

Associação entre biofilme bucal e aspirado traqueal em pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica.

Association between oral biofilm and tracheal aspirate in patients with ventilator-associated pneumonia.

Frederico Eugênio¹, Thuane Neves², Marcos Gontijo da Silva³, Marília Pontoja Soares⁴, Ana Paula Mundim⁵, Victor Rodrigues Nepomuceno⁶, Poliana Guerino Marson⁷

¹Cirurgião-dentista, Mestre em Ciências da Saúde e Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Tocantins - UFT. E-mail: fredgpi@hotmail.com

²Cirurgião-dentista iã-dentista e Universidade Gurupi – UnirG.

³Biomédico, Doutor em Medicina Tropical, Universidade Federal do Tocantins.

⁴Enfermeira, Especialista em Gestão em Saúde, Universidade Gurupi – UnirG.

⁵Cirurgião-dentista, Universidade Federal de Goiás – UFG.

⁶Fisioterapeuta, Doutor em Ciências, Docente do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Tocantins - UFT.

⁷Farmacêutica-Bioquímica, Doutora em Biotecnologia, Docente do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Tocantins - UFT.

RESUMO

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) é uma infecção relacionada à assistência à saúde que desafia órgãos de controle de infecções hospitalares por estar associada a altas taxas de mortalidade. Objetivou-se identificar a etiologia bacteriana pulmonar de pacientes que desenvolveram PAV, correlacionando às bactérias patogênicas da cavidade bucal dos pacientes internados na UTI do Hospital Regional de Gurupi, submetidos à higiene bucal. Foram realizadas culturas do aspirado traqueal e cavidade bucal nesses pacientes, sendo que 18 deles foram submetidos à higiene bucal com clorexidina 0,12% e 12 submetidos à higiene com água destilada. Às culturas do aspirado traqueal de 13 pacientes foram positivas, predominando *Pseudomonas aeruginosa* e *Citrobacter freundii*. Na cavidade bucal houve a presença de potenciais patógenos causadores de PVA, predominando *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* sp. Nos pacientes higienizados com clorexidina, apenas 27,7% apresentaram cultura positiva na cavidade bucal, contra 100% dos pacientes higienizados com água destilada. Em dois pacientes foi encontrado *Citrobacter freundii*, tanto no aspirado traqueal quanto na cavidade bucal. A cavidade bucal pode ser um reservatório de potenciais patógenos da PAV e o controle de biofilme bucal se faz necessário como ação na prevenção, sendo a clorexidina 0,12% eficaz neste controle.

Palavras-chave: Pneumonia, Clorexidina, Infecção hospitalar. Higiene bucal. Unidade de terapia intensiva. Biofilme.

ABSTRACT

Mechanical ventilation-associated pneumonia (VAP) is a healthcare-related infection that challenges hospital infection control organs because it is associated with high mortality rates. The objective was to identify the pulmonary bacterial etiology of VAP correlating with pathogenic bacteria in the oral cavity of 30 patients diagnosed with PVA at the Intensive Care Unit of the Hospital Regional de Gurupi. Cultures of tracheal aspirate and oral cavity were performed in these patients, with 18 of them undergoing oral hygiene with 0.12% chlorhexidine and 12 undergoing hygiene with distilled water. The cultures of the tracheal aspirate of 13 patients were positive, with predominance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Citrobacter freundii*. Potential pathogens causing PVA were present in the oral cavity, with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* sp. In patients cleaned with chlorhexidine, only 27.7% had a positive culture in the oral cavity, against 100% of patients cleaned with distilled water. In two patients, *Citrobacter freundii* was found, both in the tracheal aspirate and in the oral cavity. The oral cavity can be a reservoir of potential pathogens for VAP and the control of oral biofilm is necessary as an action in prevention, with chlorhexidine 0.12% effective in this control.

Keywords: Pneumonia, Chlorhexidine, Cross infection. *Citrobacter freundii*. Intensive care unit.

1. INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos associados a capacitação especializada em Medicina Intensiva auxiliaram muito a probabilidade de êxito nos esforços em salvar vidas de pacientes em estado crítico, que necessitam de uma unidade de terapia intensiva (UTI). Da mesma maneira, a subdivisão das unidades por especificidade dos problemas, também vem otimizando os tratamentos (HAAK et al., 2017).

A inserção de dispositivos médicos tem se tornado indispensável em quase todas as áreas da medicina, particularmente em UTIs. Dados do início dessa década, mostram que a indústria de biomateriais movimentou cerca de U\$ 28 bilhões por ano e encontra-se em rápida expansão, com taxa de crescimento anual de 15% (HOLZAPFEL et al., 2013). O crescente uso desse tipo de material elevou a expectativa de vida humana no restabelecimento de inúmeras funções vitais, mas concomitantemente, exacerbou o problema do biofilme em relação ao aumento de infecções e resistência aos antimicrobianos (BUSSCHER et al., 2012). A maioria das infecções graves estão associadas a biofilmes em dispositivos médicos implantados e dispositivos invasivos (OTTO et al., 2013), e independentemente da sofisticação do dispositivo, todos estão suscetíveis ao risco de colonização microbiana e infecção (BUSSCHER et al., 2012). Ademais, em virtude da natureza do tipo de cuidado em UTIs, intervenções múltiplas associadas a fatores relacionados ao próprio paciente como, perfil de gravidade, atendimento de alta complexidade, além de maiores demandas de cuidados intensivos e de antibióticos, as pessoas expostas ao cuidado crítico estão mais predispostas a infecções (SIEGEL et al., 2017).

Verifica-se que essas infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) representam um importante problema de saúde pública, sendo a maior causa de morbimortalidade entre pacientes, aumento no tempo de internação e custos associados, especialmente devido a infecções e ou colonização por bactérias multirresistentes (LISSOVOY et al., 2009; SIEGEL et al., 2017).

Uma das infecções hospitalares que estão entre as principais causas de mortalidade dos pacientes graves internados é a pneumonia nosocomial, infecção diagnosticada após 48h da internação do paciente em ambiente hospitalar, não estando presentes nem incubada anteriormente à data de internação (AMARAL et al., 2009). O risco de desenvolver este tipo de pneumonia aumenta com o uso da ventilação mecânica (VM) e, além de prolongar, em média por 5 a 9 dias, o tempo de hospitalização dos

pacientes, provoca o aumento dos custos hospitalares e índices de mortalidade (MUSCEDERE et al., 2013). Quando esta infecção hospitalar ocorre em um paciente submetido à ventilação mecânica, é denominada Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV). A PAV tem prevalência variável com taxas desde 6 até 50 casos por 100 admissões em UTI (KOCAÇAL et al., 2018). Ela pode ser classificada como microbiológica, se está presente pelo menos um dos critérios laboratoriais: hemocultura positiva, sem outro foco de infecção aparente, cultura positiva do líquido pleural, cultura do lavado broncoalveolar $\geq 10^4$ UFC/mL ou do aspirado traqueal $\geq 10^6$ UFC/mL, ou exame histopatológico com evidência de infecção pulmonar. Na ausência de um dos critérios microbiológicos, é feito o diagnóstico de PAV clinicamente definida (DALMORA, et al., 2013).

A literatura aponta maneiras de prevenção da PAV, dentre elas a manutenção da higiene bucal do paciente, uma vez que um importante fator de risco é colonização da cavidade bucal por potenciais patógenos (AZIMI et al., 2016; ZAND et al., 2017). A cavidade bucal de pacientes internados em UTI pode servir como importante reservatório para microrganismos respiratórios associados à PAV. Estudos apontam que a saúde bucal pode estar relacionada com pacientes em estado grave sob VM e é influenciada pelos métodos de higienização. Essas informações propõem uma nova visão, em que procedimentos específicos para o controle desses patógenos na cavidade bucal devem ser considerados na prevenção da PAV. Dessa forma, o efeito de agentes antissépticos bucais na microflora patogênica deve ser elucidado (ANDREWS et al., 2013; DARVISHI et al., 2014; HAGHIGHI et al., 2017).

Pesquisas têm mostrado que a higiene bucal com Clorexidina 0,12% reduz infecções hospitalares (CABOV et al., 2010; AKDOGAN et al., 2017). Entretanto, resultados de alguns estudos randomizados e meta-análises que avaliam o efeito da clorexidina ainda são conflitantes, e o efeito de agentes antissépticos bucais na microflora patogênica deve ser elucidado (KOCAÇAL et al., 2018; BERRY et al., 2011; MEINBERG et al., 2012; HARRIS et al., 2018). Destaca-se, que são poucos os estudos na literatura que comparam ou correlacionam o perfil bacteriano das bactérias causadores de PAV com as bactérias da cavidade bucal.

Dessa forma, este estudo teve por objetivo identificar a etiologia bacteriana pulmonar de pacientes que desenvolveram pneumonia associada à ventilação mecânica,

correlacionando às bactérias patogênicas da cavidade bucal dos pacientes internados na UTI do Hospital Regional de Gurupi, submetidos à higiene bucal.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo é do tipo transversal, quantitativo, prospectivo, conduzido na cidade de Gurupi, estado do Tocantins, região Norte do Brasil. A coleta de dados foi realizada na UTI do Hospital Regional de Gurupi (HRG), que possui 10 leitos. A pesquisa foi submetida à um Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, conforme CAAE 67829917.4.0000.5518 e aprovada sob parecer nº 2.915.912.

A Pesquisa ocorreu no período de fevereiro de 2016 a janeiro de 2017, totalizando 12 meses. Foi avaliada a incidência de PAV em pacientes internados na UTI no período proposto, seguindo os critérios da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2017). O diagnóstico de PAV foi realizado pela equipe médica responsável e os casos notificados à Comissão de Controle de Infecções Hospitalares (CCIH) do hospital.

Quanto à seleção dos participantes, foram incluídos na pesquisa todos os pacientes internados na UTI, no período proposto, maiores de 18 anos, submetidos à ventilação mecânica com tubo orotraqueal, por pelo menos 48 h. Em relação aos critérios de exclusão, foram excluídos todos os pacientes que, no momento da internação, já apresentassem quadro de pneumonia, imunodeprimidos (corticoterapia em longo prazo, síndrome da imunodeficiência adquirida e transplantados), que passaram por intubação prévia, (pois a reintubação aumenta o risco de desenvolvimento da PAV), além dos com comprometimento grave do sistema imunológico, (mais susceptíveis à infecção, pois não respondem bem aos métodos de prevenção).

A execução do protocolo de higienização da cavidade bucal dos pacientes foi realizada pelas equipes de odontologia e enfermagem da UTI, sendo estas compostas por 05 Cirurgiões Dentistas, e, de acordo com o procedimento operacional padrão (POP) do HRG. Os pacientes foram acompanhados desde a internação até a remoção do tubo orotraqueal, por motivo de melhora clínica ou óbito.

Nos pacientes que desenvolveram a PAV foi realizada cultura bacteriana quantitativa do aspirado traqueal e da cavidade bucal, a fim de verificar a presença de bactérias da mesma espécie nos dois locais, indicando que o biofilme bucal possa estar relacionado ao início ou persistência da doença pulmonar, assim como avaliar a eficácia do protocolo de higiene bucal, frente ao controle de bactérias encontradas. A coleta do

aspirado traqueal foi realizada por uma sonda de aspiração traqueal (nº 12). Esta foi introduzida através do tubo orotraqueal até encontrar resistência, sendo retraída aproximadamente 2 cm. Seguiu-se com liberação do vácuo e retirada delicadamente em movimentos giratórios, a partir da qual a secreção foi aspirada para um tubo coletor estéril de polipropileno. Na cavidade bucal, as amostras foram colhidas com *swab*, no biofilme dental, antes da HB. A análise microbiológica foi realizada no laboratório de análises clínicas conveniado ao Sistema Único de Saúde (SUS) que presta atendimento ao HRG.

A coleta das amostras se deu nos leitos de UTI e levadas imediatamente ao laboratório de microbiologia, onde foi realizada primeiramente a confirmação da presença de contaminação por microrganismos e, posteriormente a identificação destes nas amostras. Para detectar a presença de contaminação foi utilizado o meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI). As amostras foram coletadas com *swab* estéril, inoculadas nos tubos contendo 5ml de Caldo BHI e incubadas 37° C por 16 a 20 horas. Sequencialmente, as amostras positivas foram posteriormente subcultivadas em ágar Manitol Salgado (*Staphylococcus* e *Bacillus*) e ágar MacConkey (bactérias gram-negativas). As amostras isoladas foram identificadas através de testes bioquímicos de identificação metabólica bacteriana.

A análise dos dados foi realizada pelo programa Epi-Info 3.3.2, e aplicado o teste de exato de Fisher para análise da HB. Os resultados foram expostos em uma tabela de contingência, sendo adotado o nível de significância de 1%.

3. RESULTADOS

No período proposto da pesquisa, trinta e dois pacientes foram diagnosticados com PAV, sendo dois deles excluídos, pois os mesmos passaram pelo procedimento de reintubação. Assim sendo, uma amostra de trinta indivíduos foi obtida. Dos trinta pacientes pesquisados, dezoito foram higienizados com clorexidina e doze foram higienizados com água destilada. Essa divisão ocorreu por conta do produto disponível no hospital no momento da higienização bucal (clorexidina 0,12% ou água destilada).

A Tabela 1 mostra os resultados das culturas de biofilme bucal e aspirado traqueal e a condição de higiene bucal prévia. Apenas 13 pacientes apresentaram crescimento bacteriano nas culturas de aspirado traqueal, sendo que, em um paciente houve crescimento de duas espécies, resultando em 14 identificações bacterianas. Em relação às culturas do biofilme bucal, 17 pacientes apresentaram culturas positivas. Na maioria

dos pacientes, não houve correlação de identidade bacteriana entre os locais de coleta (traqueal e bucal), destaca-se o isolamento do mesmo microrganismo, *Citrobacter freundii*, apenas em dois pacientes (9 e 10). (Tabela 1).

Tabela 1. Relação das bactérias encontradas nas culturas dos biofilme bucal e aspirado traqueal de pacientes que desenvolveram PAV.

| Paciente | Biofilme bucal | Aspirado traqueal | Higiene bucal |
|----------|--------------------------------|--|---------------|
| 1 | <i>Klebsiella ozaenae</i> | cn | ad |
| 2 | <i>Citrobacter braaki</i> | <i>Klebsiella</i> sp. | ad |
| 3 | <i>Acinetobacter baumannii</i> | cn | ad |
| 4 | <i>Staphylococcus aureus</i> | cn | ad |
| 5 | <i>Streptococcus</i> sp. | cn | ad |
| 6 | <i>Citrobacter braaki</i> | <i>Citrobacter freundii</i> | ad |
| 7 | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Enterobacter asburial</i> | ad |
| 8 | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Pseudomonas luteola</i> | ad |
| 9 | <i>Citrobacter freundii</i> | <i>Citrobacter freundii</i> | ad |
| 10 | <i>Citrobacter freundii</i> | <i>Citrobacter freundii</i> | ad |
| 11 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | cn | ad |
| 12 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | cn | ad |
| 13 | cn | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Burkholderia cepacia</i> | clx |
| 14 | cn | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | clx |
| 15 | <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | clx |
| 16 | <i>Streptococcus</i> sp. | cn | clx |
| 17 | cn | <i>Acinetobacter baumannii</i> | clx |
| 18 | <i>Escherichia coli</i> | <i>Hafnia alvei</i> | clx |
| 19 | <i>Streptococcus</i> sp. | cn | clx |
| 20 | cn | <i>Acinetobacter baumannii</i> | clx |
| 21 | <i>Escherichia coli</i> | <i>Hafnia alvei</i> | clx |
| 22 ao 30 | cn | cn | clx |

cn- cultura negativa; ad- água destilada; clx- clorexidina.

A Tabela 2 mostra a quantificação e a relação das bactérias encontradas no aspirado traqueal e biofilme bucal. Nas culturas do aspirado traqueal foram encontradas uma diversidade menor de espécies bacterianas em relação às bactérias isoladas na cavidade bucal. Apenas 4 espécies (*Pseudomonas* sp., *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, e *Klebsiella* sp.) foram encontradas em ambas culturas. Todas essas bactérias isoladas de secreção do aspirado traqueal são Gram negativas.

Tabela 2. Quantificação das culturas bacterianas encontradas no aspirado traqueal e biofilme bucal dos pacientes com PAV.

| Bactéria | Aspirado traqueal | Biofilme bucal |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| <i>Pseudomonas</i> sp. | 3 (21,4%) | 2 (11,7%) |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 3 (21,4%) | 2 (11,7%) |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 2 (14,2%) | 1 (5,8%) |
| <i>Hafnia alvei</i> | 2 (14,2%) | - |
| <i>Klebsiella</i> sp. | 2 (14,2%) | 1 (5,8%) |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | 1 (7,4%) | - |
| <i>Enterobacter asburial</i> | 1 (7,4%) | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | 3 (17,6%) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | - | 1 (5,8%) |
| <i>Streptococcus</i> sp. | - | 3 (17,6%) |
| <i>Escherichia coli</i> | - | 2 (11,7%) |
| <i>Citrobacter braaki</i> | - | 2 (11,7%) |

Dos pacientes que receberam HB com clorexidina, mais de 70% apresentaram cultura bacteriana bucal negativa, enquanto todos os pacientes que receberam HB com água destilada (100%) apresentaram cultura bacteriana bucal positiva, identificados pelo teste exato de Fisher ($p < 0,01$), conforme Tabela 3.

Tabela 3. Cultura bacteriana em pacientes com PAV submetidos a higiene bucal com Clorexidina e Água destilada.

| Cultura bacteriana bucal | HB com Clorexidina* | HB com Água Destilada* | Total |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|
| Positiva | 5 (27,7%)* | 12 (100 %) | 17 |
| Negativa | 13 (72,2%) | 0 | 13 |
| Total | 18 | 12 | 30 |

* significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Fischer ($p < 0,01$)

4. DISCUSSÃO

Os microrganismos causadores de PAV em pacientes internados variam de acordo com a característica da UTI, política de uso de antibióticos, tempo de internação e uso de ventiladores mecânicos (HUNTER, 2006). Vários são os patógenos que podem estar envolvidos com a PAV, sendo as bactérias os agentes mais comuns, e as espécies normalmente encontradas em culturas do aspirado traqueal são: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* sp., *Escherichia coli*, entre outras (CABOV et al., 2010; BARBIER et al., 2013; SOUZA et al., 2017; ZAND et al., 2017).

Na presente pesquisa, foram identificados sete tipos diferentes de espécies bacterianas oriundas das culturas do aspirado traqueal nos pacientes com PAV, todas Gram negativas, sendo elas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella* sp., *Burkholderia cepacia* e *Enterobacter asburial* (Tabela 1). Destaca-se que a virulência bacteriana, assim como as condições de saúde e imunidade do paciente, são os principais fatores capazes de influenciar a evolução da colonização e os fatores patogênicos para a instalação da doença. Ademais, pacientes em UTIs estão particularmente, correndo risco, devido à alteração imunológica, doença de base, à presença de dispositivos invasivos e utilização de antimicrobianos de forma empírica (ASHRAF; OSTROSKY-ZEICHNER, 2012).

As bactérias *Hafnia alvei* e *Enterobacter asburial* apesar de não serem potencialmente patogênicas, podem eventualmente causar infecções oportunistas importantes em pacientes imunodebilitados, assim como a *Burkholderia cepacia*, que é outro organismo oportunista, que acomete pacientes hospitalizados, sendo frequente sua presença no ambiente, água, solo, plantas, e nos seres humanos, podem colonizar o trato respiratório, sendo de difícil tratamento, devido à resistência intrínseca e adquirida aos antimicrobianos (REGAN; BHATT, 2014).

Em contrapartida, as bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella* sp., possuem elevada patogenicidade, podendo, inclusive, apresentar resistência aos antimicrobianos. Em pacientes imunocomprometidos, tendem a ser mais graves e o tratamento destas infecções mais complexo (MANCHANDA; SANCHAITA; SINGH, 2010). Tanto a *Pseudomonas aeruginosa*, quanto a *Acinetobacter baumannii* estão entre as bactérias mais isoladas em amostras do trato respiratório de pacientes submetidos a internação hospitalar (HAUSER et al., 2011). No Brasil, *Pseudomonas aeruginosa* tem sido a causa mais comum de infecções do trato respiratório (GALES et

al., 2012) e a *Acinetobacter baumannii* tem sua maior prevalência como agente causal de pneumonia nosocomial, particularmente em PAV, em pacientes internados em unidades UTIs (PELEG et al., 2008). Ademais, o potencial de um patógeno nosocomial em causar doenças pode ser devido à sua capacidade de sobreviver em soluções anti-sépticas e equipamentos de contaminação, características importantes dessas espécies bacterianas.

Frota et al. (2014) também encontraram estes mesmos grupos de bactérias em maior frequência em seu trabalho, e ainda concluíram que a técnica tradicional de coleta do aspirado traqueal, a mesma utilizada na presente pesquisa, pode ser considerada segura e relevante na identificação bacteriana da PAV.

Na presente pesquisa, 56% das culturas de aspirado traqueal foram negativas, demonstrando a dificuldade no isolamento das bactérias em meio de cultivo. Apesar de Kalil et al. (2016) afirmarem que cerca de 40% das PAVs tem etiologia polimicrobiana. Assim, o resultado negativo da cultura do aspirado traqueal pode estar associado às limitações das técnicas microbiológicas, uma vez que nem sempre é possível garantir o crescimento de microrganismos em meios artificiais. Os métodos diagnósticos têm sensibilidade e especificidade próprios, existindo vários interferentes envolvidos na qualidade dos mesmos. Além disso, o tratamento prévio com antibióticos, muito comum em pacientes internados em UTIs, é um dos fatores que podem dificultar o isolamento e crescimento dos microrganismos em meio de cultura e, conseqüentemente no diagnóstico etiológico da PAV, impossibilitando o tratamento mais assertivo, uma vez que o isolamento é imprescindível para a realização do teste de sensibilidade a antimicrobianos.

Os estudos de Chastre et al. (2002) e Kalil et al. (2016) que utilizaram a técnica de cultura quantitativa sugerem que culturas de aspirado traqueal podem ter uma acurácia diagnóstica semelhante à de outras técnicas mais invasivas, como lavagem broncoalveolar e broncoscopia por fibra óptica. Segundo estes autores, um grande problema das técnicas invasivas é a dificuldade de seleção adequada da área de amostragem na árvore brônquica e a falta de evidências que as técnicas invasivas melhoram os resultados clínicos através da antibioticoterapia, sendo o aspirado traqueal o mais indicado, por apresentar os mesmos resultados, ser menos invasivo, mais simples e barato. Em contrapartida, Chastre e Fagon (2002) relatam que apesar do aspirado quantitativo traqueal ser o exame mais indicado para diagnóstico microbiológico da PAV, o mesmo pode apresentar resultados falso-positivos, por contaminação no momento da coleta ou simplesmente pelo agente bacteriano estar presente somente na traqueia e não

no pulmão.

A PAV possui etiologia multifatorial, e um desses fatores é a aspiração das secreções da cavidade oral e orofaringe dos pacientes, podendo levar ao quadro de pneumonia. Na cavidade oral de um indivíduo adulto saudável, o microrganismo de maior prevalência é o *Streptococcus viridans* Gram-positivo, entretanto, em pacientes críticos, devido à impossibilidade do autocuidado, como aqueles encontrados nas UTIs, essa microbiota pode ser modificada passando a ser de predominância Gram-negativa (AMARAL; CORTÊZ; PIRES, 2009). Em relação às bactérias isoladas na cavidade bucal dos pacientes com PAV do presente estudo, nove espécies diferentes e não comuns foram encontradas, entre elas, Gram-negativas e Gram-positivas (Tabela 2), evidenciando uma microbiota alterada em todos os pacientes. As bactérias encontradas em maior frequência foram *Staphylococcus aureus* (17,6%) e *Streptococcus* sp. (17,6%). Em dois pacientes, a bactéria isolada (*Citrobacter freundii*) na cavidade bucal foi a mesma que na cultura traqueal, demonstrando uma relação entre a cavidade oral e a pneumonia nesses dois pacientes. Ressalta-se que a colonização desses patógenos, não comuns no ambiente bucal, se dão devido a uma diminuição do fluxo salivar e pH da saliva, fato este comum no paciente grave em UTI, devido ao uso de vários medicamentos.

Em relação as enterobactérias, na cavidade bucal, a presença de bactérias como *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* são potencialmente patogênicas para início de desenvolvimento ou manutenção da PAV. A frequência dessas bactérias encontradas em PAV's são de 14,1% para *Escherichia coli* em e 4,7% para *Enterococcus faecalis*, conforme estudo de Kalanuria et al. (2014), sendo similar aos encontrados na presente pesquisa (Tabela 2).

Outros autores relatam as mesmas bactérias isoladas na cavidade bucal de pacientes com PAV, entretanto com frequências diferentes das encontradas nesta pesquisa. Destacam-se Cabov et al. (2010) que encontraram uma maior variedade de espécies patogênicas no grupo água destilada: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* sp., e *Klebsiella pneumoniae*; e no grupo clorexidina, apenas *Klebsiella pneumoniae*. Özçaka et al. (2012) relatam uma maior frequência do patógeno *Acinetobacter baumannii*, isolado em 64,7% das PAVs desenvolvidas, enquanto, estudos de Azimi et al. (2016) notaram uma maior frequência de *Klebsiella* sp. (20,5%), seguido de *Pseudomonas* sp. (17,9%). Zand et al. (2017) afirmaram que os microrganismos mais frequentes isolados nas amostras da cavidade bucal foram *Acinetobacter*, *Klebsiella* sp.,

Enterobacter, Staphylococcus aureus, Pseudomonas sp., Candida albicans, Escherichia coli e Citrobacter.

Na presente pesquisa, todos os pacientes com PAV que receberam higienização somente com água destilada, foi possível isolar bactérias do biofilme bucal. Em contrapartida, nos pacientes higienizados previamente com clorexidina a taxa de positividade foi de 27,7% (Tabela 3), o que evidencia a eficácia do antisséptico. Alguns estudos relatam a importância da clorexidina, e seu efeito antimicrobiano bucal, na prevenção da PAV. Akdogan et al. (2017) pesquisaram 133 pacientes divididos em dois grupos, sendo que em um deles foram utilizadas diversas medidas de prevenção da PAV, incluindo higienização com clorexidina. Verificaram, nesse grupo, que a taxa de incidência de PAV foi de 15%, enquanto que no grupo no qual as ações de prevenção não foram realizadas, a taxa de PAV foi de 60%.

Outros estudos similares conduzidos por Cabov et al. (2010), Grap et al.(2011), Özçaka et al. (2012), Sharma e Kaur (2012), Azimi et al. (2016) e Zand et al. (2017) também relatam que o grupo clorexidina apresentou significativamente menos casos de PAV, evidenciando a importância do uso precoce deste antisséptico bucal.

A concentração de clorexidina utilizada neste estudo foi de 0,12%, devido ao menor risco de lesão à mucosa, e por essa ser a concentração recomendada pela ANVISA, além de ser estabelecida pelo POP da CCIH do hospital onde se realizou a pesquisa.

Outras pesquisas como as de Berry et al. (2011), Meinberg et al. (2012) e Harris et al. (2018) mostraram resultados diferentes em relação à eficácia da clorexidina, não relatando incidências de PAV estatisticamente diferentes entre grupos higienizados com clorexidina e soluções contendo água destilada ou gel placebo. Estes estudos consideraram que a higiene bucal com clorexidina não tem efetividade na prevenção da PAV. Entretanto, vale ressaltar que estes mesmos autores destacaram as limitações dos testes, como a heterogeneidade das amostras e a dificuldade muitas vezes de controlar todos os fatores associados ao diagnóstico e patogênese da PAV. Apesar destes estudos não demonstrarem diferença significativa com o uso da clorexidina, é consenso entre órgãos de controle de infecção a prática da higienização bucal com clorexidina como método preventivo da PAV.

A agência do departamento de saúde e serviços humanos dos Estados Unidos, *Center for Diseases Control and Prevention (CDC)*, atualizou em 2014 as estratégias para prevenção da PAV (KLOMPAS et al., 2014). Nesta publicação as recomendações

são classificadas em níveis de “qualidade-de-evidência”: alto, moderado e baixo. A descontaminação bucal com clorexidina está classificado como grau moderado, quando o verdadeiro efeito da ação aparentemente está próximo do esperado, mas existe a possibilidade de que seja substancialmente diferente; é considerado moderado quando os estudos não são numerosos e alguns apresentam limitações.

Ainda, segundo a *CDC*, a higienização bucal com clorexidina pode diminuir taxas de PAV, mas os dados das pesquisas são insuficientes para sugerir o impacto na duração da ventilação mecânica ou mortalidade. A *American Thoracic Society (ATA)*, organização com objetivo de melhorar o atendimento de doenças pulmonares, e *Infectious Diseases Society of America (IDSA)*, associação médica com profissionais especializados em doenças infecciosas, também seguem a orientação do *CDC*, assim como a *Society for Healthcare Epidemiology of America and Cambridge University (SHEA)*.

No Brasil, o caderno de Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (ANVISA, 2017) lista 4 medidas específicas e importantes a serem realizadas em conjunto, como importante método na prevenção da PAV: cabeceira da cama elevada (30 a 45°), adequar diariamente o nível de sedação e o teste de respiração espontânea, aspirar a secreção subglótica rotineiramente e higiene bucal com clorexidina 0,12%.

A incidência de PAV é difícil de determinar, uma vez que as definições de vigilância são subjetivas e inespecíficas, e dependem muitas vezes da acurácia e experiência do profissional que realiza o diagnóstico. Ela varia de 5% a 67%, dependendo da casuística e dos critérios diagnósticos utilizados, e as maiores taxas são em pacientes imunocomprometidos, cirúrgicos e idosos (SOUZA et al., 2017). Em 2016, segundo dados do Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde n° 16 publicado pela ANVISA, 1388 hospitais notificaram dados referentes a taxa de PAV em UTI, sendo que a média nacional dessa infecção foi de 13,6%. Nota-se que a média encontrada no HRG (54%) foi bem acima da média nacional. Entretanto, a porcentagem dos hospitais que repassam as notificações ainda é baixa, haja vista, o número de 1388 instituições hospitalares representar apenas 43% de todas as instituições do Brasil, podendo assim este dado nacional estar subestimado.

É importante ressaltar que a higienização bucal com clorexidina é apenas uma entre outras ações de prevenção, como higiene das mãos, cabeceira elevada, pressão do *cuff* e aspiração traqueal rotineira, sendo que tais ações não foram acompanhadas nesta

pesquisa.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado no acompanhamento de pacientes adultos internados sob ventilação mecânica, as principais bactérias relacionadas ao início de PAV, que possivelmente colonizam o parênquima pulmonar dos pacientes internados na UTI do HRG, foram *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, bactérias da família Enterobacteriaceae (*Citrobacter freundii*, *Klebsiella* sp, *Enterobacter asburial*, *Hafnia alvei*) e *Burkholderia cepacia*.

Em relação à microbiota bucal, houve a presença de potenciais patógenos causadores de PAV colonizando a cavidade bucal, com uma frequência maior de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* sp. O isolamento do mesmo microrganismo (*Citrobacter freundii*), tanto na cavidade bucal, quanto no pulmão (aspirado traqueal) foi encontrado apenas em dois pacientes. Mesmo sendo uma porcentagem pequena, este duplo evento reforça que o meio bucal pode ser um reservatório de possíveis patógenos da PAV, concluindo assim que o controle bacteriano bucal tem grande importância, tanto em procedimentos de prevenção, quanto tratamento desta infecção hospitalar.

Há eficácia da higienização bucal com clorexidina 0,12% comparado ao uso de apenas água destilada, uma vez que houve diferença estatística significativa em relação ao controle bacteriano bucal, no uso deste antisséptico bucal, sendo que apenas 27,7% apresentaram cultura bacteriana positiva, contra 100% no grupo água destilada.

Conclui-se que o controle rígido de métodos de prevenção da PAV, incluindo a higienização bucal com clorexidina deve ser realizado, a fim de reduzir a incidência desta importante enfermidade.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Medidas de prevenção de infecção relacionada à Assistência à Saúde, Brasil, 2017, 126p.

AKDOGAN O, ERSOY Y, KUZUCU C, GEDIK E, TOGAL T, YETKIN F. Assessment of the effectiveness of a ventilator associated pneumonia prevention bundle that contains endotracheal tube with subglottic drainage and cuff pressure monitorization. The Brazilian **Journal of Infectious Diseases**. 21(3), p. 276-281, 2017. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702017000300276

AMARAL, S.M.; CORTES, A.Q.; PIRES, F. R. Pneumonia nosocomial: importância do microambiente oral. **J. Bras. Pneumol.** 35(11), p. 1116-1124, 2009. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132009001100010

ANDREWS, T.; STEEN, C. A review of oral preventative strategies to reduce ventilator-associated pneumonia. **Nursing in Critical Care.** p. 116-122, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23577946/>

ASHRAF, M.; OSTROSKY-ZEICHNER, L. Ventilator-associated pneumonia: a review. **Hosp Pract** (1995). p. 93-105, 2012. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22406885/>

AZIMI, M.; JOUYBARI, L.; MOGHADAM, S.; GHAEMI, E.; BEHNAMPOOR, N.; SANAGOO, A.; HESAM, M.; Antimicrobial effects of chlorhexidine, Matrica mouthwash (chamomile extract), and normal saline on hospitalized patients with endotracheal tubes. **Journal of Nursing and Midwifery Research.** 21(5), p. 458-463, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27904627/>

BARBIER F, ANDREMONT A, WOLFF M, BOUADMA L. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. **Curr Opin Pulm Med.** 19(3), p. 216–228, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23524477/>

BERRY, A.M.; DAVIDSON, P.M.; MASTERS, J.; ROLLS, K.; OLLERTON, R. Effects of three approaches to standardized oral hygiene to reduce bacterial colonization and ventilator associated pneumonia in mechanically ventilated patients: A randomised control trial. **International Journal of Nursing Studies.** 48(6), p. 681-668, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21185559/>

BUSSCHER, H.J.; VAN DER MEI, H.C.; SUBBIAHDOSS, G.; JUTTE, P.C.; VAN DEN DUNGEN, J.J.; ZAAT, S.A.; SCHULTZ, M.J.; GRAINGER, D.W. Biomaterial associated infection: locating the finish line in the race for the surface. **Science Translational Medicine.** v. 4, p.1-11, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23019658/>

CABOV, T.; MACAN, D.; HUSEDZINOVIC ISKRLIN-SUBIC J.; BOSNJAK, D.; SESTAN-CRNEK, S.; PERIC, B.; KOVAC, Z.; GOLUBOVIC, V. The impact of oral health and 0.2% chlorhexidine oral gel on the prevalence of nosocomial infections in surgical intensive-care patients: A randomized placebo-controlled study. **Wiener Klinische Wochenschrift.** v. 122(13-14), p. 397-404, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20602280/>

CHASTRE, J.; FAGON, J.Y. Ventilator-associated Pneumonia. **Am J Respir Crit Care Med.** v. 165, p. 867–903, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11934711/>
DALMORA, C.H; DEUTSCHENDORF, C.; NAGEL, F.M.; SANTOS, R.P.; LISBOA, T. C. Definindo pneumonia associada à ventilação mecânica: um conceito em (des)construção. **Rev. Bras. Ter. Intensiva.** v.25(2), p. 81-86, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbti/v25n2/v25n2a04.pdf>

DARVISHI KHEZRI, H.; EMAMI ZEYDI, A.; FIROUZIAN, A.; GHOLIPOUR BARADARI, A.; MAHMOODI, G.; HASANZADEH KIABI, F.; MOGHADDASIFAR, I. The importance of oral hygiene in prevention of Ventilator-Associated Pneumonia (VAP): A literature review.

International Journal of Caring Sciences. v. 7(1), p. 12-23, 2014. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK292458/>

FROTA, O.; FERREIRA, A.; BARCELOS, L.; WATANABE, E.; CARVALHO, N.; RIGOTTI, M. Colheita de aspirado traqueal: segurança e concordância microbiológica entre duas técnicas. **Rev Esc Enferm.** 48(4), p. 618-624, 2014. Disponível em:
https://www.scielo.br/pdf/reeusp/v48n4/pt_0080-6234-reeusp-48-04-618.pdf

GALES, A. C.; CASTANHEIRA, M.; JONES, R.N.; SADER, H.S. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis.* p. 354-360, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22656912/>

GRAP, M.J.; MUNRO, C.L.; HAMILTON, V.A.; ELSWICK, R.K.; SESSLER, C.N.; WARD, K.R. Early, single chlorhexidine application reduces ventilator-associated pneumonia in trauma patients. **Heart & Lung.** 40(5), p. 115-122, 2011. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21411151/>

HAAK, B.W.; LEVI, M.; WIERSINGA, W.J. Microbiota-targeted therapies on the intensive care unit. *Curr Opin Crit Care.* p.167–174, 2017. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28092309/>

HAGHIGHI, A.; SHAFIPOUR, V.; BAGHERI-NESAMI, M.; BARADARI, A.G.; CHARATI, J.Y. The impact of oral care on oral health status and prevention of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. **Australian Critical Care.** 30(2): p. 69-73, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27499527/>

HARRIS, B.; THOMAS, G.; GREENE, M.; SPIRES, S.; TALBOT, T. Bundle Compliance and Risk of Ventilator-Associated Events. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 39(6), p. 637-643, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29770752/>

HAUSER, A. R.; JAIN, M.; BAR-MEIR, M; MCCOLLEY, S. A. Clinical Significance of Microbial Infection and Adaptation in Cystic Fibrosis. **Clinical Microbiology Reviews.** 24(1), p. 29-70, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21233507/>

HOLZAPFEL, B. M.; REICHERT, J.C.; SCHANTZ, J.T.; GBURECK, U.; RACKWITZ, L.; NÖTH, U.; JAKOB, F.; RUDERT, M.; GROLL, J.; HUTMACHER, D.W.; How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. **Adv Drug Deliv Rev.** 65(4), p.581-603, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22820527/>

KALANURIA, A.A.; ZAI, W.; MIRSKY, M. Ventilator-associated pneumonia in the ICU. *Critical Care.* 18(2), p.2-8, 2014.

KALIL, A.C.; METERSKY, M.L.; KLOMPAS, M.; MUSCEDERE, J.; SWEENEY, D.A.; PALMER, L.B. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clinical Infectious Diseases.* 63(5), p. 61-111, 2016. Disponível em: <https://www.thoracic.org/statements/resources/tb-opi/hap-vap-guidelines-2016.pdf>

KLOMPAS, M.; BRANSON, R.; EICHENWALD, E. C.; GREENE, L.R.; HOWELL, M. D.; LEE, G. Strategies to prevent ventilator-associated pneumonia in acute care hospitals: 2014 update. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 35(8), p. 915-936, 2014.

Disponível em:

<http://www.inicc.org/media/docs/StrategiestoPreventVAPinAcuteCareHospitals-2014Update.pdf>

KOCAÇAL GÜLER, E.; TÜRK, G. Oral Chlorhexidine Against Ventilator-Associated Pneumonia and Microbial Colonization in Intensive Care Patients. *West J Nurs Res*. 41(6), p. 901-919, 2018. Disponível em:

<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0193945918781531>

LISSOVOY, G. D.; FRAEMAN, K.; HUTCHINS, V.; MURPHY, D.M.; SONG, D.Z.; VAUGHN, B.B. Surgical site infection: incidence and impact on hospital utilization and treatment costs. **American Journal of Infection Control**. 37 (5), p. 387-397, 2009.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19398246/>

MANCHANDA, V.; SANCHAITA, S.; SINGH, N.P. Multidrug resistant Acinetobacter. **Jounal Global Infecticion Diseases**, p. 291-304, 2010. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20927292/>

MEINBERG, M.C.A.; CHEADE, M.F.M.; MIRANDA, A.L.D.; FACHINI, M.M.; LOBO, S. M. The use of 2% chlorhexidine gel and toothbrushing for oral hygiene of patients receiving mechanical ventilation: Effects on ventilator-associated pneumonia. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. 24(4), p. 369-374, 2012. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23917935/>

MUSCEDERE, J.; SINUFF, T.; HEYLAND, D.K.; DODEK, P. M.; KEENAN, S.P.; WOOD, G. The clinical impact and preventability of ventilator-associated conditions in critically ill patients who are mechanically ventilated. *Chest*. 144(5), p.1453-1460, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24030318/>

OTTO, M. Staphylococcal Infections: Mechanisms of Biofilm, Maturation and Detachment as Critical Determinants of Pathogenicity. **Annu Rev Med**.v. 64: p.1–14, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22906361/>

OZÇAKA, O.; BASOGLU, O.K.; BUDUNELI, N.; TASBAKAN, M.S.; BACAKOGLU, F.; KINANE, D.F. Chlorhexidine decreases the risk of ventilator-associated pneumonia in intensive care unit patients: a randomized clinical trial. **Journal of Periodontal Research**. v.47(5), p. 584–592, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22376026/>

PELEG, A. Y.; DE BREIJ, A.; ADAMS, M. D.; CERQUEIRA, G. M.; MOCALI, S.; GALARDINI, M.; NIBBERING, P. H.; EARL, A. M.; WARD, D. V.; PATERSON, D. L.; SEIFERT, H.; DIJKSHOORN, L. The Success of Acinetobacter Species; Genetic, Metabolic and Virulence Attributes. *PLoS One*. p. 1-11, 2012. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23144699/>

REGAN, K. H.; BHATT, J. Eradication therapy for Buia cepacia complex in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* **Cochrane Database Syst Rev.** 2016
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25342425/>

SANDS, K.M.; WILSON MJ, LEWIS MA, WISE MP, PALMER N, HAYES AJ, BARNES RA, WILLIAMS DW. Respiratory pathogen colonization of dental plaque, the lower airways, and endotracheal tube biofilms during mechanical ventilation. **Journal of Critical Care.** p. 30-37, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27621110/>

SHARMA, S.K.; KAUR, J. Randomized control trial on efficacy of chlorhexidine mouth care in prevention of Ventilator Associated Pneumonia (VAP). **Nursing and Midwifery Research Journal.** v. 8(2), p. 169-177, 2012. Disponível em: <http://medind.nic.in/nad/t12/i2/nadt12i2p169.pdf>

SIEGEL, J.D.; RHINEHART, E.; JACKSON, M.; CHIARELLO, L. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. 2017; p. 1-203. Disponível em: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/isolation-guidelines-H.pdf?fbclid=IwAR3N3i9nrE9Pmkmwd-xXAQct4EURQXa2pdu6Cd7-CUMS70msP3nik7JHm10>

SOUZA LCD, MOTA VBR, CARVALHO AVSZ, CORRÊA RGCF, LIBÉRIO SA, LOPES FF. Association between pathogens from tracheal aspirate and oral biofilm of patients on mechanical ventilation. **Braz. Oral Res.** p. 31-38, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bor/v31/1807-3107-bor-31-1807-3107BOR-2017vol310038.pdf>

VILLAR, C.C.; PANNUTI, C.M.; NERY, D.M.; MORILLO, C.M.; CARMONA, M.J.; ROMITO, G. A. Effectiveness of Intraoral Chlorhexidine Protocols in the Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia: Meta-Analysis and Systematic Review, **Respiratory Care.** v. 61(9), p. 1245-1259, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27507174/>

ZAND, F.; ZAHED, L; MANSOURI, P.; DEHGHANRAD, F.; BAHRANI, M.; GHORBANI, M. The effects of oral rinse with 0.2% and 2% chlorhexidine on oropharyngeal colonization and ventilator associated pneumonia in adults' intensive care units. **Journal of Critical Care.** p. 318-322, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28320561/>

ZHANG, T.T.; TANG, S.S.; FU, L.J. The effectiveness of different concentrations of chlorhexidine for prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. **J Clin Nurs.** 23(11), p. 1461-1475, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23952970/>