTADOS CLÍNICOS

As principais queixas relacionadas a saúde bucal relatadas pelos participantes encontram-se apresentadas na Tabela 2. A queixa mais frequente foi a xerostomia, relatada por mais da metade dos participantes. A segunda maior queixa foi a dificuldade de mastigação e a terceira, halitose.

Tabela 2 – Queixas relacionadas a saúde bucal de pacientes internados na unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília de julho a dezembro de 2018. Distribuição absoluta (n) e percentual (%) das respostas (n = 103)

	n	%
Xerostomia	55	53,40
Dificuldade na mastigação	28	27,18
Halitose	22	21,36
Dente cariado ou fraturado	18	17,48
Diminuição do paladar	17	16,50
Sangramento gengival	15	14,56
Dificuldade de deglutição	14	13,59
Dor dental	11	10,68
Ardência bucal	10	9,71
Dente com mobilidade	6	5,83

Em T1, dos 103 pacientes, 26 (25,2%) foram identificados com lesões bucais, em T2, de 63 pacientes foram identificadas 17 lesões (26,9%) e em T3, nove lesões (19,5%) dentre os 46 pacientes que restaram hospitalizados. Cinco pacientes que não apresentavam lesões bucais ao primeiro exame, desenvolveram úlceras bucais ao longo dos sete dias de acompanhamento. A distribuição percentual da das lesões bucais encontradas no primeiro exame (T1) encontra-se na Figura 6.

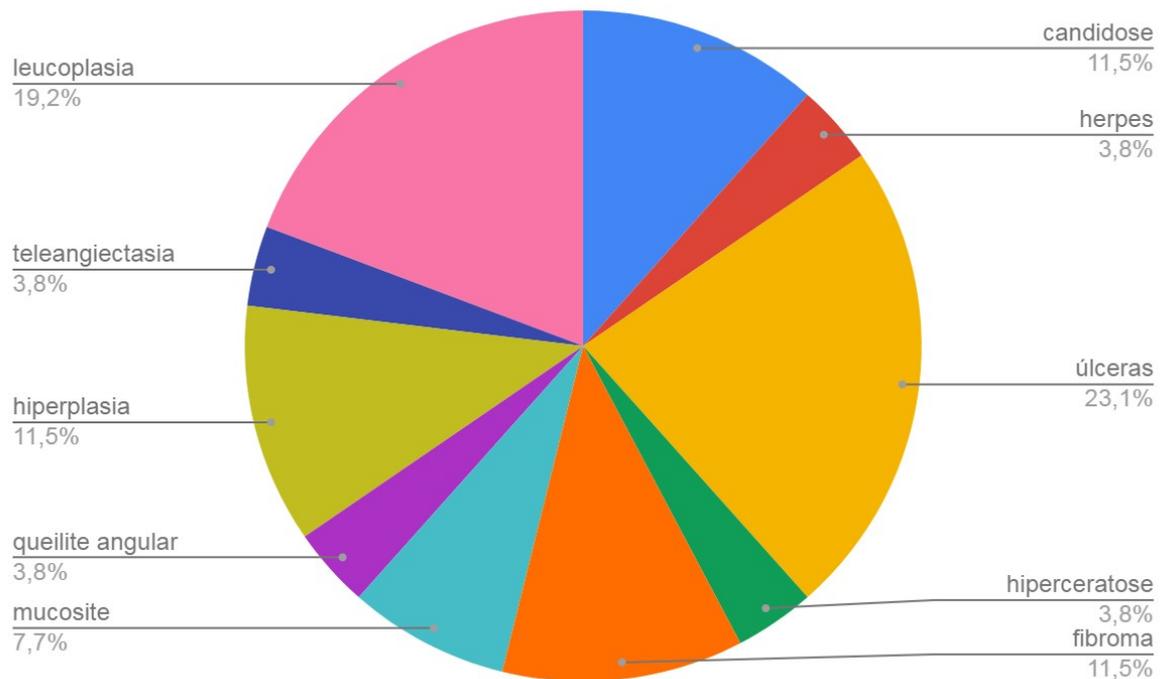


Figura 6 – Frequência percentual de lesões bucais diagnosticadas em T1 nos pacientes internados na unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília de julho a dezembro de 2018 (n = 26)

Na Tabela 3 são apresentadas as médias e desvio padrão dos índices IASBTO e ISL dos participantes do estudo, no três tempos de avaliação.

Tabela 3 – Índice de Avaliação da Saúde Bucal para Triagem Odontológica (IASBTO) e Índice de Saburra Lingual (ISL) dos pacientes internados na Unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília nos três tempos do estudo, no período de julho a dezembro de 2018. Dados apresentados como média e desvio padrão. Análise de Variância de Friedman; \*p<0.05.

	T1 (n = 46)	T2 (n = 46)	T3 (n = 46)	P-valor
IASBTO (Média e desvio padrão)	6.17 (± 1.88)	5.93 (± 2.06)	5.78 (± 2.26)	0.06
ISL (Média e desvio padrão)	2.41 (± 0.88)	2.35 (± 0.82)	2.46 (± 0.69)	0.55

## 6.2 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Em T1 foram coletadas 103 amostras biológicas, em T2, 63 amostras e em T3, 46 amostras, totalizando 212 amostras. Cada amostra foi inoculada em duas placas com meio de cultura CHROMagar™ Candida e CHROMagar™ Orientation, meios para fungos e bactérias respectivamente. A identificação das colônias fúngicas e bacterianas foi realizada visualmente nas placas pelo aspecto fenotípico e morfológico das colônias que aparecem com diferentes cores e aspectos nos meios cromogênicos. Foram identificadas 882 colônias microbianas no total. Todas elas foram isoladas em tubos estéreis com 5 mL de meio de cultura BHI(Brain Heart Infusion) para bactérias e YPD (Yeast extract-Peptone-Dextrose) para fungos. Os tubos foram incubados a 37°C por 48-72 horas e após esse tempo, houve crescimento microbiano positivo (indicado pela turvação do meio de cultura) em 444 tubos. Houve uma perda de aproximadamente 50% das colônias identificadas cujos tubos com meio de cultura não apresentaram turvação, indicando o não crescimento da colônia.

A partir dos tubos em que houve crescimento, foram preparados três tubos do tipo Eppendorf. Dois deles foram armazenados a -80 °C para experimentos futuros e um deles foi armazenado em câmara fria e utilizado para realizar inoculação em novas placas com meio de cultura para confirmação das identificações de gênero e espécie de microrganismos anteriormente realizadas. A figura 7 mostra um fluxograma da parte laboratorial do estudo.

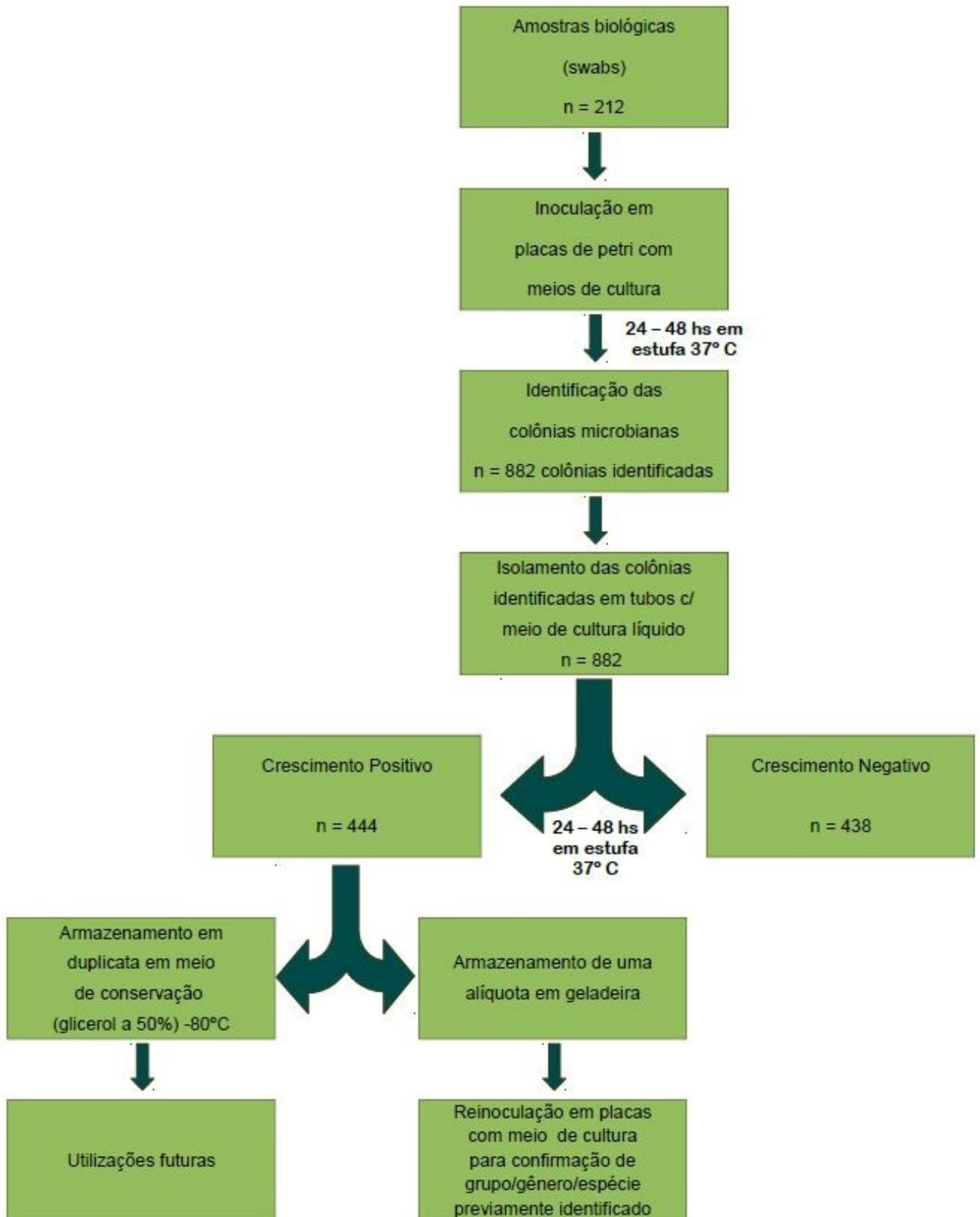


Figura 7 – Fluxograma da fase laboratorial do estudo

A Tabela 4 mostra em número absoluto e porcentagem, os microrganismos identificados nas amostras dos participantes, considerando todos aqueles que estavam internados em cada momento da coleta de dados.

Tabela 4 – Distribuição absoluta e percentual de microrganismos presentes nas amostras bucais coletadas nos três tempos de pacientes internados na Unidade de Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília, no período de julho a dezembro de 2018.

	T1 (n=103)	T2 (n=63)	T3 (n=46)
<i>E. coli</i>	89 (86,41%)	51 (80,95%)	34 (73,91%)
<i>Enterobacter</i>	51 (49,51%)	31 (49,21%)	21 (45,65%)
<i>S. aureus</i>	29 (28,16%)	25 (39,68%)	15 (32,61%)
<i>Streptococcus spp.</i>	1 (0,97%)	1 (1,59%)	2 (4,35%)
<i>Enterococcus</i>	82 (79,61%)	48 (76,19%)	34 (73,91%)
<i>Pseudomonas</i>	49 (47,57%)	32 (50,79%)	25 (54,35%)
<i>Proteus</i>	7 (6,80%)	4 (6,35%)	3 (6,52%)
<i>Klebsiella</i>	13 (12,62%)	6 (9,52%)	3 (6,52%)
<i>C. albicans</i>	42 (40,78%)	28 (44,44%)	21 (45,65%)
<i>C. tropicalis</i>	20 (19,42%)	11 (17,46%)	9 (19,57%)
<i>C. krusei</i>	5 (4,85%)	7 (11,11%)	5 (10,87%)
<i>C. glabrata</i>	13 (12,62%)	12 (19,05%)	8 (17,39%)

Para comparação dos resultados, foi estabelecida a proporção de amostras com resultado positivo para cada microrganismo nos três tempos de coleta e, portanto, foi considerada a amostra de 46 pacientes que estiveram presentes nas três coletas. A Figura 8 mostra o gráfico de frequência percentual de microrganismos nos três tempos de coleta e a Tabela 5 mostra os dados numéricos do perfil microbiológico dos 46 pacientes que permaneceram internados durante ao menos sete dias.

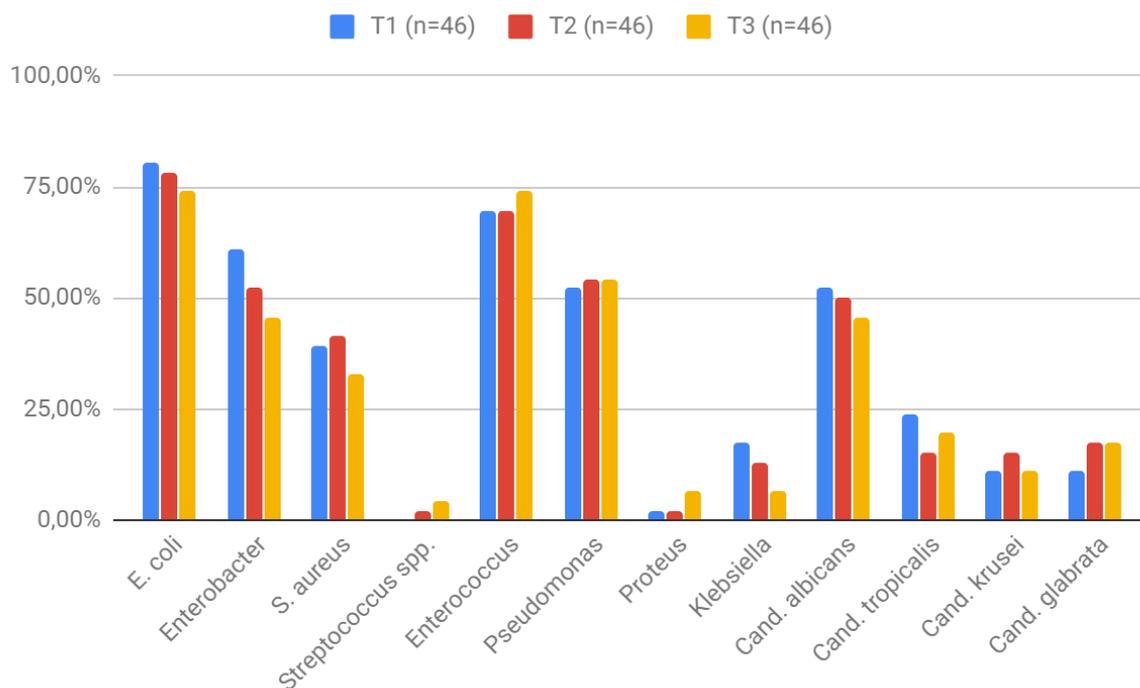


Figura 8 - Distribuição percentual dos microrganismos identificados nos pacientes que permaneceram internados na Enfermaria de Clínica Médica do HUB nos três tempos de coleta , no período de julho a dezembro de 2018.

Tabela 5 – Distribuição absoluta e percentual dos microrganismos presentes em pacientes internados na Enfermaria de Clínica Médica do HUB nos três tempos de coleta (2018). \* Teste Q de Cochran

	T1	T2	T3	P*
	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>E. coli</i>	37 (80,4)	36 (78,6)	34 (73,9)	0,584
<i>Enterobacter</i>	28 (60,9)	24 (52,2)	21 (45,7)	0,214
<i>S. aureus</i>	18 (39,1)	19 (41,3)	15 (32,6)	0,444
<i>Streptococcus spp</i>	0 (0,0)	1 (2,2)	2 (4,3)	0,223
<i>Enterococcus</i>	32 (69,6)	32 (69,6)	34 (73,9)	0,641
<i>Pseudomonas</i>	24 (52,2)	25 (54,3)	25 (54,3)	0,951
<i>Proteus</i>	1 (2,2)	1 (2,2)	3 (6,5)	0,135
<i>Klebsiella</i>	8 (17,4)	6 (13,0)	3 (6,5)	0,232
<i>C. albicans</i>	24 (52,2)	23 (50,0)	21 (45,7)	0,627
<i>C. tropicalis</i>	11 (23,9)	7 (15,2)	9 (19,6)	0,368
<i>C. krusei</i>	5 (10,9)	7 (15,2)	5 (10,9)	0,695
<i>C. glabrata</i>	5 (10,9)	9 (17,4)	9 (17,4)	0,472
Total	46	46	46	

## 7 DISCUSSÃO

Este é um estudo cujos participantes são pacientes hospitalizados em Enfermaria. Nas buscas pela literatura, não foram encontrados muitos estudos sobre alterações do estado de saúde bucal de pacientes internados em Enfermaria, dificultando assim possíveis comparações. A maioria dos estudos encontrados trata de pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTI) ou instituições de longa permanência. Portanto, o presente estudo abre questionamentos sobre a necessidade de maior atenção a ser dispensada à saúde bucal destes pacientes, que geralmente não se encontram tão debilitados quanto aqueles hospitalizados em UTI, mas que certamente receberiam muitos benefícios com a implementação de protocolos de assistência odontológica neste ambiente de internação.

A maior causa de hospitalização entre os participantes da pesquisa foi a investigação clínica devido a resultados de exames alterados ou sintomas persistentes e ainda não explicados. Muitos deles foram admitidos no hospital para realização de exames e receberam alta antes do período de sete dias do acompanhamento planejado no protocolo de pesquisa. Dos 103 participantes inicialmente incluídos no presente estudo, houve uma perda de 55,3% deles ao longo do acompanhamento em função de alta hospitalar, transferência para outro hospital e óbito. Vários outros estudos que avaliaram higiene bucal durante hospitalização também relataram redução do número de participantes no decorrer do tempo de acompanhamento de pesquisa, devido à alta hospitalar, óbitos ou transferências para outras unidades de internação [7,34,35,54,55].

A maioria dos participantes declarou realizar higiene bucal três vezes ao dia, durante a permanência no HUB. Entretanto, oito pacientes afirmaram não realizar higiene bucal e três referiram utilizar apenas água para esse cuidado. Desse total de onze participantes, sete eram desdentados totais, muitos dos quais com a crença de que, diante da ausência de dentes, é desnecessária a realização da higiene bucal.

Essa crença poderia ser modificada se houvesse ações de educação em saúde e assistência odontológica para os pacientes hospitalizados na Enfermaria. Ações desse tipo também contribuiriam para o maior engajamento e participação de pacientes e familiares nos cuidados relativos não só à saúde bucal, mas também à saúde geral. É inegável a influência de uma boa saúde bucal para as interações sociais, auto-estima, escolhas alimentares, nutrição adequada e qualidade de vida do indivíduo, exercendo influência sobre a saúde sistêmica [56]. Os outros quatro participantes dentados apresentaram várias justificativas para a não realização da higiene bucal, como falta de escova e creme dental devido à internação repentina ou a esquecimento, além da presença de úlceras e ferimentos bucais, tornando a higiene muito incômoda. Somente em dois casos, a dependência de auxílio para escovação dentária pareceu ser o principal fator limitador. Surpreendentemente, em um deles, a acompanhante/cuidadora justificou a não realização da higiene bucal em função de edentulismo total. Porém, ao exame físico foi constatada a presença de seis dentes. Há estudos como o de Ewan e colaboradores que demonstraram que o comprometimento da higiene bucal é maior e os índices de biofilme bacteriano são mais altos em pacientes com maior grau de dependência [34].

A queixa mais prevalente relacionada à saúde bucal foi xerostomia, seguida de dificuldade mastigatória e halitose. A maioria dos participantes estava recebendo grande quantidade de medicamentos, muitos deles potenciais causadores de xerostomia. As medicações mais utilizadas foram as relacionadas ao controle da pressão arterial, como hipotensores e diuréticos, porém muitos participantes encontravam-se sob polifarmácia, que pode ser conceituada de forma variável, mas, no presente estudo, foi considerada como o uso de cinco ou mais medicamentos concomitantes [57,58]. Uma revisão sistemática publicada em 2018 demonstrou que o uso de medicações está associado à xerostomia e à hipofunção das glândulas salivares, sendo a chance de xerostomia diretamente proporcional ao número de

medicamentos utilizados [59]. A dificuldade mastigatória, segunda queixa mais prevalente, pode estar relacionada ao grande número de participantes totalmente edêntulos, dos quais apenas 73,5% usam prótese dentária.

No presente estudo, houve uma prevalência de 25,2% de participantes que apresentaram lesões bucais no primeiro exame. As lesões bucais mais prevalentes foram mucosites e úlceras bucais. O estudo de Gemaque e colaboradores, realizado em um hospital da cidade de Belém (Brasil), encontrou uma prevalência de lesões bucais em 84,3% dos pacientes [60]. Porém, a amostra do estudo citado era composta por pacientes portadores de doenças infecto-contagiosas, diferente do presente estudo, no qual foram incluídos pacientes com condições diversas de saúde. Apesar das diferenças entre os dois estudos, cabe aqui uma reflexão sobre a necessidade da atenção odontológica inserida em uma abordagem multidisciplinar do paciente durante a hospitalização.

Não houve diferenças significativas entre o índice utilizado para mensurar a saburra lingual no início do estudo e após sete dias de hospitalização. A condição geral de saúde bucal, determinada pelo IASBTO, mostrou uma pequena diferença entre T1 e T3, com média menor do IASBTO em T3, porém sem diferença estatisticamente significativa. Esses dados contrastam com a maioria dos achados na literatura que demonstram a piora da higiene bucal com aumento do acúmulo de biofilme bacteriano e de saburra lingual durante um período de hospitalização de 14 dias [7,34,54]. O estudo de Cruz Morais demonstrou que, ao longo de 72 horas de internação em UTI, ocorreu incremento progressivo do biofilme dentário e da saburra lingual [38]. Sousa e colaboradores constataram aumento do biofilme bacteriano e da inflamação gengival após 14 dias de hospitalização eletiva fora do ambiente de terapia intensiva em dois hospitais da cidade de Teresina (Brasil) [55].

Um dos fatores aventados para explicar a ausência de declínio evidente das condições de saúde bucal durante o período do presente estudo é o fato da maioria

dos participantes ter apresentado autonomia para realização de sua própria higiene bucal, pois apenas cinco deles (4,85%) necessitavam de auxílio para realização desta tarefa. A presença da própria equipe de pesquisadores odontólogos também pode ter atuado como estímulo para que os pacientes mantivessem e até mesmo incrementassem os cuidados de higiene bucal ao qual já estavam habituados. Outra explicação pode ser o fato de que alguns participantes estavam sem material de higiene bucal nos primeiros dias da internação e o serviço de voluntários do HUB providenciou itens de higiene para doação para aqueles que não os possuíam.

No presente estudo percebeu-se que, em relação à saúde bucal dos participantes hospitalizados em Enfermaria, não era realizado um protocolo de assistência padronizado. Um estudo observacional realizado em dois hospitais de Teresina (Brasil), cuja amostra se assemelha à do presente estudo por se tratar de pacientes hospitalizados fora da UTI [55], constatou ausência de rotina para os cuidados de higiene bucal nesses ambientes de internação e que nenhum dos membros da equipe multidisciplinar avaliava as condições de saúde bucal dos pacientes durante o período de hospitalização [55].

Cecon e colaboradores observaram que a equipe de enfermagem dispensava pouca e inadequada atenção à higiene bucal de pacientes em coma, mesmo diante da presença de biofilme bacteriano visível a olho nu sobre os dentes [35]. O estudo de Ewan e colaboradores discutiu acerca do despreparo técnico e falta de tempo disponível da equipe de enfermagem para prestação de cuidados adequados relacionados à saúde bucal [34].

Evidências de que cuidados de higiene bucal, juntamente com outros procedimentos, ajudem a redução da incidência da pneumonia nosocomial, principalmente a pneumonia associada à ventilação mecânica são demonstradas em diversos estudos. Apesar de não existir consenso sobre a melhor técnica ou protocolo [61], há evidências da importância da saúde bucal para a prevenção de

infecções nosocomiais. Revisão sistemática publicada em 2016 demonstrou que um protocolo de higiene bucal realizado na fase pré-operatória de cirurgias torácicas de grande porte reduz a incidência de infecções respiratórias e infecções da ferida cirúrgica no período pós-operatório [62].

Várias pesquisas apontaram indícios de que a microbiota bucal está relacionada às infecções respiratórias em idosos e pessoas hospitalizadas [35,37,63,64]. Porém, esse parece ser um dos primeiros estudos da microbiota bucal com amostra selecionada dentre pacientes hospitalizados em Enfermaria, já que nas buscas pela literatura, apenas um estudo de coorte foi encontrado, em que o grupo de pacientes selecionados não estava em UTI, nem sob ventilação mecânica, tratando-se de pacientes idosos com fraturas dos membros inferiores e algum grau de fragilidade [37].

Das amostras bucais obtidas por meio de swab dos 103 participantes submetidos à primeira coleta, 99,03% delas apresentaram crescimento de microrganismos relacionados ao desenvolvimento de resistência a antimicrobianos. A partir da segunda coleta, todas as amostras apresentaram crescimento de microrganismos com esse perfil. A prevalência de microrganismos gram-negativos relacionados ao desenvolvimento de resistência a antimicrobianos, como *E. coli*, *Pseudomonas* e *Enterobacter* foi alta nas amostras obtidas da boca, nos três tempos do estudo. O estudo de Tulio e colaboradores, realizado em um hospital de Curitiba (Brasil) com amostras coletadas do dorso de língua de pacientes hospitalizados em UTI, apresentou achados semelhantes em três tempos de coleta (até 24 horas, 72 horas e 120 horas de admissão à UTI) com identificação de uma variedade de microrganismos gram-negativos relacionados à pneumonia nosocomial e a outras infecções hospitalares [5].

No presente estudo, os microrganismos mais prevalentes nos três momentos de avaliação foram *Escherichia coli* e *Enterococcus spp.* No estudo de Tulio e

colaboradores, *Staphylococcus spp.* e *Candida albicans* foram os mais prevalentes nos três tempos [5]. Os dois estudos relataram a identificação de microrganismos importantes na etiologia das infecções hospitalares, já no primeiro momento de coleta. Isto pode indicar a existência de uma microbiota transitória relacionada à admissão ao ambiente hospitalar que poderá alcançar maior ou menor grau de permanência na cavidade bucal a depender das condições do hospedeiro. Há também a hipótese de que os pacientes estejam sendo admitidos ao hospital já portadores dessa microbiota, advinda da comunidade, principalmente adquiridos de ambientes com alguma deficiência de higiene. O estudo de Ewan e colaboradores indicou que, em pacientes fragilizados, patógenos hospitalares podem estar presentes já no momento da admissão hospitalar [37].

Não houve alterações significativas na prevalência dos microrganismos identificados entre o tempo 1 e o tempo 3 da pesquisa. Porém, chamou atenção a presença de *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.* e *Pseudomonas spp.*, microrganismos relevantes no desenvolvimento de infecções nosocomiais e resistência a antimicrobianos, com alta prevalência constante nos sete dias de hospitalização. Damien et al. em um estudo da composição da microbiota bucal durante hospitalizações curtas (72 horas), demonstrou que o tempo de internação não apresentou impacto sobre o microbioma oral e ponderou que a ausência de diferenças significativas na composição da microbiota ao longo de hospitalizações curtas pode sugerir que o microbioma salivar não é tão suscetível ao ambiente externo ou que as técnicas existentes não são suficientemente sensíveis para detectar essas mudanças. [36]. Zhou e colaboradores estudaram a estabilidade temporal do microbioma de diversas partes do corpo humano e atestaram que, apesar da cavidade bucal ser aberta ao ambiente externo, a composição de sua microbiota é relativamente estável em um mesmo indivíduo ao longo do tempo [65]. A comparação com estes estudos é um pouco difícil pois ambos tiveram perfis

diferentes de amostras e realizaram análise quantitativa da microbiota bucal por técnicas de sequenciamento genético do gene 16S rRNA, enquanto o presente estudo realizou apenas identificação qualitativa de microrganismos ligados à resistência microbiana e usando técnicas de cultivo em meios de cultura. Porém, pode-se aventar uma hipótese de que a microbiota bucal tenha uma relativa estabilidade quando as condições do hospedeiro não variam muito.

Os resultados deste estudo abrem muitos questionamentos como a existência de correlação entre a maior ou menor prevalência destes microrganismos em pacientes hospitalizados e condições como a diabetes, o edentulismo, o uso de prótese removível, o uso de algumas medicações e outras. Não foi possível saber se a microbiota identificada já estava presente antes da hospitalização e também não foi realizada uma análise quantitativa dela.

O estudo apresentou também algumas limitações, sendo a principal delas decorrente de sua própria natureza, por tratar-se de um estudo observacional. As perdas de amostra ao longo da pesquisa tanto na fase clínica quanto microbiológica parecem ser inerentes ao perfil escolhido da amostra e à técnica laboratorial, sendo difíceis de evitar. Além disso, o índice utilizado para mensurar as condições de saúde bucal dos pacientes pareceu não ser o melhor para detecção de mudanças em curtos períodos de tempo, pois avaliava algumas categorias que possivelmente não mudaram em sete dias, como presença de dor dental, número de dentes e uso de prótese removível, o que pode ter prejudicado a avaliação da evolução do status de saúde bucal ao longo dos sete dias de acompanhamento. Na identificação das colônias microbianas nos meios de cultura não foi possível realizar um treinamento prévio ou calibração, por isso, foi realizada uma segunda inoculação nos meios de cultura e algumas amostras foram analisadas em microscópio para conferência das identificações inicialmente realizadas.

## 8 CONCLUSÃO

Conclui-se que, nos pacientes internados em Enfermaria, o status de saúde bucal se manteve mediano entre o segundo e o sétimo dia de hospitalização. O índice de saburra lingual foi considerado alto em todo o período de sete dias de acompanhamento. A prevalência de microrganismos potencialmente patogênicos e relacionados à veiculação de resistência aos antimicrobianos na cavidade bucal foi alta desde as primeiras 48 horas até o sétimo de hospitalização.

Amostras microbiológicas coletadas da boca dos pacientes foram armazenadas e serão utilizadas em estudos futuros para análises e confirmação da resistência a antimicrobianos desses microrganismos.

Para futuras pesquisas, sugere-se a utilização de outros desenhos de estudo que estabeleçam uma comparação para avaliar o impacto de um protocolo de cuidado odontológico na saúde e na microbiota bucal de pacientes hospitalizados em Enfermaria, já que os estudos disponíveis tratam somente de pacientes em Unidades de Terapia Intensiva.

## 9 PRESS RELEASE

Um estudo realizado no Hospital Universitário de Brasília investigou a saúde bucal e os microrganismos que colonizam a boca de pacientes internados na Enfermaria do hospital. O conhecimento da microbiota bucal dos pacientes poderá ser importante para auxiliar no estabelecimento de protocolos para a prevenção e o tratamento de infecções hospitalares, pois existem fortes indícios de que microrganismos presentes na boca contribuem para as infecções relacionadas à assistência em saúde. Além disso, o conhecimento sobre o estado de saúde bucal dos pacientes poderá ajudar na compreensão dos fatores que dificultam a higiene bucal durante a internação e aprimorar protocolos de assistência odontológica para os pacientes hospitalizados, de modo a atender as demandas dos mesmos e contribuir para seu restabelecimento. Foi encontrado acúmulo de placa bacteriana sobre a língua da maioria dos pacientes e microrganismos ligados à etiologia das infecções hospitalares e ao desenvolvimento de resistência a antibióticos.

## Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



UnB | HUB



### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

O (a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa “Avaliação da resistência à clorexidina da microbiota bucal de pacientes internados no HUB”.

O objetivo desta pesquisa é conhecer a saúde da boca e comparar os tipos de bactérias e fungos que se encontram na boca de pessoas internadas no Hospital Universitário de Brasília. Também queremos saber se essas bactérias e fungos podem ser combatidos por um produto chamado clorexidina, utilizado em bochechos para a limpeza da boca no hospital. Com isso, poderemos ajudar as pessoas a encontrarem um melhor método de limpeza da boca quando estiverem hospitalizadas. O(a) senhor(a) receberá todas as informações necessárias antes e durante a pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo(segredo) e nenhuma informação que poderá lhe identificar irá aparecer.

Para participar, o Senhor(a) deverá responder perguntas sobre sua saúde e seu prontuário será consultado. Além disso, sua boca será examinada e um cotonete será usado para coletar um material da sua boca, que será esfregado com cuidado na sua língua, alguns dentes e na bochecha. Isso não causa dor ou desconforto e será repetido em três dias diferentes, sendo o primeiro dia até 2 dias depois da sua internação no hospital, o segundo 2 dias após o primeiro dia e o terceiro 7 dias depois da sua internação. Há também a possibilidade de, após o exame no laboratório, encontrarmos alguma bactéria ou fungo mais agressivo. Neste caso, a Comissão de Controle de Infecção do Hospital será avisada para tomar as providências necessárias. Ainda, toda necessidade urgente em relação à saúde da boca que o Sr(a) apresentar, será atendida por nós. O Sr(a) pode desistir de participar em qualquer momento da pesquisa por qualquer motivo, sem nenhum prejuízo, ou seja, seu tratamento de saúde continuará da mesma forma. Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília podendo ser publicados depois. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de no mínimo cinco anos, após isso serão destruídos ou mantidos na instituição.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, os pesquisadores estarão à sua disposição para quaisquer esclarecimentos nos telefones: Adriana Silva da Costa Cruz (99298.8124), Érica Negrini Lia (99116.7148). Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1918 ou do e-mail [cepfm@unb.br](mailto:cepfm@unb.br). Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o participante da pesquisa.

---

Nome / assinatura

---

Adriana Silva da Costa Cruz - Pesquisadora Responsável

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## Apêndice B – Ficha Clínica (CRF – Case Report Form)

Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Prontuário HUB:

### CRF – Case Report Form

PROJETO AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À CLOREXIDINA DA  
MICROBIOTA BUCAL DE PACIENTES INTERNADOS NO HUB

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE		
Nome:		Idade:
Telefones de contato:	Raça / cor:	Gênero <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M
CRITÉRIOS DE INCLUSÃO		
Idade ≥ 18 anos	<input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N	
Hospitalizado há menos de 48 horas?	<input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N	
CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO		
Condição de imunossupressão?	<input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N	
Em caso afirmativo:	<input type="checkbox"/> Quimioterapia <input type="checkbox"/> Transplante <input type="checkbox"/> HIV <input type="checkbox"/> Outros: _____	
Passou por hospitalização recente nos últimos 30 dias?	<input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N	
Comprometimento cognitivo ou dificuldade de compreensão?	<input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N	
<b>Observação: excluir o paciente do estudo caso a(s) resposta(s) acima seja(m) afirmativa(s)</b>		
COLETOU TCLE?	<input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N	DATA DA COLETA ____ / ____ / ____
DADOS DE SAÚDE		
Clínica e motivo principal da Internação		
_____		
_____		
_____		
Lista de problemas		
_____		
_____		
_____		
Medicamentos em uso		
Usos regular		
_____		
_____		
_____		
Usos hospitalar		
_____		
_____		
_____		

Prontuário HUB:

DADOS DE SAÚDE			
Alimentando-se por via oral?	<input type="checkbox"/> S	<input type="checkbox"/> N	
Em caso negativo:	<input type="checkbox"/> Sonda nasoenteral	<input type="checkbox"/> Gastrostomia	<input type="checkbox"/> Parenteral <input type="checkbox"/> Jejum
Alguma restrição alimentar?	<input type="checkbox"/> S	<input type="checkbox"/> N	
Quais?	_____		
Faz higiene bucal no hospital?	<input type="checkbox"/> Sozinho	<input type="checkbox"/> Com auxílio	<input type="checkbox"/> Não faz
Quantas vezes ao dia?	<input type="checkbox"/> 1X	<input type="checkbox"/> 2X	<input type="checkbox"/> 3X <input type="checkbox"/> Outros <input type="checkbox"/> Não se aplica
Usa:	<input type="checkbox"/> Escova dental	<input type="checkbox"/> Creme dental	<input type="checkbox"/> Fio dental <input type="checkbox"/> Não se aplica
	<input type="checkbox"/> Outros – Quais?	_____	
Fumante?	<input type="checkbox"/> S	<input type="checkbox"/> N	
Etilista?	<input type="checkbox"/> S	<input type="checkbox"/> N	
Alguma queixa bucal?	<input type="checkbox"/> S	<input type="checkbox"/> N	
<input type="checkbox"/> 1	Ardência bucal		
<input type="checkbox"/> 2	Dor dental		
<input type="checkbox"/> 3	Dificuldade mastigatória		
<input type="checkbox"/> 4	Dificuldade de deglutição		
<input type="checkbox"/> 5	Diminuição do paladar		
<input type="checkbox"/> 6	Halitose		
<input type="checkbox"/> 7	Boca seca		
<input type="checkbox"/> 8	Cárie		
<input type="checkbox"/> 9	Sangramento		
<input type="checkbox"/> 10	Dente amolecido		
<input type="checkbox"/> 11	Outras: _____		
	_____		
Usa prótese dentária removível?	<input type="checkbox"/> S	<input type="checkbox"/> N	
Observações:	_____		
	_____		
Dorme com a prótese?	<input type="checkbox"/> S	<input type="checkbox"/> N	<input type="checkbox"/> Não se aplica

Prontuário HUB:

V1 – 1ª Coleta: Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Data da internação: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Horário da internação: \_\_\_\_ : \_\_\_\_

Coleta de swab?  S  N Código: \_\_\_\_\_

Número de dentes na boca: \_\_\_\_\_

Presença de lesões bucais?  S  N 1 Candidíase 3 Úlcera 5 Afta 7 Fibroma 9 Abscesso 11 Outras: \_\_\_\_\_ 2 Leucoplasia 4 Hiperplasia por prótese 6 Herpes 8 Queilite angular 10 Fístula

Observações: \_\_\_\_\_

## INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL PARA TRIAGEM ODONTOLÓGICA (IASBTO, Gonçalves LHT, Mello ALSF e Zimmermann K, 2010)

1. Categoria	0 = saudável	1 = presença de alterações	2 = não saudável	Pontuação por categoria
2. Lábios	* Lisos, rosados, úmidos	* Rachados * Avermelhados nas comissuras * Secos * Avermelhados nas comissuras * Avermelhados nas comissuras	* Inchaço ou caroço * Mancha branca ou avermelhada * Úlcera * Sangramento * Inflamação nas comissuras	
3. Língua	* Normal, úmida, rugosa, rosada	* Presença de fissuras * Recoberta por saburra * Vermelhada * Manchada	* Ulcerada * Inchada * Mancha avermelhada e/ou branca	
4. Gengivas e tecidos	* Rosados, úmidos, macios * Sem sangramento	* Vermelhadados * Secos * Inchados * Brilhantes * Ásperos/rugosos * Manchas ou úlceras embaixo das dentaduras	* Manchas brancas ou avermelhadas * Vermelhidão generalizada * Gengivas inchadas * Sangramento * Úlceras	
5. Saliva	* Tecidos úmidos, salivagem aquosa * Fluxo livre desimpedido sem obstrução	* Tecidos secos e pegajosos * Presença de pouca saliva	* Tecidos ressecados e avermelhados * Pouquíssima ou nenhuma saliva * Saliva muito espessa	
6. Dentes naturais Sim ou Não	* Todos os dentes íntegros	* 1 a 3 raízes ou dentes com cáries ou quebrados * Ou dentes muito desgastados	* 4 ou mais raízes ou dentes com cáries ou quebrados * Ou presença de menos de 4 dentes * Ou ainda dentes muito desgastados	
7. Dentaduras Sim ou Não	* Nenhuma área ou dente quebrado * Dentaduras utilizadas em ambas arcadas continuamente durante o dia	* 1 área ou 1 dente danificado * Dentaduras usadas por apenas 1 a 2 horas ao dia * Dentaduras soltas/frouxas * Usa somente 1 dentadura (superior ou inferior)	* Mais de 1 área ou mais de 1 dente danificado * Falta de dentadura ou dentadura não utilizada * Precisa de adesivo para dentadura	
8. Higiene bucal	* Boca limpa: Sem resíduos de alimento; sem tártaro na boca ou nas dentaduras	* Resíduos de alimento, tártaro ou placa em 1 a 2 áreas da boca ou em pequena área da dentadura * Mau hálito	* Restos de alimento ou tártaro ou placa bacteriana na maioria das áreas da boca ou das dentaduras * Mau hálito severo	
9. Dor de dente	* Sem sinais comportamentais, verbais ou físicos de dor de dente	* Sinais verbais ou comportamentais de dor de dente, como caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade	* Sinais físicos como inchaço facial, abscessos nas gengivas, dentes quebrados, grande ulcerações, e sinais verbais ou comportamentais como caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade	
A pontuação final resulta da soma das oito categorias e varia entre 0 (muito saudável) e 16 (muito doente)				TOTAL

## ÍNDICE DE SABURRA LINGUAL (Miyazaki et al. 1995)

 0 nenhuma saburra visível 1 menos de 1/3 do dorso da língua coberto 2 menos de 2/3 do dorso da língua coberto 3 mais de 2/3 do dorso da língua cobertoSwab enviado para LAMP?  S  N

Resultados microbiológicos:

Microrganismos encontrados: \_\_\_\_\_

Resistência a CHX (anotar a concentração na qual não houve turvação): \_\_\_\_\_

Responsável pelo preenchimento: \_\_\_\_\_

Prontuário HUB:

V2 – 2ª Coleta: Data \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Incluído algum medicamento?  S  N Qual(is)? \_\_\_\_\_Coleta de swab?  S  N Código: \_\_\_\_\_Presença de lesões bucais?  S  N 1 Candidíase 3 Úlcera 5 Afta 7 Fibroma 9 Abscesso 11 Outras: \_\_\_\_\_ 2 Leucoplasia 4 Hiperplasia por prótese 6 Herpes 8 Queilite angular 10 Fístula

Observações: \_\_\_\_\_

## INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL PARA TRIAGEM ODONTOLÓGICA (IASBTO, Gonçalves LHT, Mello ALSF e Zimmermann K, 2010)

1. Categoria	0 = saudável	1 = presença de alterações	2 = não saudável	Pontuação por categoria
2. Lábios	* Lisos, rosados, úmidos	* Rachados * Avermelhados nas comissuras * Secos * Avermelhados nas comissuras * Avermelhados nas comissuras	* Inchaço ou caroço * Mancha branca ou avermelhada * Úlcera * Sangramento * Inflamação nas comissuras	
3. Língua	* Normal, úmida, rugosa, rosada	* Presença de fissuras * Recoberta por saburra * Avermelhada * Manchada	* Uicerada * Inchada * Mancha avermelhada efou branca	
4. Gengivas e tecidos	* Rosados, úmidos, macios * Sem sangramento	* Avermelhados * Secos * Inchados * Brilhosos * Ásperos/rugosos * Manchas ou úlceras embaixo das dentaduras	* Manchas brancas ou avermelhadas * Vermelhidão generalizada * Gengivas inchadas * Sangramento * Úlceras	
5. Saliva	* Tecidos úmidos, salivagem aquosa * Fluxo livre desimpedido sem obstrução	* Tecidos secos e pegajosos * Presença de pouca saliva	* Tecidos ressecados e avermelhados * Pouquíssima ou nenhuma saliva * Saliva muito espessa	
6. Dentes naturais Sim ou Não	* Todos os dentes íntegros	* 1 a 3 raízes ou dentes com cáries ou quebrados * Ou dentes muito desgastados	* 4 ou mais raízes ou dentes com cáries ou quebrados * Ou presença de menos de 4 dentes * Ou ainda dentes muito desgastados	
7. Dentaduras Sim ou Não	* Nenhuma área ou dente quebrado * Dentaduras utilizadas em ambas arcadas continuamente durante o dia	* 1 área ou 1 dente danificado * Dentaduras usadas por apenas 1 a 2 horas ao dia * Dentaduras soltas/frouxa * Usa somente 1 dentadura (superior ou inferior)	* Mais de 1 área ou mais de 1 dente danificado * Falta de dentadura ou dentadura não utilizada * Precisa de adesivo para dentadura	
8. Higiene bucal	* Boca limpa: Sem resíduos de alimento; sem tártaro na boca ou nas dentaduras	* Resíduos de alimento, tártaro ou placa em 1 a 2 áreas da boca ou em pequena área da dentadura * Mau hálito	* Restos de alimento ou tártaro ou placa bacteriana na maioria das áreas da boca ou das dentaduras * Mau hálito severo	
9. Dor de dente	* Sem sinais comportamentais, verbais ou físicos de dor de dente	* Sinais verbais ou comportamentais de dor de dente, como caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade	* Sinais físicos como inchaço facial, abscessos nas gengivas, dentes quebrados, grande ulcerações, e sinais verbais ou comportamentais como caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade	

A pontuação final resulta da soma das oito categorias e varia entre 0 (muito saudável) e 16 (muito doente)

TOTAL

## ÍNDICE DE SABURRA LINGUAL (Miyazaki et al. 1995)

 0 nenhuma saburra visível 1 menos de 1/3 do dorso da língua coberto 2 menos de 2/3 do dorso da língua coberto 3 mais de 2/3 do dorso da língua cobertoSwab enviado para LAMP?  S  N

Resultados microbiológicos:

Microrganismos encontrados: \_\_\_\_\_

Resistência a CHX (anotar a concentração na qual não houve turvação): \_\_\_\_\_

Responsável pelo preenchimento: \_\_\_\_\_

Prontuário HUB:

V3 – 3ª Coleta: Data

/ /

Incluído algum medicamento?

S

N

Qual(is)?

Coleta de swab?

S

N

Código:

Presença de lesões bucais?

S

N

 1 Candidíase 3 Úlcera 5 Afta 7 Fibroma 9 Abscesso 11 Outras: 2 Leucoplasia 4 Hiperplasia por prótese 6 Herpes 8 Queilite angular 10 Fístula

Observações:

## INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL PARA TRIAGEM ODONTOLÓGICA (IASBTO, Gonçalves LHT, Mello ALSF e Zimmermann K, 2010)

1. Categoria	0 = saudável	1 = presença de alterações	2 = não saudável	Pontuação por categoria
2. Lábios	* Lisos, rosados, úmidos	* Rachados * Avermelhados nas comissuras * Secos * Avermelhados nas comissuras * Avermelhados nas comissuras	* Inchaço ou caropo * Mancha branca ou avermelhada * Úlcera * Sangramento * Inflamação nas comissuras	
3. Língua	* Normal, úmida, rugosa, rosada	* Presença de fissuras * Recoberta por saburra * Vermelhada * Manchada	* Ulcerada * Inchada * Mancha avermelhada e/ou branca	
4. Gengivas e tecidos	* Rosados, úmidos, macios * Sem sangramento	* Vermelhadados * Secos * Inchados * Brilhosos * Ásperos/rugosos * Manchas ou úlceras embaixo das dentaduras	* Manchas brancas ou avermelhadas * Vermelhidão generalizada * Gengivas inchadas * Sangramento * Úlceras	
5. Saliva	* Tecidos úmidos, salivagem aquosa * Fluxo livre desimpedido sem obstrução	* Tecidos secos e pegajosos * Presença de pouca saliva	* Tecidos ressecados e avermelhados * Pouquíssima ou nenhuma saliva * Saliva muito espessa	
6. Dentes naturais Sim ou Não	* Todos os dentes íntegros	* 1 a 3 raízes ou dentes com cáries ou quebrados * Ou dentes muito desgastados	* 4 ou mais raízes ou dentes com cáries ou quebrados * Ou presença de menos de 4 dentes * Ou ainda dentes muito desgastados	
7. Dentaduras Sim ou Não	* Nenhuma área ou dente quebrado * Dentaduras utilizadas em ambas arcadas continuamente durante o dia	* 1 área ou 1 dente danificado * Dentaduras usadas por apenas 1 a 2 horas ao dia * Dentaduras soltas/frouxa * Usa somente 1 dentadura (superior ou inferior)	* Mais de 1 área ou mais de 1 dente danificado * Falta de dentadura ou dentadura não utilizada * Precisa de adesivo para dentadura	
8. Higiene bucal	* Boca limpa: Sem resíduos de alimento; sem tártaro na boca ou nas dentaduras * Mau hábito	* Resíduos de alimento, tártaro ou placa em 1 a 2 áreas da boca ou em pequena área da dentadura * Mau hábito	* Restos de alimento ou tártaro ou placa bacteriana na maioria das áreas da boca ou das dentaduras * Mau hábito severo	
9. Dor de dente	* Sem sinais comportamentais, verbais ou físicos de dor de dente	* Sinais verbais ou comportamentais de dor de dente, como caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade	* Sinais físicos como inchaço facial, abscessos nas gengivas, dentes quebrados, grande ulcerações, e sinais verbais ou comportamentais como caretas, mordidas nos lábios, falta de apetite, agressividade	
A pontuação final resulta da soma das oito categorias e varia entre 0 (muito saudável) e 16 (muito doente)				TOTAL

## ÍNDICE DE SABURRA LINGUAL (Miyazaki et al. 1995)

 0 nenhuma saburra visível 1 menos de 1/3 do dorso da língua coberto 2 menos de 2/3 do dorso da língua coberto 3 mais de 2/3 do dorso da língua coberto

Swab enviado para LAMP?

S

N

Resultados microbiológicos:

Microrganismos encontrados:

Resistência a CHX (anotar a concentração na qual não houve turvação):

Responsável pelo preenchimento:

## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação da resistência à clorexidina da microbiota bucal de pacientes internados no HUB

**Pesquisador:** ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 87378818.7.0000.5558

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário de Brasília - HUB

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.628.620

#### Apresentação do Projeto:

O objetivo desse estudo é conhecer o estado de saúde bucal e a microbiota bucal adquirida em um período máximo de 7 dias após admissão hospitalar e determinar sua resistência à clorexidina.

A clorexidina é um antimicrobiano largamente utilizado em ambiente hospitalar como desinfetante e antisséptico de uso tópico. É o antisséptico de escolha para descontaminação bucal de pacientes hospitalizados em UTIs europeias que não têm autonomia para realização de sua própria higiene (Rello et al. 2007).

Estudos demonstram a deterioração da saúde bucal como consequência de hospitalização, com aumento do acúmulo do biofilme dentário e inflamação gengival (Terezakis et al. 2011). As condições de saúde bucal e a microbiota residente e adquirida na área após um período de hospitalização podem influenciar a saúde geral, agravando quadros sistêmicos, e podendo até mesmo ser relacionada à pneumonia nosocomial (Sachdev et al. 2013).

Para o estudo, será realizada coleta com swab na mucosa da cavidade bucal de pacientes internados na Enfermaria de Clínica Médica do HUB. As amostras serão levadas ao Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos (LAMP) do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, onde serão analisadas para identificação dos microrganismos e determinação de sua resistência à

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 2.628.620

clorexidina.

É importante conhecer as características da microbiota bucal adquirida no meio hospitalar após um período de internação quanto à sua susceptibilidade em relação à clorexidina, pois há indícios de ligação entre o mecanismo de resistência a esta substância e o desenvolvimento de cepas com múltipla resistência a antibióticos (Ferreira et al. 2014).

Hipótese:

A microbiota bucal adquirida durante internação hospitalar apresenta resistência à clorexidina.

Metodologia Proposta:

Os participantes de pesquisa serão selecionados dentre pacientes internados no Hospital Universitário de Brasília, que deverão aceitar participar da pesquisa e assinar Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Inicialmente, dados pessoais (nome, idade, gênero) e de história clínica (motivo da hospitalização, medicamentos prescritos, comorbidades) serão coletados a partir da entrevista pessoal e do prontuário médico. Será realizado exame físico intrabucal por meio da utilização de espátula de madeira e iluminação artificial (por meio do uso de lanterna), no qual serão examinadas a mucosa bucal, dentes e próteses. Serão coletadas amostras microbiológicas de três regiões da boca. A coleta será realizada por meio de fricção de um swab estéril nos seguintes sítios da cavidade bucal: superfície vestibular dos dentes molares inferiores de um dos lados (quando estiverem presentes na boca), mucosa do fundo de saco vestibular de um dos lados na região de molares inferiores e dorso de língua. As amostras serão coletadas em três momentos: 1ª coleta (T1): até 48 horas após admissão hospitalar; 2ª coleta (T2) 48 horas após a 1ª coleta; 3ª coleta (T3) 7 dias após a admissão hospitalar. As amostras serão transportadas em recipiente refrigerado ao Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos (LAMP) do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília. As amostras biológicas contidas nos swabs serão homogêneas em 1 mL de soro fisiológico e serão centrifugadas a 10.000 xG, por 1 minuto e 30 segundos à temperatura ambiente. O volume de 800 microlitros do sobrenadante será descartado e o precipitado contido no volume restante será novamente homogêneo por pipetagem para a realização da semeadura por esgotamento em meios de cultura apropriados. As placas serão incubadas a 37°C por 20-24 horas para culturas bacterianas e 48-72 horas para culturas de fungos. As colônias serão identificadas através da utilização de meios de cultura seletivos. A

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 2.628.620

sensibilidade à clorexidina das espécies de microorganismos encontradas será definida através da concentração inibitória mínima (CIM). O ensaio será realizado em placas de 96 poços não aderentes contendo meio de Mueller-Hinton (MH) para os testes envolvendo bactérias e meio YPD para os testes com fungos. Em cada poço, haverá concentrações conhecidas e diferenciadas de clorexidina. Os microorganismos isolados serão colocados em cultura nestes meios e monitorados por um período mínimo de 6 horas, onde em cada hora serão coletados dados referentes a sua densidade óptica. Dessa forma, os dados serão analisados e, assim, será identificada a concentração mínima inibitória para cada espécie de microorganismo.

**Critério de Inclusão:**

Os critérios de inclusão são apresentar idade igual ou superior a 18 anos, estar hospitalizado há menos de 48 horas na enfermaria de Clínica Médica do HUB e não apresentar qualquer déficit cognitivo ou dificuldade de compreensão.

**Critério de Exclusão:**

Os critérios de exclusão são: pacientes em condição de imunossupressão, quimioterapia, transplantados, HIV, que tenham passado por hospitalizações recentes (últimos 30 dias), com comprometimento cognitivo ou dificuldade de compreensão. Além disso, pacientes que não concordarem ou não desejarem participar do estudo.

**Metodologia de Análise de Dados:**

Para o cálculo amostral, partiu-se de uma taxa inicial de prevalência de resistência à clorexidina de 3%, de acordo com a literatura. Foi utilizada estimativa de comparação entre duas proporções por meio de teste unicaudal (Pocock, 1983). Considerando um poder de 80%, erro alfa de 5% e a estimativa de cepas resistentes à clorexidina de 30%, foi calculado um tamanho amostral de 42 participantes. Considerando uma taxa de perda de 10%, serão recrutados 46 participantes.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Conhecer o estado de saúde bucal e comparar a microbiota bucal de pacientes nas primeiras 48

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 2.628.620

horas de internação e em um período máximo de 7 dias da hospitalização na Enfermaria do Hospital Universitário de Brasília quanto à existência de resistência fúngica e bacteriana à clorexidina.

Objetivo Secundário:

Identificar as espécies de *Candida sp* e espécies bacterianas encontradas na boca de pacientes hospitalizados, no início e ao final de 7 dias de hospitalização.

Determinar a CIM(concentração inibitória mínima) para clorexidina dos isolados.

Avaliar a presença de lesões de mucosa bucal, número de dentes presentes e próteses dentárias.

Avaliar o índice de placa visível, no início e após 7 dias de hospitalização.

Avaliar o índice de saburra lingual, no início e após 7 dias de hospitalização.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

Há um pequeno risco de reação irritativa nos locais da cavidade bucal onde o swab será friccionado para coleta das amostras. Porém, trata-se de um risco baixíssimo pois a ponta do swab é revestida de algodão e estará estéril no momento da coleta. Caso sejam identificados microrganismos multirresistentes a antibióticos e de alto potencial patogênico, será realizada comunicação à CCIRAS(Comissão de Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde), responsável por ações de prevenção de infecções no HUB, para que sejam tomadas as providências cabíveis, como por exemplo a colocação de pacientes em isolamento na enfermaria, a critério.

Benefícios:

Todos os pacientes receberão instrução de higiene bucal e caso sejam encontradas necessidades urgentes e básicas de tratamento odontológico, como extrações dentárias, tratamento periodontal, curetagem e selamento de lesões cáries e tratamento de lesões de mucosa bucal, a pesquisadora ofertará o tratamento odontológico, no momento mais adequado ao participante, após discussão do caso com a equipe médica assistente. Portanto, os benefícios individuais serão

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

**UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA**



Continuação do Parecer: 2.628.620

as orientações sobre medidas de higiene bucal, conhecimento do estado de saúde bucal e tratamento em caso de necessidades odontológicas urgentes e básicas. Os resultados da pesquisa poderão trazer benefícios à população do ponto de vista da possível necessidade de revisão do uso de biocidas como a clorexidina em protocolos hospitalares para a prevenção de infecções nosocomiais.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto apresenta justificativa da relevância da pesquisa e metodologia clara.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O TCLE apresenta linguagem clara e acessível. O termo cumpre toda as obrigações e de fato esclarece os procedimentos que serão realizados caso a pessoa aceite participar da pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Recomenda-se a aprovação do projeto.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto apreciado na 4ª Reunião Ordinária do CEP-FM-UnB-2018. Após apresentação do parecer do (a) Relator (a), aberta a discussão para os membros do Colegiado. O projeto foi Aprovado.

De acordo com a Resolução 466/2012-CONEP/CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.-2.d, este Comitê chama a atenção da obrigatoriedade de envio do relatório parcial semestral e final do projeto de pesquisa para o CEP-FM, através de Notificações submetidas pela Plataforma Brasil, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1051879.pdf	11/04/2018 11:02:43		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v1_9_4_18_docx.docx	11/04/2018 10:56:49	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_ADRIANA_v1_9_4_18_docx.docx	11/04/2018 10:56:08	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Termo_ciencia_HUB.pdf	10/04/2018	ADRIANA SILVA DA	Aceito

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina

**Bairro:** Asa Norte

**CEP:** 70.910-900

**UF:** DF

**Município:** BRASILIA

**Telefone:** (61)3107-1918

**E-mail:** cepfm@unb.br

**UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA**



Continuação do Parecer: 2.628.620

Outros	Termo_ciencia_HUB.pdf	10:55:05	COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Concordancia_Institucional_HUB.pdf	10/04/2018 10:53:04	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Termo_concordancia_IB.pdf	10/04/2018 10:49:41	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	RESUMO_docx.docx	10/04/2018 10:47:41	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	10/04/2018 10:39:29	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Equipe_de_pesquisadores_pdf.pdf	28/03/2018 20:43:11	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Curriculo_Yara_Peixoto_Fidelis.pdf	28/03/2018 20:38:03	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Curriculo_Herick_Sampaio_Muller.pdf	28/03/2018 20:37:12	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Curriculo_Vicente_de_Paulo_Martins.pdf	28/03/2018 20:36:03	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Curriculo_Eduardo_Barbosa_Coelho.pdf	28/03/2018 20:35:10	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Curriculo_Erica_Negrini_Lia.pdf	28/03/2018 20:34:15	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	Curriculo_Adriana_Silva_da_Costa_Cruz.pdf	28/03/2018 20:33:15	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Orçamento	PLANILHA_DE_ORCAMENTO_pdf.pdf	28/03/2018 20:29:45	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_responsabilidade_pesquisador.pdf	28/03/2018 20:28:15	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito
Outros	CARTA_DE_ENCAMINHAMENTO.pdf	28/03/2018 14:49:51	ADRIANA SILVA DA COSTA CRUZ	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BRASÍLIA, 30 de Abril de 2018

\_\_\_\_\_  
**Assinado por:**  
**Florêncio Figueiredo Cavalcanti Neto**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

## REFERÊNCIAS

1. Faran Ali SM, Tanwir F. Oral microbial habitat a dynamic entity. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2012;2(3):181–7.
2. Samaranayake L, Matsubara VH. Normal Oral Flora and the Oral Ecosystem. *Dent Clin North Am.* 2017;61(2):199–215.
3. Vincent C, Miller MA, Edens TJ, Mehrotra S, Dewar K, Manges AR. Bloom and bust: Intestinal microbiota dynamics in response to hospital exposures and *Clostridium difficile* colonization or infection. *Microbiome.* 2016;4.
4. Amaral SM, Cortês ADQ, Pires FR. Review article. *J Bras Pneumol.* 2009;35(11):1116–24.
5. Tulio K de SC, Stramandinoli-Zanicotti RT, Dirschnabel AJ, Schussel JL, Wasilewski JHS, Krelling A, et al. Alterações no perfil da microbiota bucal durante permanência na UTI: colonização por patógenos respiratórios potenciais. *Arch Heal Investig.* 2018;7(9):351–7.
6. Terezakis E, Needleman I, Kumar N, Moles D, Agudo E. The impact of hospitalization on oral health: A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2011;38(7):628–36.
7. Sachdev M, Ready D, Brealey D, Ryu JH, Bercades G, Nagle J, et al. Changes in dental plaque following hospitalisation in a critical care unit: An observational study. *Crit Care.* 2013;17(5):R189.
8. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide Clean Care is Safer Care. World Heal Organ. 2009;3.
9. Versporten A, Zarb P, Caniaux I, Gros MF, Drapier N, Miller M, et al. Antimicrobial consumption and resistance in adult hospital inpatients in 53 countries: results of an internet-based global point prevalence survey. *Lancet Glob Heal.* 2018;6(6):e619–29.

10. Andrade D de, Leopoldo VC, Haas VJ. Ocorrência de bactérias multiresistentes em um centro de Terapia Intensiva de Hospital brasileiro de emergências. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2008;18(1):27–33.
11. Kageyama S, Takeshita T, Furuta M, Tomioka M, Asakawa M, Suma S, et al. Relationships of variations in the tongue microbiota and pneumonia mortality in nursing home residents. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci*. 2018;73(8):1097–102.
12. Raghavendran K, Mylotte JM, Scannapieco FA. Nursing home-associated pneumonia, hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: the contribution of dental biofilms and periodontal inflammation. *Periodontol 2000*. 2007;44(1):164–77.
13. Conley P, McKinsey D, Graff J, Ramsey AR. Does an oral care protocol reduce VAP in patients with a tracheostomy? *Nursing (Lond)*. 2013;43(7):18–23.
14. Methé BA, Nelson KE, Pop M, Creasy HH, Giglio MG, Huttenhower C, et al. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012;486(7402):215–21.
15. Jorth P, Turner KH, Gumus P. Metatranscriptomics of the Human Oral Microbiome during Health. *ASM J*. 2014;5(2):1–10.
16. Tam J, Hoffmann T, Fischer S, Bornstein S, Gräler J, Noack B. Obesity alters composition and diversity of the oral microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus independently of glycemic control. *PLoS One*. 2018;13(10):1–14.
17. Nikitakis NG, Papaioannou W, Sakkas LI, Kousvelari E. The autoimmunity–oral microbiome connection. *Oral Dis*. 2017;23(7):828–39.
18. Krishnan K, T C, Paster B. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral Dis*. 2017;23(3):276–86.
19. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu W-H, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol*. 2010;192(19):5002–17.
20. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res [Internet]*. 2013;69(1):137–43.

21. Rosenblatt R, Steinberg D, Mankuta D, Zini A. Acquired Oral Microflora of Newborns During the First 48 Hours of Life. *J Clin Pediatr Dent*. 2015;39(5):442–6.
22. Gomez-Arango LF, Barrett HL, McIntyre HD, Callaway LK, Morrison M, Nitert MD. Antibiotic treatment at delivery shapes the initial oral microbiome in neonates. *Sci Rep*. 2017;7(January):1–10.
23. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol*. 2018;200(4):525–40.
24. Chimenos-Küstner E, Giovannoni ML, Schemel-Suárez M. Disbiosis como factor determinante de enfermedad oral y sistémica: importancia del microbioma. *Med Clin (Barc)*. 2017;149(7):305–9.
25. Bik EM, Long CD, Armitage GC, Loomer P, Emerson J, Mongodin EF, et al. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *ISME J*. 2010;4(8):962–74.
26. Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE, Aas JA. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol*. 2005;43(11):5721–32.
27. Rosier B, Marsh P, Mira A. Resilience of the oral microbiota in health - mechanisms that prevent dysbiosis. *J Dent Res*. 2018;97(4):371–80.
28. Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol*. 2015;23(2):76–82.
29. Zaura E, Brandt BW, Prodan A, Teixeira De Mattos MJ, Imangaliyev S, Kool J, et al. On the ecosystemic network of saliva in healthy young adults. *ISME J [Internet]*. 2017;11(5):1218–31.
30. Xiao E, Mattos M, Vieira GHA, Chen S, Corrêa JD, Wu Y, et al. Diabetes Enhances IL-17 Expression and Alters the Oral Microbiome to Increase Its Pathogenicity. *Cell Host Microbe*. 2017;22(1):120-128.e4.

31. Lu H, Ren Z, Li A, Zhang H, Jiang J, Xu S, et al. Deep sequencing reveals microbiota dysbiosis of tongue coat in patients with liver carcinoma. *Sci Rep*. 2016;6(June):1–11.
32. Abe K, Takahashi A, Fujita M, Imaizumi H, Hayashi M, Okai K, et al. Dysbiosis of oral microbiota and its association with salivary immunological biomarkers in autoimmune liver disease. *PLoS One*. 2018;13(7).
33. da Silva JL, El Kadre GDA de O, Kudo GAH, Junior JFS, Saraiva PP. Oral health of patients hospitalized in the intensive care unit. *J Contemp Dent Pract*. 2016;17(2):125–9.
34. Ewan V, Newton JL, Rushton S, Walls AWG. Oral hygiene of hospitalised older patients with lower limb fracture. *Age Ageing*. 2016;45(6):887–90.
35. Cecon F, Ferreira LEN, Rosa RT, Gursky LC, de Paula e Carvalho A, Samaranayake LP, et al. Time-related Increase of Staphylococci, Enterobacteriaceae and Yeasts in the Oral Cavities of Comatose Patients. *J Microbiol Immunol Infect*. 2010;43(6):457–63.
36. Cabral DJ, Wurster JI, Flokas ME, Alevizakos M, Zabat M, Korry BJ, et al. The salivary microbiome is consistent between subjects and resistant to impacts of short-Term hospitalization. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–13.
37. Ewan VC, Reid WDK, Shirley M, Simpson AJ, Rushton SP, Wade WG. Oropharyngeal Microbiota in Frail Older Patients Unaffected by Time in Hospital. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8(February):1–9.
38. Da Cruz MK, Nascimento De Morais TM, Trevisani DM. Clinical assessment of the oral cavity of patients hospitalized in an intensive care unit of an emergency hospital. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2014;26(4):379–83.
39. Lax S, Krezalek M, Larsen P, Shakhsher B, Garcia-Houchins S, Alverdy J, et al. Bacterial colonization and succession in a newly opened hospital. *Sci Transl Med*. 2017;9(391):eaah6500.
40. Smith D, Alverdy J, An G, Coleman M, Garcia-Houchins S, Green J, et al. The hospital microbiome project: Meeting report for the 1st hospital microbiome project workshop on sampling design and building science measurements, chicago, usa, june 7th-8th 2012. *Stand Genomic Sci*. 2013;8(1):112–7.

41. Lax S, Gilbert JA. Hospital-associated microbiota and implications for nosocomial infections. *Trends Mol Med*. 2015;21(7):427–32.
42. Lautenbach E, Perencevich EN. Addressing the Emergence and Impact of Multidrug-Resistant Gram-Negative Organisms: A Critical Focus for the Next Decade. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35(04):333–5.
43. Dik JWH, Sinha B, Lokate M, Lo-Ten-Foe JR, Dinkelacker AG, Postma MJ, et al. Positive impact of infection prevention on the management of nosocomial outbreaks at an academic hospital. *Future Microbiol*. 2016;11(10):1249–59.
44. El-Rabbany M, Zaghlol N, Bhandari M, Azarpazhooh A. Prophylactic oral health procedures to prevent hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: A systematic review. *Int J Nurs Stud*. 2015;52(1):452–64.
45. Liu C, Cao Y, Lin J, Ng L, Needleman I, Walsh T, et al. Oral care measures for preventing nursing home-acquired pneumonia ( Review ) SUMMARY OF FINDINGS FOR THE MAIN COMPARISON. 2018;(9).
46. Vilela MCN, Ferreira GZ, Santos PS da S, Rezende NPM de. Oral care and nosocomial pneumonia: a systematic review. *Einstein (São Paulo)*. 2015;13(2):290–6.
47. Gonçalves LHT, Mello ALSF de, Zimmermann K. Validação de instrumento de avaliação das condições de saúde bucal de idosos institucionalizados. *Esc Anna Nery*. 2010;14(4):839–47.
48. Miyazaki H, Sakao S, Katoh Y, Takehara T. Correlation Between Volatile Sulphur Compounds and Certain Oral Health Measurements in the General Population. *J Periodontol*. 2012;66(8):679–84.
49. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159–74.
50. Chalmers J, King P, Spencer A, Wright F, Carter K. The Oral Health Assessment Tool - Validity and reliability. *Aust Dent J*. 2005;50(3):191–9.

51. Hengstler KA, Hammann R, Fahr AM. Evaluation of BBL CHROMagar Orientation medium for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. *J Clin Microbiol.* 1997;35(11):2773–7.
52. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. *J Clin Microbiol.* 1994;32(8):1923–9.
53. Jabra-Rizk MA, Brenner TM, Romagnoli M, Baqui AAMA, Merz WG, Falkler J, et al. Evaluation of a reformulated CHROMagar Candida. *J Clin Microbiol.* 2001;39(5):2015–6.
54. Needleman I, Hyun-Ryu J, Brealey D, Sachdev M, Moskal-Fitzpatrick D, Bercades G, et al. The impact of hospitalization on dental plaque accumulation: An observational study. *J Clin Periodontol.* 2012;39(11):1011–6.
55. Sousa LLA, Silva Filho WLSE, Mendes RF, Moita Neto JM, Prado Junior RR. Oral health of patients under short hospitalization period: Observational study. *J Clin Periodontol.* 2014;41(6):558–63.
56. Tavares M, Lindefjeld Calabi KA, San Martin L. Systemic diseases and oral health. *Dent Clin North Am.* 2014;58(4):797–814.
57. Nascimento RCRM do, Álvares J, Afonso Guerra Junior A, Cristina Gomes I, Rosa Silveira M, Alves Costa E, et al. Polifarmácia: uma realidade na atenção primária do Sistema Único de Saúde. *Rev Saude Publica.* 2017;51:12.
58. Masnoon N, Shakib S, Kalisch-Ellett L, Caughey GE. What is polypharmacy? A systematic review of definitions. *BMC Geriatr.* 2017;17(1):1–10.
59. Tan ECK, Lexomboon D, Sandborgh-Englund G, Haasum Y, Johnell K. Medications That Cause Dry Mouth As an Adverse Effect in Older People: A Systematic Review and Metaanalysis. *J Am Geriatr Soc.* 2018;66(1):76–84.
60. Gemaque K, Giacomelli Nascimento G, Cintra Junqueira JL, Cavalcanti de Araújo V, Furuse C. Prevalence of Oral Lesions in Hospitalized Patients with Infectious Diseases in Northern Brazil. *Sci World J.* 2014;2014:1–5.

61. Chacko R, Rajan A, Lionel P, Thilagavathi M, Yadav B, Premkumar J. Oral decontamination techniques and ventilator-associated pneumonia. *Br J Nurs*. 2017;26(11):594–9.
62. Pedersen PU, Larsen P, Håkonsen SJ. The effectiveness of systematic perioperative oral hygiene in reduction of postoperative respiratory tract infections after elective thoracic surgery in adults: a systematic review. *JBIM Database Syst Rev Implement Reports*. 2016;14(1):140.
63. Sumi Y, Miura H, Nagaya M, Michiwaki Y, Uematsu H. Colonisation on the tongue surface by respiratory pathogens in residents of a nursing home--a pilot study. *Gerodontology*. 2006;23(1):55–9.
64. Azarpazhooh A, Leake JL. Systematic Review of the Association Between Respiratory Diseases and Oral Health. *J Periodontol*. 2006;77(9):1465–82.
65. Zhou Y, Gao H, Mihindukulasuriya KA, Rosa PSL, Wylie KM, Vishnivetskaya T, et al. Biogeography of the ecosystems of the healthy human body. *Genome Biol*. 2013;14(1):R1.