

CARLOS MANUEL RUBIO MORILLO

Avaliação da presença de microrganismos periodontopatogênicos em amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, submetidos a cirurgias eletivas

São Paulo

2019

CARLOS MANUEL RUBIO MORILLO

Avaliação da presença de microrganismos periodontopatogênicos em amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, submetidos a cirurgias eletivas

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas para obter o título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Periodontia

Orientador: Profa. Dra. Cristina Cunha Villar

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Rubio Morillo, Carlos Manuel.

Avaliação da presença de microrganismos periodontopatogênicos em amostras subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, submetidos a cirurgias eletivas / Carlos Manuel Rubio Morillo ; orientador Cristina Cunha Villar. -- São Paulo, 2018.

86 p. : tab. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Periodontia. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Periodontite. 2. Microbiologia. 3. Pneumonia associada à ventilação mecânica. 4. Clorexidina. I. Villar, Cristina Cunha. II. Título.

Rubio Morillo CM. Avaliação da presença de microrganismos periodontopatogênicos em amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, submetidos a cirurgias eletivas. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: / /2019

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

A meu país Venezuela, dentro das suas dificuldades, por me motivar, fortalecer e deixar ir em busca de realizar meus sonhos.

A meus pais Eunice Morillo e José Manuel Rubio por terem me ensinado que tudo é possível, e que os sonhos podem ser cumpridos.

A meu filho Santiago Andrés Rubio Morales, por ser uma grande motivação.

A minha essência de buda, por sempre acreditar que todos somos Budas e temos o potencial intrínseco em nossa existência.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Profa. Dra. Cristina Cunha Villar, pela confiança, ensinamentos, dicas, palavras de motivação, conselhos e puxões de orelha todos necessários para meu crescimento pessoal, profissional e na realização de meu estudo.

Ao Prof. Titular Dr. Giuseppe Alexandre Romito, por ter dado a oportunidade dentro do departamento, também com a linha de pesquisa e com a bolsa da LAOHA.

À Latino American Oral Health Association (LAOHA), que possibilitou a realização da minha pós-graduação através da sua bolsa de estudos e também à vice presidente Profa. Dra. Magda Feres Figueiredo, diretores Bernal Stewart e Zilson Magalhães Malheiros.

À Profa. Dra. Márcia Mayer e Profa. Dra. Luciana Saraiva pelos conhecimentos e por compartilharem o laboratório de microbiologia oral do ICB-USP.

À Profa. Dra. Maria José Carvalho Carmona, Profa. Maria Paula Peres, Agente de saúde Heloisa Nunes Lima e funcionários do Serviço Odontológico do Hospital das Clínicas e do Hospital das Clinicas e da Disciplina de Anestesiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por terem compartilhado os espaços e nos apoiado em todo momento para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos professores do Departamento de Estomatologia, disciplina de Periodontia, Prof. Dr. João Batista César Neto, Prof. Dr. Claudio Mendes Pannuti, Profa. Dra. Marinella Houlzhausen Caldeira, Prof. Dr. Giorgio de Micheli, Prof. Dr. Luis Antonio Pugliesi Alves de Lima, Prof. Dr. Marco Antonio Paupério Georgetti, Profa. Dra. Marina Clemente Conde por seus ensinamentos, conselhos e por estarem sempre preocupados com nosso crescimento e formação como professores universitários na área de Odontologia.

Ao meus companheiros e colegas do Departamento Emanuel da Silva Rovai, Marília Cabral Cavalcanti de Moraes Guerra, Estela Sanches Rebeis, Lucas Macedo Batitucci Ambrósio, Letícia Miquelitto Gasparoni, Bruno Nunes de França, Marcelo Sirolli Ferreira, Marcella Guidicissi, Monica Yuri Orita Misawa, Bruna Di Profio Daibs, Vanessa Camillo de Almeida, Maria Luisa Silveira Souto, Laís Yumi Souza Nakao, Gloria Marcela Ramirez Lemus, Tomaz Alves da Silva Neto, Mariane Cristina Sloniak, Carlos Guillermo Benitez Silva, Rodrigo Elias Oliveira, Marcella Goetz Moro e Emmanuel Albuquerque de Souza pelos ensinamentos, convivência e amizade durante todos estes anos.

À meus amigos y colegas professores da Universidad de Talca Prof. Dr. Jaime Jacke, Prof. Miguel Angel Rojas, Prof. Alejandro Daigre e Prof. Hector Robles, pelo apoio e amizade e pela motivação de sair da minha zona de conforto.

À Alexandra Nasser por ter sido um apoio incondicional, uma amiga e companheira, peça chave na minha vida durante a pós-graduação.

Aos meus amigos Alexandre Macedo, Pedro Ivo Barreto, Denicio Gonçalves, Alex Orozco, Ticiane Oliveira, Rachel Mansho Nobayashi, Julian Osuna, Felipe Ramos, Víctor Fukushima, Celeste Cecilia Urdaniga Hung, Ivonne Vasquez, Isabel Olegário, Thais Cordeschi, Bruna Moro, Caio Cremonini, Luciana Camilo Pereira Lima, Juliana Ferreira, Lie Nobusa e Milena Eizak por terem aparecido na minha vida e nesta aventura no Brasil.

Aos professores da Fundectó FFO, Prof. Carlos Eduardo Mafra e Prof. Dacio Antonio Pantano Junior, que junto com as professoras contribuíram no meu crescimento como docente na clínica de periodontia que tanto amo.

Para as secretárias e funcionários do departamento de Estomatologia que estiveram apoiando e com muito carinho compartilhando os espaços da FOU SP.

As funcionárias da secretaria da pós-graduação pela colaboração e compreensão em todos os momentos compartilhados.

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo e a Universidade por ter me acolhido de uma forma inesquecível, deixando-me fazer parte da cidade Universitária.

“Mais valioso que o tesouro do cofre é o tesouro do corpo. Porém, nenhum é mais valioso que o tesouro do coração”.

Nichirem Daishonin

RESUMO

Rubio Morillo CM. Avaliação da presença de microrganismos periodontopatogênicos em amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, submetidos a cirurgias eletivas [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018 Versão corrigida.

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) é uma condição inflamatória infecciosa cuja etiopatogenia ainda está mal definida. Embora a principal via de infecção do trato respiratório inferior permaneça desconhecida, a colonização do trato orofaríngeo é geralmente considerada como a principal via de infecção para PAVM. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de microrganismos periodontopatogênicos em amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, submetidos a cirurgias eletivas. Adicionalmente, este estudo avaliou o impacto do estado de saúde periodontal e da descontaminação bucal com clorexidina (CHX) na quantificação destes microrganismos. Foram incluídos 43 pacientes programados para cirurgia eletiva sob anestesia geral com intubação orotraqueal. Um exame periodontal de boca toda foi realizado anteriormente a cirurgia. A periodontite foi definida como: i) dois ou mais sítios interproximais com nível clínico de inserção (NIC) ≥ 4 mm ou dois ou mais sítios interproximais com profundidade clínica de sondagem (PCS) ≥ 5 mm (Definição 1); ii) NCI ≥ 4 mm ou PCS ≥ 5 mm em pelo menos seis sítios interproximais (Definição 2); e iii) NCI ≥ 4 mm ou PCS ≥ 5 mm em pelo menos dois sítios interproximais em cada quadrante (Definição 3). No dia da cirurgia, os pacientes foram randomizados em dois grupos que fizeram um enxague intraoral com 15 ml de CHX 0,12% (teste) ou solução salina (controle) por 30 segundos. Após 3h de intubação orotraqueal, o conteúdo da região subglótica foi aspirado e armazenado a -80°C . A quantificação de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) e *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) foi feita pela reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real. As contagens de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* não diferiram entre pacientes periodontalmente saudáveis e aqueles diagnosticados com periodontite, independentemente da definição de periodontite ($p > 0,05$). De

forma análoga, nenhum dos parâmetros periodontais avaliados tiveram impacto nas contagens subglóticas de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* ($p > 0,05$). Por fim, o grupo que recebeu um enxague intraoral único pré-intubação com CHX 0,12% apresentou níveis reduzidos de *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans* em amostras do conteúdo subglótico. Em resumo, este estudo demonstrou presença de microrganismos periodontopatogênicos na região subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados. Enquanto a descontaminação intraoral em dose única com CHX foi associada com níveis reduzidos de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*, o estado de saúde periodontal não interferiu nos níveis de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia* na região subglótica.

Palavras-chave: Periodontite, Microbiologia, Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica, Clorexidina

ABSTRACT

Rubio Morillo CM Evaluation of the presence of periodontopathogenic microorganisms in subglottic samples of intubated and mechanically ventilated patients submitted to elective surgeries [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018 Versão corrigida.

Ventilator-associated pneumonia (VAP) is an infectious inflammatory condition whose etiopathogenesis is still poorly defined. Although the main route of infection to the lower respiratory tract remains unknown, colonization of the oropharyngeal tract is generally considered the main route of infection for VAP. Thus, the objective of this study was to evaluate the presence of periodontopathogenic microorganisms in subglottic samples of intubated and mechanically ventilated patients submitted to elective surgeries. Furthermore, this study evaluated the impact of periodontal health status and oral decontamination with chlorhexidine (CHX) on the quantification of these microorganisms. 43 patients scheduled for elective surgery under general anesthesia with orotracheal intubation were included. Full-mouth periodontal examination was performed prior to surgery. Periodontitis was defined as: i) two or more interproximal sites with clinical attachment level (CAL) ≥ 4 mm or two or more interproximal sites with clinical probing depth (CPD) ≥ 5 mm (Definition 1); ii) CAL ≥ 4 mm or CPD ≥ 5 mm in at least six interproximal sites (Definition 2); and iii) CAL ≥ 4 mm or CPD ≥ 5 mm in at least two interproximal sites in each quadrant (Definition 3). On the day of surgery, patients were randomized into two groups that rinsed preoperatively with 15 ml CHX 0.12% (test) or saline (control) for 30 seconds. After 3h of orotracheal intubation, the contents of the subglottic region were aspirated and stored at -80°C . Quantification of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) and *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) was done by quantitative real-time polymerase chain reaction. *P. gingivalis*, *T. forsythia*, and *A. actinomycetemcomitans* counts did not differ between periodontally healthy patients and those diagnosed with periodontitis, regardless of the definition of periodontitis ($p > 0.05$). Similarly, none of the periodontal parameters evaluated had an impact on the subglottic counts of *P. gingivalis*, *T. forsythia* and *A. actinomycetemcomitans* ($p > 0.05$). Finally, the group

receiving a single pre-intubation intraoral rinse with CHX 0.12% presented reduced levels of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* in samples of the subglottic content. In summary, this study demonstrated the presence of periodontopathogenic microorganisms in the subglottic region of intubated and mechanically ventilated patients. While a single dose intraoral decontamination with CHX was associated with reduced levels of *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis*, the periodontal health status did not affect the levels of *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* and *T. forsythia* in the subglottic region.

Keywords: Periodontitis, Microbiology, Ventilator-associated pneumonia, Chlorhexidine.

RESUMEN

Rubio Morillo CM Evaluación de la presencia de microorganismos periodontopatogénicos en muestras subglótica de pacientes intubados y mecánicamente ventilados, sometidos a cirugías electivas [tesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão corrigida.

La neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAVM) es una condición inflamatoria infecciosa, cuya etiopatogenia todavía está mal definida. A pesar de que la principal vía de infección del tracto respiratorio inferior sigue siendo desconocida, la colonización de la orofaringe es generalmente considerada como la principal vía de infección para NAVM. De esta forma, el objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de microorganismos periodontopatogénicos en muestras subglóticas de pacientes intubados y mecánicamente ventilados, sometidos a cirugías electivas. Adicionalmente, este estudio evaluó el impacto del estado de salud periodontal y de la descontaminación bucal con clorexidina (CHX) en la cuantificación de estos microorganismos. Se incluyeron 43 pacientes de cirugía electiva bajo anestesia general con intubación orotraqueal. Un examen periodontal fue realizado en toda la boca previo a la cirugía. La periodontitis fue definida como: i) dos o más sitios interproximales con nivel de inserción clínico (NIC) ≥ 4 mm o dos o más sitios interproximales con profundidad clínica al sondaje (PCS) ≥ 5 mm (Definición 1); ii) NCI ≥ 4 mm o PCS ≥ 5 mm en al menos seis sitios interproximales (Definición 2); y iii) NCI ≥ 4 mm o PCS ≥ 5 mm en al menos dos sitios interproximales en cada cuadrante (Definición 3). En el día de la cirugía, los pacientes fueron aleatorizados en dos grupos y posteriormente realizaron un enjuague intraoral con 15ml de CHX 0,12% (prueba) o solución salina (control) durante 30 segundos. Después de 3h de intubación orotraqueal, el contenido de la región subglótica fue aspirado y almacenado a -80°C . La cuantificación de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) y *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) fue realizada por reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real. Los recuentos de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* no difirieron entre pacientes periodontalmente sanos y aquellos diagnosticados con periodontitis, independientemente de la definición de

periodontitis ($p > 0,05$). De forma análoga, ninguno de los parámetros periodontales evaluados tuvo impacto en los conteos de muestras subglóticas de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* ($p > 0,05$). Por último, el grupo que recibió un enjuague intraoral único pre-intubación con CHX 0,12% presentó niveles reducidos de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* en muestras del contenido subglótico. En resumen, este estudio demostró la presencia de microorganismos periodontopatógenos en la región subglótica de pacientes intubados y ventilados mecánicamente. Mientras que la dosis única de descontaminación intraoral con CHX redujo los niveles de *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* en la región subglótica. En contraste, el estado de salud periodontal no interfirió en los niveles de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythia* en la región subglótica, sólo el índice de placa difirió entre *A. actinomycetemcomitans*.

Palabras llave: Periodontitis, Microbiología, Neumonía asociada al ventilador, Clorhexidina.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 5.1 - Dados demográficos do grupo CHX e grupo placebo.....51
- Tabela 5.2 - Media \pm desvio padrão do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo placebo.....52
- Tabela 5.3 - Media \pm desvio padrão do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo CHX.....54
- Tabela 5.4- Media \pm desvio padrão do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo placebo e CHX55
- Tabela 5.5- Media \pm desvio padrão do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo placebo subdivididos de acordo com três definições de periodontite.....56
- Tabela 5.6- Media \pm desvio padrão dos parâmetros periodontais de pacientes do grupo placebo subdivididos de acordo com a colonização das amostras subglóticas por *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis*...57
- Tabela 5.7- Media \pm desvio padrão do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo CHX subdivididos de acordo com três definições de periodontite.....58

Tabela 5.8- Media \pm desvio padrão dos parâmetros periodontais de pacientes do grupo CHX subdivididos de acordo com a colonização das amostras subglóticas por *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* 59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP	Associação Americana de Periodontia
ATS	American Thoracic Society
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CDT	Toxina distensora citoletal
BspA	Proteínas bacteroide da superfície
DEF(1-2-3)	Definição de doença periodontal utilizada para o estudo
DSS	Drenagem da secreção subglótica
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IDSA	Infectious Diseases Society of America
IL	Interleucina
ICHC	Instituto Central do Hospital das Clínicas
IHI	Institute for Healthcare and Improvement
Inc	Incorporated
IP	Índice de placa
ISO	International Standard Organization
ISS	Índice de sangramento à sondagem
JCE	Junção cimento-esmalte
MMP	Metaloproteinase de matriz
MMR	Microrganismos Multirresistentes
ml	Mililitro
mm	Milímetro
OMP29	Proteína de membrana externa
PAC	Pneumonia adquirida na comunidade
PACS	Pneumonia associada aos cuidados de saúde
PAH	Pneumonia adquirida no hospital
PAVM	Pneumonia associada à ventilação mecânica
NCI	Nível clínico de inserção
NF κB	Fator nuclear κB
NK	Natural killer
LPS	Lipopolissacarídeos

PAVM	Pneumonia associada à ventilação mecânica
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PCS	Profundidade clinica de sondagem
PRPs	Patógenos respiratórios potenciais
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real
SARM	<i>S. aureus</i> resistente à metilina
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
Th	Células T helper.
T _{reg}	Células T reguladoras
TNF	Fator de necrose tumoral
USA	United States of America
UK	United Kingdom
UTI	Unidade de terapia intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Centigrados
®	Marca registrada
µL	Microlitro
“	Segundos
±	Mais ou menos
%	Porcentagem
≥	Maior ou igual
N	Tamanho da amostra

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1	Doença Periodontal	31
2.2	Relação da Doença Periodontal com as Doenças Sistêmicas	33
2.3	Pneumonia	33
2.3.1	Definição e Classificação das Pneumonias.....	34
2.3.1.1	<i>Pneumonia Adquirida na Comunidade</i>	34
2.3.1.2	<i>Pneumonia Associada aos Cuidados de Saúde</i>	35
2.3.1.3	<i>Pneumonia Adquirida no Hospital</i>	36
2.3.1.4	<i>Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica</i>	38
2.4	Plausibilidade Biológica da Associação entre a Doença Periodontal e a Pneumonia	38
2.5	Associação da Doença Periodontal com a Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica	39
3	PROPOSIÇÃO	41
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	Material	43
4.1.1	Desenho do Estudo	43
4.1.2	Seleção da Amostra	43
4.1.2.1	<i>Critérios de Inclusão</i>	43
4.1.2.2	<i>Critérios de Exclusão</i>	44
4.1.3	Aspectos Éticos e Registro do Estudo.....	44
4.2.	Métodos	44
4.2.1	Exame Clínico Periodontal	44
4.2.2	Definição de Periodontite	45
4.2.3	Randomização	46
4.2.4	Etapa Operatória	46
4.2.4.1	<i>Anestesia e Intubação</i>	46
4.2.4.2	<i>Coleta do Conteúdo Subglótico</i>	47
4.2.5	Análise Microbiológica.....	47

4.2.6	Análise Estatística.....	49
5	RESULTADOS	51
5.1	Presença de Periodontopatógenos nas Amostras Subglóticas de Pacientes Intubados e Mecanicamente Ventilados	51
5.2	Efeito da Descontaminação Intraoral Única com Clorexidina nos Níveis de Periodontopatógenos nas Amostras Subglóticas de Pacientes Intubados e Mecanicamente Ventilados	53
5.3	Associação entre o Estado de Saúde Periodontal e os Níveis de Periodontopatógenos nas Amostras Subglóticas de Pacientes Intubados e Mecanicamente Ventilados.	55
6	DISCUSSÃO	61
7	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	69
	ANEXOS	83

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença infecto-inflamatória considerada de etiologia multifatorial, dada a ampla variedade de fatores que podem determinar seu início e progressão. Embora mais de 700 espécies bacterianas foram encontrados na cavidade oral, estima-se que somente um pequeno grupo destas apresenta um potencial patogênico (1). Apesar das dificuldades para caracterização da microbiologia das doenças periodontais, um grupo pequeno de patógenos é reconhecido por sua estreita associação com a periodontite (2), são estes: *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) e *Treponema denticola* (*T. denticola*) (3).

O estudo da inter-relação entre a periodontite e outras doenças ou alterações sistêmicas é relativamente incipiente. Embora a natureza desta inter-relação não tenha sido completamente elucidada, evidências sugerem que tanto os microrganismos periodontopatogênicos encontrados na cavidade oral de pacientes com periodontite, bem como seus respectivos fatores de virulência, e as proteínas inflamatórias produzidas pelo hospedeiro em resposta à infecção podem ganhar acesso à corrente sanguínea e causar patologias em outros órgãos ou sistemas (4). Em linha com essa teoria, estudos epidemiológicos demonstraram associações entre a periodontite e outras doenças ou alterações sistêmicas, tais como: doenças cardiovasculares (5-7), doenças respiratórias (8, 9), parto prematuro e baixo peso ao nascer (10), câncer pancreático (11), síndrome metabólica (12), doença renal crônica (13), artrite reumatóide (14) e doenças neurológicas degenerativas, tais como Alzheimer e demência (15).

A pneumonia é uma doença respiratória causada por bactérias, micoplasma, vírus, fungos e parasitas. As pneumonias podem ser classificadas como pneumonias adquirida na comunidade (PAC), pneumonia associada aos cuidados de saúde (PACS), pneumonia adquirida no hospital (PAH) e pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) (16), que diferem principalmente quanto ao risco de infecção por microrganismos multirresistentes (MMR) (17).

PAVM representa cerca de 10-25% dos casos de infecções nas unidades de terapia intensiva (UTI), sendo a infecção mais comum no ambiente hospitalar. Esta condição está associada a uma taxa de mortalidade entre 25% e 50% (17, 18) e promove um aumento significativo nos custos e no tempo de permanência nas UTIs (19, 20). O desenvolvimento da PAVM está relacionado à colonização microbiológica do trato respiratório inferior que normalmente é estéril. O acesso de microrganismos ao trato respiratório inferior ocorre pela translocação de bactérias encontradas na traqueia, orofaringe, estômago, intestino grosso ou delgado (21). Embora a principal via de infecção que conduz a contaminação do trato respiratório inferior permaneça desconhecida, a colonização do trato orofaríngeo é geralmente considerada como a principal via de infecção para a PAVM (22). Em suporte a esta hipótese, alguns estudos demonstraram uma associação positiva entre a quantidade de placa bacteriana oral e o desenvolvimento da PAVM (23-25). Estudos clássicos demonstraram que a cavidade oral de pacientes hospitalizados torna-se colonizada por patógenos respiratórios potenciais, entre eles *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter cloacae* (26, 27) e que estes organismos poderiam levar ao desenvolvimento da PAVM.

Diversas bactérias periodontopatogênicas foram identificadas no trato respiratório inferior de pacientes diagnosticados com PAC (28, 29), PAH (28, 30) e PACS (31), sugerindo um possível papel etiológico dos patógenos periodontais na etiopatogenia da pneumonia. Entretanto, o papel das bactérias periodontopatogênicas associadas à periodontite na etiopatogenia da PAVM permanece desconhecido.

Por fim, embora o Centro para Controle e Prevenção de Doenças (Center for Disease Control and Prevention, CDC), o Instituto para Melhoramento da Saúde (Institute for Healthcare and Improvement, IHI) e algumas revisões sistemáticas recomendem o uso da clorexidina (CHX) na prevenção de PAVM (32-34), o efeito da descontaminação intra-oral com CHX na passagem de bactérias periodontopatogênicas para a região subglótica ainda permanece desconhecido.

Assim, o objetivo principal deste estudo foi avaliar a presença de microrganismos periodontopatogênicos em amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, submetidos a cirurgias eletivas. Adicionalmente, este estudo avaliou o impacto do estado de saúde periodontal e da descontaminação bucal com clorexidina (CHX) na quantificação de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença Periodontal

A periodontite é uma doença crônica infecto-inflamatória que acomete os tecidos de proteção (gengiva) e sustentação (cimento, ligamento periodontal e osso) dos dentes. Esta doença caracteriza-se pela inflamação, perda progressiva de inserção do ligamento periodontal e destruição do tecido ósseo em indivíduos susceptíveis e sua evolução pode levar à perda dentária (35). Por vezes, a progressão da periodontite resulta em redução da qualidade de vida do paciente, devido ao seu impacto negativo na função mastigatória, conforto e estética (36).

A etiologia da periodontite é multifatorial, sendo que o biofilme bacteriano desempenha uma função essencial na etiopatogênese desta condição. Apesar de mais de 700 espécies bacterianas existirem no biofilme oral (1), apenas uma pequena fração destes microrganismos desempenha um papel relevante na patogenia da periodontite (37). Enquanto na saúde periodontal, o biofilme subgengival é constituído essencialmente por bactérias Gram-positivas facultativas anaeróbias (38). A transição da saúde periodontal para a periodontite é acompanhada por alterações drásticas na composição do biofilme subgengival (39). Em sua maior parte, as espécies associadas à periodontite são anaeróbios ou anaeróbios facultativos, Gram-negativos (38-40).

Análises quantitativas e qualitativas da composição da placa bacteriana subgengival em estados de saúde periodontal, gengivite e periodontite identificaram os principais microrganismos associados à periodontite como: *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) e *A. actinomycetemcomitans* (2, 41). Socransky e colaboradores caracterizaram a comunidade microbiana subgengival em complexos de cores vermelha, laranja, verde, roxa e amarela, com base na análise de clusters e associação com a severidade da doença (Socransky *et al.*, 1998) (2). A prevalência elevada de bactérias pertencentes ao complexo vermelho, constituído de *P. gingivalis*, *T.*

forsythia e *T. denticola*, correlaciona-se com as formas mais severas da periodontite (38). Dentre os microrganismos moderadamente relacionados com a periodontite destacam-se ainda *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) *Campylobacter rectus* (*C. rectus*) e *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*) (38, 42, 43).

A diversidade e a virulência dos microrganismos periodontopatogênicos constituí um desafio ao sistema imunológico do hospedeiro, que visa eliminar patógenos por meio da ativação de respostas inatas e adaptativa (44). Embora se admita que a periodontite tenha etiologia bacteriana, o desenvolvimento desta doença é fortemente determinado pela magnitude e qualidade da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro (45). De forma que, a maior parte da destruição tecidual associada à progressão da periodontite ocorre através da resposta inflamatória que promove a ativação de mecanismos que desencadeiam a reabsorção da crista óssea alveolar e a degradação da matriz extracelular colágena.

A resposta imune é regulada em grande parte por citocinas (46) que desempenham um papel importante em inúmeras atividades biológicas incluindo, proliferação, diferenciação, ativação celular e inflamação. As citocinas inflamatórias produzidas pelas células residentes do periodonto e pelas células da imunidade inata em resposta aos antígenos e produtos bacterianos, afetam a ativação de macrófagos e células natural killer (NK) e a diferenciação de células T helper em fenótipos Th₁, Th₂, Th₁₇ e T_{reg} (47, 48). Contudo, estas citocinas também coordenam a formação e o aumento da atividade dos osteoclastos (49, 50). Neste sentido, inúmeros estudos demonstraram níveis elevados de interleucina (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral (TNF)- α no fluido gengivo-crevicular de sítios com periodontite (51).

Constata-se assim, que a susceptibilidade à periodontite deve-se à incapacidade do sistema imune em desenvolver uma resposta específica limitada aos antígenos bacterianos.

2.2 Relação da Doença Periodontal com Doenças Sistêmicas

A teoria de infecção focal propõe que tanto microrganismos, bem como seus fatores de virulência e as proteínas inflamatórias produzidas pelo hospedeiro em resposta à infecção podem ganhar acesso à circulação sistêmica e causar patologias em outros órgãos ou sistemas (52).

Em linha com essa teoria, estudos epidemiológicos demonstraram associações entre a periodontite e outras doenças ou alterações sistêmicas, tais como: doenças cardiovasculares (5-7), doenças respiratórias (8, 9), parto prematuro e baixo peso ao nascer (10), câncer pancreático (11), síndrome metabólica (12), doença renal crônica (13), artrite reumatoide (14) e doenças neurológicas degenerativas, como Alzheimer e demência (15). Além disso, vários periodontopatógenos foram identificados em órgãos e tecidos extra-orais que são normalmente estéreis, tais como: placenta (53), líquido amniótico (54), placa de ateroma (55) e trato respiratório inferior (28). Especificamente em relação às doenças respiratórias, *P. gingivalis*, *E. corrodens*, *F. nucleatum* e *A. actinomycetemcomitans* foram identificados no infiltrado pulmonar de pacientes com pneumonia (29, 56-58).

2.3 Pneumonia

A pneumonia é uma doença inflamatória geralmente aguda que afeta os brônquios e as vias aéreas distais incluindo bronquíolos respiratórios e alvéolos e que se caracteriza pela substituição do ar alveolar por líquido prejudicial (transudato, exsudato ou tecido conjuntivo). Apesar das pneumonias infecciosas poderem ser causadas por bactérias, vírus, fungos ou parasitas, as bactérias são o agente etiológico mais frequentemente detectado nas pneumonias em adultos. Em crianças, estima-se que vírus sejam os principais responsáveis pelo desenvolvimento de pneumonias (59).

2.3.1 Definição e Classificação das Pneumonias

As pneumonias podem ser classificadas de acordo com a morfologia, agente etiológico, manifestação clínica e o modo ou local de aquisição. Quanto ao local de aquisição, as pneumonias podem ser classificadas em quatro principais grupos: Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC), Pneumonia Associada aos Cuidados de Saúde (PACS), Pneumonia Hospitalar não Associada à Ventilação Mecânica (PAH) e Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAVM), que diferem principalmente quanto ao risco de infecção por MMR (17).

2.3.1.1 *Pneumonia Adquirida na Comunidade*

A pneumonia adquirida na comunidade (PAC) é definida como a pneumonia que acomete o indivíduo fora do ambiente hospitalar ou de instituição de cuidado de saúde, ou ainda, que surge nas primeiras 48 horas da admissão (60). De acordo com a Disease Society of America/American Thoracic Society (IDSA/ATS), 915.900 episódios de PAC ocorrem anualmente nos Estados Unidos, em adultos acima de 65 anos de idade. Estima-se ainda, que a incidência anual da PAC seja de 12 casos por cada 1000 adultos, sendo maior nos extremos das idades, e representando a sexta causa de morte na América Norte (61).

Poucos estudos relatam a incidência da PAC na população brasileira. Segundo dados do sistema de informações hospitalares do Sistema Único de Saúde (SUS), no período de janeiro a novembro de 2012 ocorreram 681.828 de PAC, representando uma taxa de 35,15 casos por cada 10.000 habitantes e constituindo a principal causa de internação no país.

Os agentes etiológicos frequentemente responsáveis pela PAC são: *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*), *Moraxella catarrhalis* (*M.*

catarrhalis), *Chlamydophila pneumoniae* (*C. pneumoniae*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) e alguns bacilos Gram-negativos (61-63).

2.3.1.2 *Pneumonia Associada aos Cuidados de Saúde*

A pneumonia associada aos cuidados de saúde (PACS) é descrita como uma pneumonia que difere da PAC e que, em muitos aspectos, se assemelha à pneumonia adquirida no hospital (PAH), porém com menor risco de associação com MMR (60, 64).

A PACS é definida como uma pneumonia que ocorre em qualquer indivíduo que resida em instituição de cuidados prolongados, que tenha sido tratado em sistema de internação domiciliar, internado por mais de 2 dias em caráter de urgência nos 90 dias precedentes, ou submetido a cuidados invasivos como quimioterapia, terapêutica endovenosa, tratamento de feridas ou hemodiálise nos 30 dias precedentes (65). Embora a prevalência PACS permaneça desconhecida, estima-se que o número de casos diagnosticados como PACS esteja crescendo (Zilberberg 2009). A taxa de mortalidade associada à PACS varia entre 19,8 e 60% (64, 66).

Embora geralmente incomum na PAC, o *S. aureus* tem sido implicado como o principal patógeno na PACS, sendo identificado em cerca de 50% dos casos (64, 67). Entre os demais patógenos comumente isolados em casos de PACS, destacam-se: *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*), *P. aeruginosa*, *Staphylococcus coagulase-negativa* e MMR (64, 67).

2.3.1.3 *Pneumonia Adquirida no Hospital*

A pneumonia adquirida no hospital (PAH), também chamada de nosocomial, define-se como aquela que ocorre após 48 horas da admissão hospitalar, portanto, não estando presente no momento da admissão e não se relacionando à intubação orotraqueal ou à ventilação mecânica (65).

A PAH é a segunda causa mais frequente de infecção hospitalar, correspondendo de 13% a 18% de todas as infecções hospitalares e 31% das infecções em UTIs (68). A PAH afeta de 0,5% a 2% dos pacientes hospitalizados (69), ocasionando um aumento da permanência hospitalar entre 7 a 9 dias e elevando os custos hospitalares em mais de US\$ 40.000 dólares americanos por paciente (69). PAH é geralmente causada por bactérias, mas em alguns casos pode ser causada por fungos ou até por vírus (69). Em 30% a 50% dos pacientes com PAH bacteriana, a etiologia é polimicrobiana. Os patógenos mais prevalentes variam entre instituições e unidades do mesmo serviço. Entre os patógenos mais frequentemente associados a PAH, observa-se *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*, especificamente o *S. aureus* resistente à meticilina (SARM) e enterobactérias Gram-negativas sensíveis (*E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*)) (70).

2.3.1.4 *Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica*

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) é aquela que se desenvolve 48-72h após a intubação orotraqueal e instauração da ventilação mecânica, podendo ainda ser diagnosticada nas primeiras 48h após a extubação (65). Esta condição é ainda classificada como de início precoce ou tardio. A PAVM de início precoce ocorre nos primeiros 4 dias da ventilação mecânica (<96 h), enquanto que a PAVM de início tardio se desenvolve após 4 dias ou mais (> 96 h), sendo esta última mais frequentemente associada aos patógenos MMR (71). Seu

diagnóstico é estabelecido com base em achados clínicos, laboratoriais, radiológicos e microbiológicos (72).

Nos Estados Unidos, a PAVM ocorre de 9% a 27% dos pacientes intubados e mecanicamente ventilados, sendo a segunda infecção de maior incidência e representando 15% de todas as infecções nas UTIs (69). Sua incidência aumenta com a duração da ventilação mecânica, variando de 1.2 a 8.5 episódios por cada 1,000 dias de ventilação mecânica (71). No Brasil não existem dados epidemiológicos suficientes para serem chamados de nacionais. Porém, a partir de 2017, tornou-se obrigatória a notificação de PAVM ocorridas nas UTIs brasileiras (73). Estudos conduzidos em UTIs brasileiras demonstraram que a incidência da PAVM varia de 14,4% a 38,1% (74), com uma média de 9,87 casos por 1.000 dias de uso de ventilador em UTIs, sendo a taxa, 13,40 casos por 1.000 de uso de ventilador em UTIs de hospitais de ensino e 6,56 casos de PAVM por 1.000 de uso de ventilador em UTIs de hospitais privados (75).

Além de sua alta prevalência, a PAVM está associada a um aumento médio no período de internação hospitalar entre 11.5 e 13.1 dias, a permanência prolongada da ventilação mecânica, ao surgimento de patógenos MMR e a administração prolongada de antibióticos, o que repercute de sobremaneira nos custos hospitalares. (76). Neste sentido, estima-se que um diagnóstico de PAVM gere uma despesa hospitalar adicional de US\$ 41.000 dólares americanos (77). No entanto, a despeito dos progressos no diagnóstico precoce da PAVM e desenvolvimento de protocolos de tratamento, as taxas de mortalidade relacionadas a PAVM ainda variam de 13% a 50% (22).

A microbiologia da PAVM varia de acordo com exposição prévia à terapia antibiótica, padrões de resistência antimicrobiana da instituição e duração da ventilação mecânica (78). A PAVM é uma infecção polimicrobiana, que pode ser causada por um grande espectro de bactérias, e mas raramente por vírus ou fungos (78). Os patógenos causadores de PAVM variam dependendo do tempo de desenvolvimento da PAVM. Na PAVM de início precoce, as bactérias sensíveis a antibióticos, como *S. aureus*, *S. pneumoniae* e *H. influenzae*, são os principais patógenos causadores. Em contraste, os patógenos mais comumente encontrados

na PAVM de início tardio são bactérias multirresistentes Gram-negativas, como *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e espécies de *Acinetobacter* e *Enterobacter*. (69, 79). Entre 40% e 82% dos pacientes diagnosticados com PAVM tem ao menos um MMR (74, 80, 81).

Frente a alta incidência, alta taxa de morbidade e mortalidade relacionadas a PAVM, inúmeras medidas de prevenção foram desenvolvidas e implantadas em UTIs (71). Dentro destas, quatro medidas são fundamentais para a prevenção da PAVM e da mortalidade relacionadas à ventilação mecânica: i) manter os pacientes com a cabeceira elevada entre 30 e 45°; ii) adequar diariamente o nível de sedação e teste de respiração espontânea; iii) aspirar a secreção subglótica rotineiramente; e iv) promover a descontaminação oral com CHX (71). A descontaminação oral com CHX demonstrou um benefício particular na prevenção de PAVM no pós-operatório de pacientes submetidos a cirurgias cardíacas (82, 83). Uma revisão sistemática e meta análise com pacientes cirúrgicos cardíacos reportou que a descontaminação oral com CHX promoveu uma redução da incidência da PAVM, sem contudo, alterar a duração da ventilação mecânica, tempo de permanência na UTI e taxa de mortalidade (84). Da mesma forma, várias revisões sistemáticas e meta-análises demonstram o efeito da descontaminação oral com CHX na prevenção da PAVM, em pacientes intubados e mecanicamente ventilados (84-87).

2.4 Plausibilidade Biológica da Associação Entre Doença Periodontal e a Pneumonia

A literatura sugere que a doença periodontal pode promover o desenvolvimento da pneumonia mediante três possíveis mecanismos (56). O primeiro mecanismo seria através da aspiração, ou translocação de microrganismos a partir do trato gastrointestinal ou da cavidade oral, para a porção inferior do trato respiratório (88). Neste sentido, tanto patógenos orais, como patógenos respiratórios presentes no biofilme oral podem ganhar acesso às vias respiratórias inferiores (89, 90).

O segundo mecanismo caracteriza-se pela colonização da cavidade oral por bactérias proteolíticas e liberação de citocinas e enzimas hidrolíticas pelos tecidos inflamados em função da doença periodontal, as quais modificam a mucosa respiratória, promovendo dano epitelial e a degradação da fibronectina que recobre a superfície da mucosa oral. Tais alterações facilitam a adesão e subsequente colonização da cavidade oral por patógenos respiratórios (91).

O terceiro mecanismo é mediado pela ação de enzimas proteolíticas produzidas por periodontopatógenos as quais clivam mucinas salivares, um componente crítico do sistema de defesa inato contra organismos patogênicos (92-95).

2.5 Associação da Doença Periodontal com a PAVM

É bem sabido que a quantidade de biofilme oral e periodontopatógenos aumenta com o tempo de internação em UTIs, incrementando o risco do desenvolvimento de PAVM (23, 25). O biofilme oral atua como um importante reservatório de patógenos respiratórios (96). Desta forma, não é surpreendente que estudos tenham demonstrado que o índice de placa tem uma associação positiva com o risco de desenvolvimento de PAVM (23-25, 97), e que a descontaminação oral com CHX reduz o risco à PAVM (34, 85-87, 98).

Diversas bactérias periodontopatogênicas foram identificadas no trato respiratório inferior de pacientes diagnosticados com PAC (28, 29), PAH (28, 30) e PACS (31), sugerindo um possível papel etiológico dos patógenos periodontais na etiopatogenia das pneumonias. Evidências mais recentes, entretanto, apontam para um possível papel de periodontopatógenos na etiologia da PAVM. Neste sentido, aumento dos níveis de *Enterococcus faecalis*, *Gemella morbillorum*, *Neisseria mucosa*, *Propionibacterium acnes*, *Prevotella melaninogenica*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Treponema socranskii*, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium periodonticum* (*F. periodonticum*) e *T. denticola* foram detectados no trato respiratório de pacientes diagnosticados com PAVM (99). Esses achados sugerem um possível papel das bactérias periodontopatogênicas associadas à periodontite na etiopatogenia da PAVM.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a presença de bactérias periodontopatogênicas derivadas da cavidade oral na região subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados por 3 horas.

Como objetivos secundários foram avaliados:

- O efeito da descontaminação intraoral pré-operatória única com digluconato de clorexidina (CHX) 0.12% nos níveis de bactérias periodontopatogênicas na região subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados por 3 horas;
- A associação entre o estado de saúde periodontal e os níveis de bactérias periodontopatogênicas na região subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados por 3 horas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Desenho do Estudo

Este estudo foi um ensaio clínico randomizado placebo-controlado e cego.

4.1.2 Seleção da Amostra

A amostra do estudo foi definida por conveniência. Os pacientes foram selecionados no centro cirúrgico do Instituto Central do Hospital das Clínicas (ICHC) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

4.1.2.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos pacientes que aceitaram participar da pesquisa após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e que atendiam aos seguintes critérios de inclusão:

- Pacientes de ambos os sexos, com idade maior de 18 anos;
- Candidatos a procedimentos cirúrgicos sob anestesia geral, com previsão de tempo de intubação orotraqueal e ventilação mecânica superior a três horas;
- Ter ao menos 10 dentes, excluindo terceiros molares.

4.1.2.2 Critérios de Exclusão

- Participação em outros projetos de pesquisa;
- Mulheres em período gestacional ou lactantes;
- Diagnóstico de pneumonia (PAC, PACS ou PAH) na admissão hospitalar;
- Histórico de alergia à CHX;
- Antibioticoterapia prévia nos últimos 3 meses;
- Pacientes em uso crônico de corticoides ou imunossupressores.

4.1.3 Aspectos Éticos e Registro do Estudo

Os pacientes recrutados foram orientados sobre a proposição e os objetivos da participação no estudo e assinaram o TCLE aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa local (ANEXO A).

4.2 Métodos

4.2.1. Exame Clínico Periodontal

No dia anterior ao procedimento cirúrgico, os pacientes foram avaliados em relação à saúde periodontal. O exame periodontal foi realizado por um examinador previamente treinado, utilizando a sonda periodontal da Universidade da Carolina do Norte (Hu-Friedy UNC-15). Os parâmetros clínicos periodontais (índice de placa, índice de sangramento à sondagem, profundidade clínica de sondagem e nível clínico de inserção) foram avaliados em todos os dentes presentes, com exceção dos terceiros molares. Cada dente foi examinado em seis sítios específicos: disto-

vestibular, vestibular, mésovestibular, distolingual/palatino, lingual/palatino e mésiolingual/palatino.

a) Índice de Placa (IP)

Padrão binominal (contagem dicotômica) da presença ou ausência de placa bacteriana na margem gengival detectada com o auxílio de uma sonda periodontal (100).

b) Índice de Sangramento à Sondagem (ISS)

Padrão binominal (contagem dicotômica) da presença ou ausência de sangramento após a sondagem leve até a base do sulco gengival ou da bolsa periodontal, visível em 15 segundos após a sondagem (100).

c) Profundidade Clínica de Sondagem (PCS)

A profundidade clínica de sondagem foi medida como a distância em milímetros (mm) da margem gengival ao fundo do sulco ou bolsa periodontal.

d) Nível Clínico de Inserção (NCI)

O nível clínico de inserção foi medido como a distância em milímetros (mm) da junção cimento-esmalte (JCE) ao fundo do sulco ou bolsa periodontal.

4.2.2 Definição de periodontite.

A periodontite foi diagnosticada de acordo com três definições: a primeira definição (DEF1), descrita pelo Centro para o Controle e Prevenção de Doenças (CDC) em colaboração com a Associação Americana de Periodontia (AAP), foi caracterizada pela presença de dois ou mais sítios interproximais com NCI ≥ 4 mm (em dentes diferentes) ou PCS ≥ 5 mm (em dentes diferentes). A segunda definição de periodontite (DEF2) foi definida como NCI ≥ 4 mm ou PCS ≥ 5 mm em ao menos 6 sítios interproximais. A terceira definição de periodontite (DEF3) foi PD definida como NCI ≥ 4 mm ou PCS ≥ 5 mm ao menos 2 sítios interproximais de cada quadrante. Ambas DEF2 e DEF3 são definições arbitrárias que apresentam um valor

limiar de um crescente contínuo da destruição periodontal, quando comparada com a definição da CDC/AAP (DEF1) (101).

4.2.3 Randomização

No dia da cirurgia, antes de entrar no centro cirúrgico, os pacientes foram randomizados em dois grupos. A alocação dos indivíduos em cada grupo foi feita com o auxílio de uma lista de randomização gerada pelo website www.randomization.com. Para se garantir o sigilo da alocação, a sequência foi gerada em blocos de diferentes tamanhos. O responsável pela alocação foi um pesquisador externo e diferente daquele que incluiu e distribuiu a solução para bochecho.

- Grupo Teste: bochecho de CHX 0,12% (PerioGard®, Colgate Palmolive, Nova Jersey, EUA).
- Grupo Controle/Placebo: bochecho com soro fisiológico 0,9%.

Trinta minutos antes da entrada do paciente no centro cirúrgico, o paciente foi instruído a realizar um bochecho com 20 ml de enxaguatório por 30 segundos.

4.2.4 Etapa operatória

4.2.4.1 Anestesia e Intubação

Após admissão ao centro cirúrgico, os pacientes foram monitorados com oximetria de pulso, eletrocardiografia contínua, pressão arterial não invasiva e índice biespectral, seguido de punção venosa periférica com cateter de calibre 18G.

Pacientes de alto risco cirúrgico ou candidatos a cirurgias de grande porte foram submetidos a tipos adicionais de monitorização, a critério do anestesiológico.

A indução e manutenção da anestesia geral foram realizadas a critério do médico anesthesiologista. Com o objetivo de permitir a aspiração subglótica, foi utilizada uma cânula orotraqueal Hi-Lo Evac® (Shiley Evac, Mallinckrodt, Covidien). A ventilação foi controlada mecanicamente para manter a pressão de dióxido de carbono próximo a 35mmHg, utilizando-se FiO₂ de 60%. Solução de Ringer simples foi administrada durante a cirurgia para reposição volêmica.

4.2.4.2. Coleta do Conteúdo Subglótico

Após 3 horas de intubação orotraqueal, as secreções subglóticas foram aspiradas e 1 ml de solução salina a 0,9% foi instilado pelo canal de trabalho da cânula orotraqueal Hi-Lo Evac®. Após 1 minuto, todo o conteúdo da região subglótica foi aspirado e armazenado em um microtubo (Eppendorf® mfr-022363204 Safe-Lock microcentrifuge tubes) a -80°C.

Ao término do procedimento anestésico-cirúrgico os pacientes foram encaminhados à unidade de terapia intensiva ou à Unidade de Recuperação Pós-anestésica e posteriormente ao leito de origem.

4.2.5. Análise Microbiológica

O DNA das amostras coletadas foram extraídos usando um kit Qiamp DNA Mini kit® (Qiagen, Hilden), de acordo com instruções do fabricante. Em resumo, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 7500 RPM. Na sequência, o sobrenadante foi aspirado e o pellet resuspendido em 180 µl da solução tampão ATL e 20 µL da solução de Proteinase K. Então, os tubos eppendorf® foram agitados em vortex por 1 minuto e mantidos em banho Maria a 59°C por 30 min. Posteriormente, os tubos foram acrescidos de 200 µl da solução tampão ATL, agitados novamente por 15 segundos. e incubados a 70° C por 10 minutos.

A fim de remover impurezas e constituintes lipídicos, foram adicionados 20 µL de etanol puro. A seguir, foi realizada a filtração dos conteúdos do tubo, empregando-se colunas com filtros de sílica (Qiamp mini spin column). As colunas foram submetidas à centrifugação a 8000 rpm por 1 minuto. Posteriormente, o filtrado foi descartado e o mini spin foi transferido para um tubo de 2 ml. A fim de liberar o DNA microbiano aderido ao filtro de sílica, fez-se uma lavagem com 500 µl do buffer AW1, seguida de nova centrifugação (8000 rpm/1min). Após o descarte do filtrado, o mini spin foi transferido para outro tubo de 2 ml, lavado com 500 µl do buffer AW2 e centrifugado a 14000 RPM por 3 minutos. Então, o micro spin foi transferido para um eppendorf de 1,5 mL, com tampa. A eluição do DNA foi obtida por intermédio da adição de 55 µL do tampão AE. Após 1 minuto de incubação, o DNA foi obtido pela centrifugação final a 8000 RPM por 1 minuto. O DNA foi mantido a - 20°C até sua análise.

A concentração e a pureza do DNA foram avaliadas usando um espectrômetro (absorbância a 260 nm) (ND-100 Spectrophotometer®, Nanodrop Technologies).

A quantificação de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* foi feita com o auxílio da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase quantitativo em tempo real (qPCR), usando primers específicos (102-104):

- *T. forsythia* 2F: GGG TGA GTA ACG CGT ATG TAA CCT;
- *T. forsythia* 2R: ACC CATCCG CAA CCA ATA AA;
- *P. gingivalis* 2F: TGT AGA TGA ACT GAT GGT GAA AAC C;
- *P. gingivalis* 2R: ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC;
- *A. actinomycetemcomitans* F: ATT GGG GTT TAG CCC TGG T;
- *A. actinomycetemcomitans* R: GGC ACA AAC CCA TCT CTG A;

A carga bacteriana total foi determinada com primers universais de 16SrRNA (102). A curva padrão foi feita usando genes 16SrRNA de cada espécie clonados no PCR 2.1 TOPO TA® vector (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) diluído 10^7 para 10^1 cópias. O grau de eficiência da amplificação de 90% até 110%. O qPCR foi feito usando o StepOnePlus® (Applied Biosystems®, Foster City, CA USA) com Sybr Green power PCR Master Mix® (Applied Biosystems, Birchwood Point, Warrington, UK) e 2 µl do DNA padrão. As amostras do DNA e a diluição padrão foram corridos em triplicata.

O perfil da amplificação foi:

- *A. actinomycetemcomitans*: 95°C/15", 65°C/1', 81°C/10", 40 ciclos;
- *P. gingivalis* : 95°C/15", 60°C/1', 81°C/10", 40 ciclos;
- *T. forsythia*: 95°C/15", 60°C/1', 74°C/10", 40 ciclos.

Os níveis de cada espécie foram expressadas em números de cópias de genes 16S rRNA.

4.2.6 Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando STAT PLUS versão LE de AnalystSoft Inc. 340 S e Prism 6 de GraphPad Software. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, com correção de Lilliefors. Dados com distribuição paramétrica foram avaliados pelo teste *t* de Student e os dados com distribuição não paramétrica, pelo teste de Mann-Whitney.

5 RESULTADOS

Foram incluídos e randomizados 69 pacientes (39 mulheres e 30 homens). Destes, 26 pacientes não concluíram a participação no estudo: 19 pacientes foram excluídos devido à quebra do protocolo (oito (8) pacientes foram intubados com sondas tradicionais que não permitiram a aspiração do conteúdo subglótico, cinco (5) intubados por menos de três horas e em seis (6) pacientes não foi possível aspirar a amostra) e sete (7) pacientes tiveram suas cirurgias canceladas. Dessa forma, apenas 43 dos 69 pacientes completaram a participação no estudo. Destes, 19 foram alocados no grupo CHX (11 mulheres e 8 homens, com idade média de 51.3 ± 16.8) e 24 no grupo placebo (13 mulheres e 11 homens, com idade média de 48.0 ± 12.9) (Tabela 5.1)

Tabela 5.1 - Dados demográficos do grupo CHX e placebo

	n	Idade (anos)	Gênero	
			Feminino n (%)	Masculino n (%)
Placebo	24	51.3 ± 16.8	13 (54%)	11 (46%)
CHX	19	48.0 ± 12.9	11 (58%)	8 (42%)

5.1 Presença de periodontopatógenos nas amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados no grupo placebo.

24 indivíduos do grupo placebo forneceram amostras do aspirado subglótico para quantificação microbiana. O patógeno mais comumente detectado foi *T. forsythia*, ocorrendo em 100% das amostras, seguido de *A. actinomycetemcomitans* (92%) e *P. gingivalis* (58%) (Tabela 5.2).

Tabela 5.2- Media do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de sujeitos do grupo placebo.

Sujeito #	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
1	1.73	29.33	1.31
2	32.94	2400.42	104.37
3	0.00	25.31	0.00
7	0.00	20.79	9.79
10	0.00	276.87	127.07
11	0.43	10.18	0.00
13	0.18	62.14	1203.41
14	29.90	438.19	4212.09
17	1.70	27.66	651.91
19	5.38	106.46	952.36
22	0.15	16.21	666.13
23	1.63	139.19	236.54
24	0.00	14.35	1658.14
27	0.00	245.54	20.54
28	0.00	31.73	8.69
31	0.00	73.17	12.23
32	0.00	111.89	6.98
35	1.11	55.82	2.78
37	0.00	18.40	1734.78
39	1.36	210.79	2820.74
41	3.30	110.40	486.69
43	4.75	90.34	91.30
45	0.42	303.58	1326.60
46	0.00	24.58	215.25
Media ± DP	3,54 ± 8,73	201,81 ± 481,45	689,57 ± 1050,96

5.2 Presença de periodontopatógenos nas amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados no grupo CHX.

19 indivíduos do grupo CHX forneceram uma amostra do aspirado subglótico para quantificação microbiana. O patógeno mais comumente detectado foi *T. forsythia*, ocorrendo em 95% das amostras, seguido de *A. actinomycetemcomitans* (79%) e *P. gingivalis* (53%) (Tabela 5.3).

Tabela 5.3- Media do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de sujeitos do grupo CHX.

Sujeito #	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>A. actinomycetemcomitan</i>
4	6.26	66.80	3.50
5	0.77	351.29	2.41
6	0.00	15.34	0.00
8	0.00	0.00	0.60
9	0.00	67.88	6.36
12	2.15	42.26	28.78
15	1.06	12.78	665.70
16	0.12	95.20	790.25
18	1.04	321.11	986.12
20	0.00	71.17	284.38
21	0.00	42.06	0.00
25	0.00	33.43	0.00
26	0.79	17.00	10.20
29	0.00	83.61	34.55
30	10.06	925.18	29.31
34	0.99	389,72	0.00
36	0.00	508.63	1.87
44	0.00	66.20	296.01
47	2.29	106.46	1119.59
Media ± DP	2.41 ± 5.19	176.38± 229.83	393,12 ± 703.92

O grupo CHX 0,12% apresentou níveis reduzidos de *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans* (p valor = 0,002 e p valor = 0,008, respectivamente) nas amostras do conteúdo subglótico, já os níveis de *T. forsythia* não diferiram entre os grupos (Tabela 5.4).

Tabela 5.4- Comparação de medidas do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo placebo e CHX

	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i> ¹	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
Placebo (n=24)	3,54 ± 8,73	201,81 ± 481,45	689,57 ± 1050,96
CHX (n=19)	2.41 ± 5.19	176.38± 229.83	393,12 ± 703.92
P valor	0,002	0,827	^t 0,008

A normalidade foi avaliada pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov, ^tTeste *t* de Student foi usado para dados com distribuição paramétrica e Teste de Mann-Whitney para distribuição não paramétrica.

5.3 Associação entre o estado de saúde periodontal e os níveis de periodontopatógenos nas amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados

As contagens de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* não diferiram entre pacientes periodontalmente saudáveis e aqueles diagnosticados com periodontite, independentemente da definição de caso usada, tanto no grupo placebo (Tabela 5.5), como no grupo CHX (Tabela 5.6). De forma análoga, no grupo placebo, os parâmetros periodontais avaliados não tiveram impacto na presença de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* nas amostras subglóticas. (Tabela 5.7).

No grupo CHX, a maioria dos parâmetros periodontais avaliados, como PCS, NCI, ISS e número de dentes ausentes, não tiveram um impacto na presença de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* nas amostras subglóticas. Entretanto, um índice de placa mais elevado foi detectado em sujeitos com a presença de *A. actinomycetemcomitans* nas amostras subglóticas (p valor < 0,05) (Tabela 5.8).

Tabela 5.5- Diferenças entre medias do número de copias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo placebo subdivididos de acordo com três definições de periodontite.

	+/-	n	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
DEF 1	+	17	4,62 ± 10,23	240,41 ± 569,79	633,43 ± 1.069,52
	-	7	0,91 ± 1,28	108,06 ± 91,11	818,62 ± 1.075,29
P valor			0,470	0,708	0,882
DEF 2	+	13	5,55 ± 11,57	294,38 ± 647,44	741,29 ± 1.193,41
	-	11	1,17 ± 1,76	92,40 ± 76,17	628,45 ± 907,61
P valor			0,432	0,942	0,941
DEF 3	+	4	8,64 ± 16,22	709,32 ± 1,13	119,44 ± 93,13
	-	20	2,52 ± 6,64	100,30 ± 114,48	803,60 ± 1.119,63
P valor			0,899	0,183	0,674

DEF: Definição de periodontite.

A normalidade foi avaliada pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov, Teste de Mann-Whitney foi usado para distribuição não paramétrica.

Tabela 5.6- Diferenças entre medias do número de cópias de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* em amostras subglóticas de pacientes do grupo CHX subdivididos de acordo com três definições de periodontite..

	+/-	n	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
DEF 1	+	14	0,87 ± 1,68	124,74 ± 163,61	149,29 ± 266,76
	-	5	2,68 ± 4,23	293,96 ± 369,61	433,91 ± 567,13
P valor			0,83	0,72	0,49
DEF 2	+	11	1,22 ± 1,87	76,47 ± 97,67	265,76 ± 404,08
	-	8	1,51 ± 3,48	296,86 ± 311,58	167,03 ± 344,79
P valor			0,38	0,54	0,91
DEF 3	+	6	1,92 ± 2,35	50,07 ± 38,57	194,84 ± 453,14
	-	13	1,08 ± 2,73	224,29 ± 268,93	237,74 ± 350,7
P valor			0,34	0,19	0,78

A normalidade foi avaliada pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov, Teste de Mann-Whitney foi usado para distribuição não paramétrica.

Tabela 5.7- Média dos parâmetros periodontais de pacientes do grupo placebo subdivididos de acordo com a colonização das amostras subgênicas por *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis*

	+/-	n	PCS (mm)	PCS≥5mm (%)	NCI (mm)	NCI≥4mm (%)	ISS (%)	Dentes ausentes (n)	IP (%)
<i>P. gingivalis</i>	+	14	2,28 ± 1,16	11,29 ± 25,51	2,83 ± 1,95	20,48 ± 25,62	37,77 ± 29,27	8,57 ± 6,12	44,48 ± 38,66
	-	10	1,95 ± 0,84	1,47 ± 1,76	2,21 ± 1,21	14,25 ± 19,25	28,76 ± 19,88	6,1 ± 5,58	38,22 ± 25,25
P valor			0,33	0,98	0,36	*0,39	0,38	0,33	0,33
<i>T. forsythia</i>	+	24	2,13 ± 1,04	7,2 ± 19,83	2,55 ± 1,69	17,89 ± 22,93	34,02 ± 25,68	7,54 ± 6,01	41,87 ± 33,23
	-	0	-	-	-	-	-	-	-
P valor			-	-	-	-	-	-	-
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	+	22	2,09 ± 1,04	7,6 ± 20,7	2,54 ± 1,73	17,94 ± 24	31,77 ± 24,33	7,55 ± 6,06	39,01 ± 24,33
	-	2	2,63 ± 0,95	2,8 ± 2,39	2,7 ± 1,01	17,31 ± 0,91	58,74 ± 37,5	7,5 ± 7,78	73,34 ± 37,71
P valor			*0,36	0,42	0,51	0,30	0,49	0,99	*0,31

PCS: profundidade clínica de sondagem; NCI: nível clínico de inserção; ISS: índice de sangramento à sondagem; IP: índice de placa.

A normalidade foi avaliada pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov, *Teste t de Student foi usado para distribuição paramétrica de dados e Teste de Mann-Whitney para não paramétrica

Tabela 5.8 Média dos parâmetros periodontais de pacientes do grupo CHX subdivididos de acordo com a colonização das amostras subglóticas por *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis*

	+/-	n	PCS (mm)	PCS≥5mm (%)	NCI (mm)	NCI≥4(mm)	ISS (%)	Dentes ausentes (n)	IP (%)
<i>P. gingivalis</i>	+	9	2,08 ± 1,03	3,17 ± 5,16	2,42 ± 1,54	19,12 ± 25,99	20,64 ± 22,39	7,33 ± 7,00	27,39 ± 27,05
	-	10	2,16 ± 0,69	1,07 ± 2,05	2,56 ± 1,10	16,18 ± 22,22	40,94 ± 21,41	8,70 ± 4,83	62,48 ± 28,94
P valor			0,09	0,45	0,41	*0,65	0,05	*0,65	0,86
<i>T. forsythia</i>	+	18	2,07 ± 0,77	1,38 ± 2,54	2,4 ± 1,17	14,54 ± 19,91	30,47 ± 24,06	7,78 ± 5,87	44,52 ± 33,08
	-	1	3,34 ± 1,83	14,44	5,03 ± 2,31	72,22	46,67	13	70
P valor			-	-	-	-	-	-	-
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	+	15	2,22 ± 0,88	2,49 ± 4,28	2,66 ± 1,38	20,15 ± 25,31	34,47 ± 21,97	8,8 ± 5,85	56,59 ± 27,55
	-	4	1,78 ± 0,75	0,45 ± 0,89	2,02 ± 1,07	7,91 ± 12,25	19,54 ± 29,6	5,25 ± 5,56	5,58 ± 11,16
P valor			*0,99	0,46	0,09	0,26	*0,38	0,34	*0,002

PCS: profundidade clínica de sondagem; NCI: nível clínico de inserção; ISS: índice de sangramento à sondagem; IP: índice de placa.

A normalidade foi avaliada pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov, *Teste t de Student foi usado para distribuição paramétrica de dados e Teste de Mann-Whitney para não paramétrica

6 DISCUSSÃO

A importância de se avaliar a existência de uma associação entre as doenças periodontais e a pneumonia é justificável, visto que as doenças respiratórias são patologias responsáveis por altos índices de morbidade e mortalidade entre a população (22), além de sua terapia antimicrobiana ter alto custo e poder levar à resistência bacteriana (81). Embora outros trabalhos tenham analisado a composição microbiana de amostras subglóticas (105-107), nosso trabalho demonstrou pela primeira vez a presença de *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans* em amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados. Em concordância com nossos resultados, outros estudos demonstraram a presença de patógenos periodontais no trato respiratório inferior de pacientes diagnosticados com PAC (28, 29), PAH (28, 30) e PACS (31), sugerindo um possível papel etiológico dos patógenos periodontais na etiopatogenia da pneumonia. Esta entretanto, não é a primeira vez que bactérias da cavidade oral são identificadas na região subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados. Um artigo recente que caracterizou a flora oral de pacientes intubados e mecanicamente ventilados, admitidos em UTIs, demonstrou a presença de *Prevotella melaninogenica*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Treponema socranskii*, *Veillonella parvula* e *Fusobacterium periodonticum* no trato respiratório de pacientes diagnosticados com PAVM, demonstrando a associação positiva entre a presença destas bactérias no trato respiratório inferior e o desenvolvimento da PAVM (99) e sugerindo a possibilidade de bactérias da cavidade oral translocarem para o trato respiratório durante a ventilação mecânica.

O patógeno mais comumente detectado no presente trabalho, nas amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados foi *T. forsythia*, encontrado em 100 e 95% das amostras dos grupos placebo e CHX, respectivamente. A maior frequência de *T. forsythia* nas amostras subglóticas, em comparação aos demais organismos avaliados, deve-se provavelmente ao fato deste ser um dos periodontopatógenos mais frequentemente detectados em amostras de placa subgengival (108) e saliva (109) de pacientes com doença periodontal.

T. forsythia possui uma série de fatores de virulência os quais, teoricamente, poderiam danificar e/ou alterar a resposta imune da mucosa respiratória, aumentando o risco à infecção (91). *T. forsythia* produz níveis elevados de enzimas proteolíticas, especialmente com atividade “semelhante à tripsina” e cisteíno proteases, capazes de degradar proteínas do sistema imune adaptativo e inato, fragilizando assim, a imunidade do hospedeiro (110). Paralelamente, lipopolissacarídeos de *T. forsythia* induzem a apoptose de células epiteliais, fibroblastos e de células monocíticas (111). Tal efeito pode gerar danos na integridade da mucosa respiratória e/ou em seu sistema de defesa, o que propicia um aumento da susceptibilidade a infecções (112). Além disso, é provável que a produção local de citocinas pro-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , em resposta aos lipopolissacarídeos de *T. forsythia* (113) também afete negativamente a integridade das superfícies mucosas (91).

O segundo periodontopatógeno mais frequentemente encontrado nas amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados foi *A. actinomycetemcomitans*, encontrado em 92% das amostras subglóticas do grupo placebo e em 86% das amostras do grupo CHX. *A. actinomycetemcomitans* possui uma série de fatores de virulência que interferem negativamente nos mecanismos de defesa do hospedeiro. Seu fator supressor inibe a síntese de IgG e IgM por plasmócitos (114). A toxina distensora citoletal (CDT) de *A. actinomycetemcomitans* induz a apoptose, compromete a função fagocitária e altera o equilíbrio entre a resposta pro- e anti-inflamatória dos macrófagos (115, 116). As leucotoxinas produzidas pelo *A. actinomycetemcomitans* destroem seletivamente linfócitos B, linfócitos T e leucócitos polimorfonucleares, causando desequilíbrio nos mecanismos de defesa do hospedeiro (117). Além disso, *A. actinomycetemcomitans* expressa uma proteína solúvel de baixo peso molecular, o fator inibidor de quimiotaxia, a qual inibe a quimiotaxia de neutrófilos (118). O macrófago alveolar é a célula fagocítica mais importante da resposta imune de mucosas respiratórias (119). Esta célula atua diretamente na eliminação de patógenos ou promove o recrutamento de neutrófilos e outras células mononucleares em resposta a infecção (120). Deste modo, pode-se sugerir que a

presença de *A. actinomycetemcomitans* no trato respiratório pode comprometer a integridade e eficácia do sistema de defesa da mucosa respiratória.

O terceiro microrganismo detectado foi *P. gingivalis*, encontrado em 58% e 57% das amostras dos grupos placebo e CHX, respectivamente. Embora *P. gingivalis* seja encontrado com frequência relativamente elevada na cavidade oral de pacientes com doença periodontal (108), sua taxa de frequência em amostras subglóticas foi relativamente baixa, comparada com *A. actinomycetemcomitans* e *T. forsythia*. Um achado semelhante foi reportado em um estudo recente que demonstrou que embora *P. gingivalis* seja um dos patógenos mais frequentemente encontrados na cavidade oral de pacientes com periodontite, sua frequência em órgãos contínuos, com o estômago, é inferior a frequência observada para *C. rectus*, *T. denticola* e *T. forsythia* (109). Proteases são fatores de virulência importantes para várias bactérias. Gengipainas produzidas por *P. gingivalis* clivam e inativam proteoliticamente múltiplas proteínas hospedeiras, incluindo peptídeos antimicrobianos catiônicos, componentes do sistema complemento e imunoglobulinas (121-124) e, deste modo, favorecem a sobrevivência bacteriana. Adicionalmente, *P. gingivalis* utiliza vários fatores de virulência que interferem negativamente no recrutamento, sobrevivência e atividade funcional de macrófagos e neutrófilos (125-127), o que facilita o processo de colonização e manutenção da infecção.

Embora o papel dos periodontopatógenos no estabelecimento da PAVM permaneça desconhecido, é possível que periodontopatógenos como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia* atuem como fator etiológico primário da PAVM ou, através de seus diversos fatores de virulência, afetem a integridade do trato respiratório, tornando esta região mais susceptível á infecções por patógenos respiratórios.

No nosso estudo, o grupo de CHX apresentou níveis reduzidos de *P. gingivalis* e de *A. actinomycetemcomitans* nas amostras subglóticas. Tal achado sugere a eficácia da CHX na redução da contaminação da região subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados. Nossos achados estão em linha com estudos que demonstraram que a CHX em dose única promove uma redução seletiva

de microrganismos na cavidade oral de pacientes intubados e mecanicamente ventilados. Entretanto, é importante ressaltar que a CHX em dose única não reduz a incidência de PAVM (128). A discrepância entre os estudos que demonstraram a eficácia da descontaminação oral com CHX em dose única na redução de microrganismos e os estudos que relevaram que a descontaminação em dose única com CHX não reduz a incidência da PAVM pode ser explicada por dois fatores: i) a duração da substantividade da CHX, que varia entre 8 e 12 horas e ii) a duração dos estudos. Deste modo, é plausível que a descontaminação oral com CHX em dose única é capaz de promover reduções na carga microbiológica por até 12 horas e que reduções mais prolongadas são obtidas somente com o uso contínuo e regular da CHX, o que resulta na diminuição da incidência da VAPM em pacientes intubados e mecanicamente ventilados por mais de 48 horas.

A aspiração de microrganismos da cavidade oral foi identificada como uma das causas mais comuns de PAVM (94). Estudos clássicos mostraram que um índice de placa elevado pode fomentar a colonização da região orofaríngea por patógenos respiratórios (56). Nosso estudo clínico não demonstrou associação entre o índice de placa e a quantificação de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia* em amostras subglóticas do grupo placebo. Uma associação positiva foi somente detectada entre o índice de placa e os níveis de *A. actinomycetemcomitans* em amostras do grupo CHX. Os resultados da literatura são controversos em relação a associação entre o índice de placa e a incidência da PAVM. Enquanto alguns estudos demonstraram uma associação positiva entre o índice de placa e a PAVM (23), outros estudos não encontraram tal associação (133, 134).

Diversas definições arbitrárias de periodontite foram usadas em múltiplos estudos epidemiológicos, investigando a relação entre a periodontite e doenças sistêmicas (101, 135, 136). Uma análise desses estudos revela que o estabelecimento de uma associação positiva entre a periodontite e doenças sistêmicas é dependente da definição de caso (135). Em nosso estudo foram utilizadas três definições arbitrárias de periodontite, com limites clínicos de corte, que representam uma extensão crescente do nível de destruição periodontal (101). Contudo nosso trabalho não encontrou uma relação positiva entre o estado de saúde periodontal e os níveis de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T.*

forsythia nas amostras subglóticas de pacientes intubados e mecanicamente ventilados. De forma análoga, também não se verificou uma relação positiva entre os parâmetros periodontais clínicos e a colonização da área subglótica por *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia*. Este resultado é consistente com outros estudos que verificaram a ausência de associação entre a doença periodontal e a PAVM (133, 134).

Nosso estudo não revela se os patógenos periodontais encontrados nas amostras subglóticas foram transpostos mecanicamente durante a introdução da cânula orofaríngea, translocaram se durante a manutenção da ventilação mecânica, ou até mesmo, se já se encontravam na área subglótica antes da intubação. Outra limitação deste estudo foi o curto período de avaliação. O estudo foi desenvolvido utilizando uma amostra de conveniência composta de pacientes submetidos a cirurgias eletivas de curta duração, e desta forma, não avaliou prospectivamente alterações microbiológicas, a passagem de bactérias da região subglótica para o trato respiratório inferior e o risco de desenvolvimento de PAVM. Por fim, por se tratar de um estudo pioneiro, cujos resultados apresentaram grande desvio padrão é possível que o poder da amostra não tenha sido suficiente para detectar diferenças entre os grupos. Neste sentido, a análise de resultados deste estudo da região subglótica, fará se importante para o delineamento de futuros estudos que venham investigar alterações microbiológicas em área subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados.

7 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou presença de microrganismos periodontopatogênicos, na região subglótica de pacientes intubados e mecanicamente ventilados. A descontaminação intraoral em dose única com CHX reduziu os níveis de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*. Em contraste, o estado de saúde periodontal (PCS, NCI, ISS e número de dentes ausentes) não interferiu nos níveis de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia* na região subglótica, apenas o índice de placa diferiu entre *A. actinomycetemcomitans*.

REFERÊNCIAS¹

1. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5721-32.
2. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology.* 1998;25(2):134-44.
3. Newman MG, Socransky SS, Savitt ED, Propas DA, Crawford A. Studies of the microbiology of periodontosis. *Journal of Periodontology.* 1976;47(7):373-9.
4. Pizzo G, Guiglia R, Russo LL, Campisi G. Dentistry and internal medicine: from the focal infection theory to the periodontal medicine concept. *European Journal of Internal Medicine.* 2010;21(6):496-502.
5. Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13 Suppl 4:3-10.
6. Beck JD, Offenbacher S, Williams R, Gibbs P, Garcia R. Periodontitis: a risk factor for coronary heart disease? *Ann Periodontol.* 1998;3(1):127-41.
7. LaMonte MJ, Genco RJ, Hovey KM, Wallace RB, Freudenheim JL, Michaud DS, et al. History of Periodontitis Diagnosis and Edentulism as Predictors of Cardiovascular Disease, Stroke, and Mortality in Postmenopausal Women. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(4).
8. Scannapieco FA, Mylotte JM. Relationships between periodontal disease and bacterial pneumonia. *J Periodontol.* 1996;67(10 Suppl):1114-22.
9. Shen TC, Chang PY, Lin CL, Wei CC, Tu CY, Hsia TC, et al. Risk of Periodontal Disease in Patients With Asthma: A Nationwide Population-Based Retrospective Cohort Study. *J Periodontol.* 2017;88(8):723-30.
10. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *Journal of Periodontology.* 1996;67(10 SUPPL.):1103-13.
11. Chang JS, Tsai CR, Chen LT, Shan YS. Investigating the Association Between Periodontal Disease and Risk of Pancreatic Cancer. *Pancreas.* 2016;45(1):134-41.

¹ De acordó com estilo Vancouver

12. Kaye EK, Chen N, Cabral HJ, Vokonas P, Garcia RI. Metabolic Syndrome and Periodontal Disease Progression in Men. *J Dent Res*. 2016;95(7):822-8.
13. Sharma P, Dietrich T, Ferro CJ, Cockwell P, Chapple IL. Association between periodontitis and mortality in stages 3-5 chronic kidney disease: NHANES III and linked mortality study. *J Clin Periodontol*. 2016;43(2):104-13.
14. Tang Q, Fu H, Qin B, Hu Z, Liu Y, Liang Y, et al. A Possible Link Between Rheumatoid Arthritis and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2017;37(1):79-86.
15. Pazos P, Leira Y, Dominguez C, Pias-Peleteiro JM, Blanco J, Aldrey JM. Association between periodontal disease and dementia: A literature review. *Neurologia*. Spain: S.L.U; 2016.
16. Niederman MS. Hospital-acquired pneumonia, health care-associated pneumonia, ventilator-associated pneumonia, and ventilator-associated tracheobronchitis: definitions and challenges in trial design. *Clin Infect Dis*. 2010;51 Suppl 1:S12-7.
17. Torres A, Niederman MS, Chastre J, Ewig S, Fernandez-Vandellos P, Hanberger H, et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: Guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia (HAP)/ventilator-associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT). *Eur Respir J*. 2017;50(3).
18. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 302. United States 2009. p. 2323-9.
19. Rello J, Lorente C, Bodí M, Diaz E, Ricart M, Kollef MH. Why do physicians not follow evidence-based guidelines for preventing ventilator-associated pneumonia?: a survey based on the opinions of an international panel of intensivists. *Chest*. 2002;122.
20. Riera J, Caralt B, Lopez I, Augustin S, Roman A, Gavalda J, et al. Ventilator-associated respiratory infection following lung transplantation. *European Respiratory Journal*. 2015;45(3):726-37.
21. Inglis TJ. New insights into the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *J Hosp Infect*. 1995;30 Suppl:409-13.

22. Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RH, Bergmans DC, Camus C, Bauer TT, et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis*. 13. United States: 2013 Elsevier Ltd; 2013. p. 665-71.
23. Yao LY, Chang CK, Maa SH, Wang C, Chen CC. Brushing teeth with purified water to reduce ventilator-associated pneumonia. *J Nurs Res*. 2011;19(4):289-97.
24. Needleman IG, Hirsch NP, Leemans M, Moles DR, Wilson M, Ready DR, et al. Randomized controlled trial of toothbrushing to reduce ventilator-associated pneumonia pathogens and dental plaque in a critical care unit. *J Clin Periodontol*. 2011;38(3):246-52.
25. Cabov T, Macan D, Husedzinovic I, Skrlin-Subic J, Bosnjak D, Sestan-Crnek S, et al. 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. *Wien Klin Wochenschr*. 2010;122(13-14):397-404.
26. Mojon P. Oral health and respiratory infection. *J Can Dent Assoc*. 2002;68(6):340-5.
27. Terpenning M. Geriatric oral health and pneumonia risk. *Clin Infect Dis*. 40. United States 2005. p. 1807-10.
28. Nagaoka K, Yanagihara K, Harada Y, Yamada K, Migiyama Y, Morinaga Y, et al. Quantitative detection of periodontopathic bacteria in lower respiratory tract specimens by real-time PCR. *J Infect Chemother*. 23. Netherlands: 2016 Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd; 2017. p. 69-73.
29. Zijlstra EE, Swart GR, Godfroy FJM, Degener JE. Pericarditis, pneumonia and brain abscess due to a combined *Actinomyces—Actinobacillus actinomycetemcomitans* infection. *Journal of Infection*. 1992;25(1):83-7.
30. El Attar MM, Zaghloop MZ, Elmenoufr HS. Role of periodontitis in hospital-acquired pneumonia. *East Mediterr Health J*. 2010;16(5):563-9.
31. El-Solh AA, Pietrantonio C, Bhat A, Okada M, Zambon J, Aquilina A, et al. Colonization of dental plaques: a reservoir of respiratory pathogens for hospital-acquired pneumonia in institutionalized elders. *Chest*. 2004;126(5):1575-82.
32. Andrews T, Steen C. A review of oral preventative strategies to reduce ventilator-associated pneumonia. *Nurs Crit Care*. 2013;18(3):116-22.

33. Chlebicki MP, Safdar N. Topical chlorhexidine for prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *Crit Care Med*. 2007;35(2):595-602.
34. Veitz-Keenan A, Ferraiolo DM. Oral care with chlorhexidine seems effective for reducing the incidence of ventilator-associated pneumonia. *Evid Based Dent*. 2017;18(4):113-4.
35. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45 Suppl 20:S162-S70.
36. Tonetti MS, Claffey N, C EWiPg. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:210-3.
37. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(1):57-80.
38. Krauss JL, Potempa J, Lambris JD, Hajishengallis G. Complementary Tolls in the periodontium: how periodontal bacteria modify complement and Toll-like receptor responses to prevail in the host. *Periodontol 2000*. 2010;52(1):141-62.
39. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2001;25:8-20.
40. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology 2000*. 2004;36(1):14-26.
41. Höglund Åberg C, Haubek D, Kwamin F, Johansson A, Claesson R. Leukotoxic activity of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and periodontal attachment loss. *PLoS One*. 2014;9(8):e104095.
42. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*. 1996;1(1):926-32.
43. Paju S, Pussinen PJ, Suominen-Taipale L, Hyvönen M, Knuutila M, Könönen E. Detection of multiple pathogenic species in saliva is associated with periodontal infection in adults. *J Clin Microbiol*. 2009;47(1):235-8.

44. Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo-Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;14(12):e680-5.
45. Graves D, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology*. 2003;74(3):391-401.
46. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997;14:112-43.
47. Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol*. 2011;38 Suppl 11:60-84.
48. Garlet GP, Martins W, Ferreira BR, Milanezi CM, Silva JS. Patterns of chemokines and chemokine receptors expression in different forms of human periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2003;38(2):210-7.
49. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1569-76.
50. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*. 2010;89(12):1349-63.
51. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 β , -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *Journal of periodontology*. 2000;71(10):1535-45.
52. ROBERTS HL. FOCAL INFECTION. *British Journal of Dermatology*. 1921;33(11):353-73.
53. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6(237):237ra65.
54. Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. Possible association between amniotic fluid micro-organism infection and microflora in the mouth. *BJOG*. 2002;109(5):527-33.

55. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol.* 2000;71(10):1554-60.
56. Scannapieco FA. Role of oral bacteria in respiratory infection. *J Periodontol.* 1999;70(7):793-802.
57. Wang CY, Wang HC, Li JM, Wang JY, Yang KC, Ho YK, et al. Invasive infections of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*. *J Microbiol Immunol Infect.* 43. England: A 2010 Taiwan Society of Microbiology. Published by Elsevier B.V; 2010. p. 491-7.
58. Shilo S, Kassis I, Hakim F, Shachor-Meyouhas Y. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pneumonia in children: two case reports and a review of the literature. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34(1):100-2.
59. Thompson AE. JAMA PATIENT PAGE. Pneumonia. *JAMA.* 2016;315(6):626.
60. Falcone M, Venditti M, Shindo Y, Kollef MH. Healthcare-associated pneumonia: diagnostic criteria and distinction from community-acquired pneumonia. *Int J Infect Dis.* 2011;15(8):e545-50.
61. Bartlett JG, Mundy LM. Community-acquired pneumonia. *N Engl J Med.* 1995;333(24):1618-24.
62. Scott SS, Kardos CB. Community-acquired, health care-associated, and ventilator-associated pneumonia: three variations of a serious disease. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 2012;24(3):431-41.
63. Kollef MH, Morrow LE, Baughman RP, Craven DE, McGowan JJE, Micek ST, et al. Health Care—Associated Pneumonia (HCAP): A Critical Appraisal to Improve Identification, Management, and Outcomes—Proceedings of the HCAP Summit. *Clinical Infectious Diseases.* 2008;46(Supplement_4):S296-S334.
64. Kollef MH, Shorr A, Tabak YP, Gupta V, Liu LZ, Johannes RS. Epidemiology and Outcomes of Health-care—Associated Pneumonia: Results From a Large US Database of Culture-Positive Pneumonia. *Chest.* 2005;128(6):3854-62.
65. de Infecções Respiratórias C, Tisiologia SBdPe. Diretrizes brasileiras para tratamento das pneumonias adquiridas no hospital e das associadas à ventilação mecânica-2007. *J Bras Pneumol.* 2007;33(supl. 1):s1-s30.

66. Mandell LA, Campbell GD. Nosocomial pneumonia guidelines: an international perspective. *Chest*. 1998;113(3 Suppl):188S-93S.
67. Pop-Vicas AE, D'Agata EM. The rising influx of multidrug-resistant gram-negative bacilli into a tertiary care hospital. *Clin Infect Dis*. 2005;40(12):1792-8.
68. Venditti M, Falcone M, Corrao S, Licata G, Serra P. Outcomes of patients hospitalized with community-acquired, health care-associated, and hospital-acquired pneumonia. *Annals of internal medicine*. 2009;150(1):19-26.
69. Society AT, America IDSo. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(4):388-416.
70. Guidry CA, Mansfield SA, Sawyer RG, Cook CH. Resistant pathogens, fungi, and viruses. *Surg Clin North Am*. 2014;94(6):1195-218.
71. Mehta A, Bhagat R. Preventing Ventilator-Associated Infections. *Clin Chest Med*. 2016;37(4):683-92.
72. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C, Hajjeh R. Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep*. 53. United States 2004. p. 1-36.
73. Brasil. Portaria nº - 204. In: Saude MdEd, editor. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências: Brasília MS/GM; de 17 DE FEVEREIRO DE 2016.
74. Guimarães MM, Rocco JR. Prevalence of ventilator-associated pneumonia in a university hospital and prognosis for the patients affected. *J Bras Pneumol*. 2006;32(4):339-46.
75. Brasil. Medidas de prevenção de infecção relacionada à assistência à saúde. In: Sanitária ANdV, editor.: ANVISA; 2016.
76. Kollef MH. What is ventilator-associated pneumonia and why is it important? *Respir Care*. 2005;50.
77. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. 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. *Clin Infect Dis.* 2016;63(5):e61-e111.

78. Hunter JD. Ventilator associated pneumonia. *BMJ.* 2012;344:e3325.

79. Ottosen J, Evans H. Pneumonia: challenges in the definition, diagnosis, and management of disease. *Surg Clin North Am.* 2014;94(6):1305-17.

80. Ali HS, Khan FY, George S, Shaikh N, Al-Ajmi J. Epidemiology and Outcome of Ventilator-Associated Pneumonia in a Heterogeneous ICU Population in Qatar. *Biomed Res Int.* 2016;2016:8231787.

81. Teixeira PJZ, Hertz FT, Cruz DB, Caraver F, Hallal RC, Moreira JS. Pneumonia associada à ventilação mecânica: impacto da multirresistência bacteriana na morbidade e mortalidade. *J Bras Pneumol.* 2004;30(6):540-8.

82. Houston S, Hougland P, Anderson JJ, LaRocco M, Kennedy V, Gentry LO. Effectiveness of 0.12% chlorhexidine gluconate oral rinse in reducing prevalence of nosocomial pneumonia in patients undergoing heart surgery. *Am J Crit Care.* 2002;11(6):567-70.

83. DeRiso AJ, Ladowski JS, Dillon TA, Justice JW, Peterson AC. Chlorhexidine gluconate 0.12% oral rinse reduces the incidence of total nosocomial respiratory infection and nonprophylactic systemic antibiotic use in patients undergoing heart surgery. *Chest.* 1996;109(6):1556-61.

84. Klompas M, Speck K, Howell MD, Greene LR, Berenholtz SM. Reappraisal of routine oral care with chlorhexidine gluconate for patients receiving mechanical ventilation: systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med.* 174. United States 2014. p. 751-61.

85. Chan EY, Ruest A, Meade MO, Cook DJ. Oral decontamination for prevention of pneumonia in mechanically ventilated adults: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2007;334(7599):889.

86. Labeau SO, Van de Vyver K, Brusselaers N, Vogelaers D, Blot SI. Prevention of ventilator-associated pneumonia with oral antiseptics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 11. United States: 2011 Elsevier Ltd; 2011. p. 845-54.

87. Villar CC, Pannuti CM, Nery DM, Morillo CM, Carmona MJ, Romito GA. Effectiveness of Intraoral Chlorhexidine Protocols in the Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia: Meta-Analysis and Systematic Review. *Respir Care:* 2016 by Daedalus Enterprises.; 2016.

88. Estes RJ, Meduri GU. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: I. Mechanisms of bacterial transcolonization and airway inoculation. *Intensive Care Medicine*. 1995;21(4):365-83.
89. Fourrier F, Cau-Pottier E, Boutigny H, Roussel-Delvallez M, Jourdain M, Chopin C. Effects of dental plaque antiseptic decontamination on bacterial colonization and nosocomial infections in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2000;26(9):1239-47.
90. Russell SL, Boylan RJ, Kaslick RS, Scannapieco FA, Katz RV. Respiratory pathogen colonization of the dental plaque of institutionalized elders. *Spec Care Dentist*. 1999;19(3):128-34.
91. Azarpazhooh A, Leake JL. Systematic review of the association between respiratory diseases and oral health. *J Periodontol*. 2006;77(9):1465-82.
92. Travis J, Pike R, Imamura T, Potempa J. The role of proteolytic enzymes in the development of pulmonary emphysema and periodontal disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150(6 Pt 2):S143-6.
93. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(4):547-58.
94. Paju S, Scannapieco FA. Oral biofilms, periodontitis, and pulmonary infections. *Oral Dis*. 2007;13(6):508-12.
95. Kumar PS. From focal sepsis to periodontal medicine: a century of exploring the role of the oral microbiome in systemic disease. *J Physiol*. 2017;595(2):465-76.
96. Heo SM, Haase EM, Lesse AJ, Gill SR, Scannapieco FA. Genetic relationships between respiratory pathogens isolated from dental plaque and bronchoalveolar lavage fluid from patients in the intensive care unit undergoing mechanical ventilation. *Clin Infect Dis*. 2008;47(12):1562-70.
97. Munro CL, Grap MJ, Jones DJ, McClish DK, Sessler CN. Chlorhexidine, toothbrushing, and preventing ventilator-associated pneumonia in critically ill adults. *Am J Crit Care*. 18. United States 2009. p. 428-37; quiz 38.
98. Zhang TT, Tang SS, Fu LJ. The effectiveness of different concentrations of chlorhexidine for prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *J Clin Nurs*. 2014;23(11-12):1461-75.

99. de Carvalho Baptista IM, Martinho FC, Nascimento GG, da Rocha Santos CE, Prado RFD, Valera MC. Colonization of oropharynx and lower respiratory tract in critical patients: Risk of ventilator-associated pneumonia. *Arch Oral Biol.* 2018;85:64-9.
100. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229-35.
101. Ioannidou E, Shaqman M, Burleson J, Dongari-Bagtzoglou A. Periodontitis case definition affects the association with renal function in kidney transplant recipients. *Oral Dis.* 2010;16(7):636-42.
102. Shelburne CE, Prabhu A, Gleason RM, Mullally BH, Coulter WA. Quantitation of *Bacteroides forsythus* in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction. *J Microbiol Methods.* 2000;39(2):97-107.
103. Rudney J, Chen R, Pan Y. Endpoint quantitative PCR assays for *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of periodontal research.* 2003;38(5):465-70.
104. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *Journal of periodontology.* 2009;80(3):436-46.
105. Chilana K, Sarma L, Putti N, Sahu S, Chillana S. Concordance between microorganisms isolated from subglottic secretions and bronchoalveolar lavage fluid in patients with ventilator associated pneumonia in Intensive Care Unit. *Indian Journal of Respiratory Care.* 2017;6(2):824-7.
106. Berra L, De Marchi L, Panigada M, Yu ZX, Baccarelli A, Kolobow T. Evaluation of continuous aspiration of subglottic secretion in an in vivo study. *Crit Care Med.* 2004;32(10):2071-8.
107. Bouza E, Pérez MJ, Muñoz P, Rincón C, Barrio JM, Hortal J. Continuous aspiration of subglottic secretions in the prevention of ventilator-associated pneumonia in the postoperative period of major heart surgery. *Chest.* 2008;134.
108. Tomita S, Komiya-Ito A, Imamura K, Kita D, Ota K, Takayama S, et al. Prevalence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* in Japanese patients with generalized chronic and aggressive periodontitis. *Microb Pathog.* 2013;61-62:11-5.

109. Pataro AL, Cortelli SC, Abreu MH, Cortelli JR, Franco GC, Aquino DR, et al. Frequency of periodontal pathogens and *Helicobacter pylori* in the mouths and stomachs of obese individuals submitted to bariatric surgery: a cross-sectional study. *J Appl Oral Sci.* 2016;24(3):229-38.
110. Sharma A. Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontol* 2000. 2010;54(1):106-16.
111. Hasebe A, Yoshimura A, Into T, Kataoka H, Tanaka S, Arakawa S, et al. Biological activities of *Bacteroides forsythus* lipoproteins and their possible pathological roles in periodontal disease. *Infect Immun.* 2004;72(3):1318-25.
112. Mizgerd JP. Acute lower respiratory tract infection. *N Engl J Med.* 2008;358(7):716-27.
113. Sahingur SE, Xia XJ, Alamgir S, Honma K, Sharma A, Schenkein HA. DNA from *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* induce cytokine production in human monocytic cell lines. *Mol Oral Microbiol.* 2010;25(2):123-35.
114. Malik R, Changela R, Krishan P, Gugnani S, Bali D. Virulence factors of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* - A status update. *Journal of the International Clinical Dental Research Organization.* 2015;7(2):137-45.
115. Ando-Sugimoto ES, da Silva MP, Kawamoto D, Chen C, DiRienzo JM, Mayer MP. The cytolethal distending toxin of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* inhibits macrophage phagocytosis and subverts cytokine production. *Cytokine.* 2014;66(1):46-53.
116. Shenker BJ, Walker LP, Zekavat A, Dlakić M, Boesze-Battaglia K. Blockade of the PI-3K signalling pathway by the *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin induces macrophages to synthesize and secrete pro-inflammatory cytokines. *Cell Microbiol.* 2014;16(9):1391-404.
117. Johansson A. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response. *Toxins (Basel).* 2011;3(3):242-59.
118. Van Dyke TE, Bartholomew E, Genco RJ, Slots J, Levine MJ. Inhibition of neutrophil chemotaxis by soluble bacterial products. *J Periodontol.* 1982;53(8):502-8.
119. Leitch AE, Duffin R, Haslett C, Rossi AG. Relevance of granulocyte apoptosis to resolution of inflammation at the respiratory mucosa. *Mucosal Immunol.* 2008;1(5):350-63.

120. Nicod LP. Lung defences: an overview. *European Respiratory Review*. 2005;14(95):45-50.
121. Vincents B, Guentsch A, Kostolowska D, von Pawel-Rammingen U, Eick S, Potempa J, et al. Cleavage of IgG1 and IgG3 by gingipain K from *Porphyromonas gingivalis* may compromise host defense in progressive periodontitis. *FASEB J*. 2011;25(10):3741-50.
122. Gutner M, Chaushu S, Balter D, Bachrach G. Saliva enables the antimicrobial activity of LL-37 in the presence of proteases of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 2009;77(12):5558-63.
123. Kantyka T, Latendorf T, Wiedow O, Bartels J, Gläser R, Dubin G, et al. Elafin is specifically inactivated by RgpB from *Porphyromonas gingivalis* by distinct proteolytic cleavage. *Biol Chem*. 2009;390(12):1313-20.
124. Popadiak K, Potempa J, Riesbeck K, Blom AM. Biphasic effect of gingipains from *Porphyromonas gingivalis* on the human complement system. *J Immunol*. 2007;178(11):7242-50.
125. Sochalska M, Potempa J. Manipulation of Neutrophils by. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:197.
126. Castro SA, Collighan R, Lambert PA, Dias IH, Chauhan P, Bland CE, et al. *Porphyromonas gingivalis* gingipains cause defective macrophage migration towards apoptotic cells and inhibit phagocytosis of primary apoptotic neutrophils. *Cell Death Dis*. 2017;8(3):e2644.
127. Yu S, Ding L, Liang D, Luo L. *Porphyromonas gingivalis* inhibits M2 activation of macrophages by suppressing α -ketoglutarate production in mice. *Mol Oral Microbiol*. 2018;33(5):388-95.
128. Villar CC, Pannuti CM, Nery DM, Morillo CM, Carmona MJ, Romito GA. Effectiveness of Intraoral Chlorhexidine Protocols in the Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia: Meta-Analysis and Systematic Review. *Respir Care*. 2016;61(9):1245-59.
129. Scannapieco FA, Yu J, Raghavendran K, Vacanti A, Owens SI, Wood K, et al. A randomized trial of chlorhexidine gluconate on oral bacterial pathogens in mechanically ventilated patients. *Crit Care*. 13. England2009. p. R117.
130. Grap MJ, Munro CL, Elswick RK, Jr., Sessler CN, Ward KR. Duration of action of a single, early oral application of chlorhexidine on oral microbial flora in

mechanically ventilated patients: a pilot study. *Heart Lung*. 33. United States 2004. p. 83-91.

131. Fourrier F, Dubois D, Pronnier P, Herbecq P, Leroy O, Desmettre T, et al. Effect of gingival and dental plaque antiseptic decontamination on nosocomial infections acquired in the intensive care unit: a double-blind placebo-controlled multicenter study. *Crit Care Med*. 33. United States 2005. p. 1728-35.

132. Grap MJ, Munro CL, Hamilton VA, Elswick RK, Jr., Sessler CN, Ward KR. Early, single chlorhexidine application reduces ventilator-associated pneumonia in trauma patients. *Heart Lung*. 40. United States: 2011 Elsevier Inc; 2011. p. e115-22.

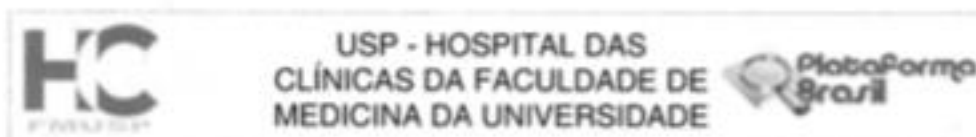
133. De Marco AC, Cardoso CG, De Marco FVC, Melo Filho ABd, Santamaria MP, Jardini MAN. Oral condition of critical patients and its correlation with ventilator-associated pneumonia: a pilot study. *Revista de Odontologia da UNESP*. 2013;42(3):182-7.

134. Ozcaka O, Basoglu OK, Buduneli N, Tasbakan MS, Bacakoglu F, Kinane DF. Chlorhexidine decreases the risk of ventilator-associated pneumonia in intensive care unit patients: a randomized clinical trial. *J Periodontal Res*. 2012;47(5):584-92.

135. Manau C, Echeverria A, Agueda A, Guerrero A, Echeverria JJ. Periodontal disease definition may determine the association between periodontitis and pregnancy outcomes. *J Clin Periodontol*. 2008;35(5):385-97.

136. de Pablo P, Dietrich T, McAlindon TE. Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. *J Rheumatol*. 2008;35(1):70-6.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DA EMENDA**

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE MICROORGANISMOS PERIODONTOPATOGÊNICOS EM AMOSTRAS SUBGLÓTICA DE PACIENTES ENTUBADOS E MECANICAMENTE VENTILADOS, SUBMETIDOS A CIRURGIAS ELETIVAS

Pesquisador: Maria José Carvalho Carmona

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 17559613.8.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.827.161

Apresentação do Projeto:

Solicitação de inclusão de centro: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, com finalidade acadêmica de Doutorado de Carlos Manuel Rubio Morillo, orientado pela Profa. Cristina Cunha Villar. .

Objetivo da Pesquisa:

Inclusão de centro e alteração de finalidade acadêmica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Ausência de riscos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem comentários.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

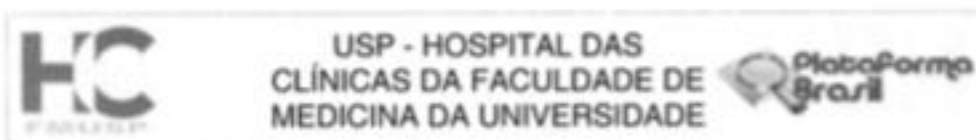
Sem considerações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5ª andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7545 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelacp.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 2.627.101

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1189261_E2.pdf	27/07/2018 12:53:52		Aceito
Outros	PGMA031_18_inclusao_Coparticipante_FOUSP.pdf	27/07/2018 12:53:35	Maria José Carvalho Carmona	Aceito
Outros	Carta_JustificadaEmenda.PDF	12/07/2018 09:37:47	Maria José Carvalho Carmona	Aceito
Outros	FR_10887_MJCC_Helena_2013.pdf	25/06/2018 09:47:26	Maria José Carvalho Carmona	Aceito
Folha de Rosto	FR_MJCC_Vap_CarlosRubio.pdf	25/06/2018 13:04:44	Maria José Carvalho Carmona	Aceito
Outros	FORMULARIO_EMENDAS_Vap_CarlosRubio.pdf	25/12/2017 14:44:11	Maria José Carvalho Carmona	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	VAP_Projeto_CarlosRubio.pdf	25/12/2017 14:42:39	Maria José Carvalho Carmona	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_Vap_CarlosRubio.PDF	25/12/2017 14:42:08	Maria José Carvalho Carmona	Aceito
Declaração de Pesquisadores	online n°10887, Maria José e Heleno.pdf	15/07/2013 08:29:40		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE - Enxaguatório bucal-21ma2013.doc.pdf	15/07/2013 08:29:07		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto VAP- Enxagatórios e Sonda Traqueal especial - VERSÃO FINAL, PARA CAPPEQ - 17ma2013.docx	01/07/2013 13:16:21		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 17 de Agosto de 2018

Assinado por:

ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 3º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2061-7585 Fax: (11)2061-7585 E-mail: cappeq.admin@hc.fm.usp.br