

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Odontologia

STEFÂNIA WERNECK PROCÓPIO

**PREVALÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA
CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS
HOSPITALIZADOS**

Rio de Janeiro

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Odontologia

STEFÂNIA WERNECK PROCÓPIO

**PREVALÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA
CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS
HOSPITALIZADOS**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Odontologia (Área de Concentração: Odontopediatria) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia (Área de Concentração: Odontopediatria).

Orientadores:

Prof.^a Dra. Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro

Prof.^a Associada do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da UFRJ

Prof.^a Dra. Apoena de Aguiar Ribeiro

Prof.^a Associada do Departamento de Formação Específica, Curso de Odontologia do ISNF/UFF

Rio de Janeiro

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Procópio, Stefânia Werneck

Prevalência de *Staphylococcus aureus* em pacientes pediátricos hospitalizados: UFRJ, 2018.

69f. : il ; 31cm

Orientador: Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro

Co-orientador: Apoena de Aguiar Ribeiro

Dissertação (mestrado) – UFRJ, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-graduação em Odontologia, 2018.

Referências bibliográficas: f.55-58

1. Criança 2. Unidade de terapia intensiva 3. *Staphylococcus aureus* 4. I Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro II. Apoena de Aguiar Ribeiro III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-graduação em Odontologia. IV. Título



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

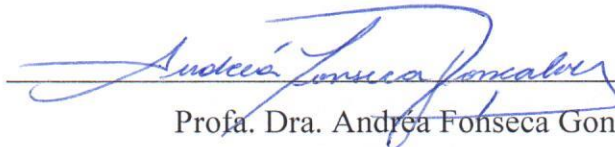
FOLHA DE APROVAÇÃO

PROCÓPIO, STEFÂNIA WERNECK

“PREVALÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA CAVIDADE BUCAL
DE PACIENTES PEDIÁTRICOS HOSPITALIZADOS”

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia,
Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, com parte dos
requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Odontologia (Odontopediatria).

Rio de Janeiro, 23 de março de 2018.



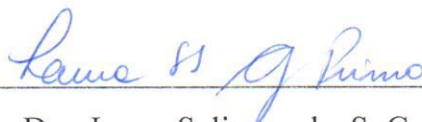
Prof.ª. Dra. Andréa Fonseca Gonçalves

DO-Prof. Adjunto do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da FO. UFRJ



Prof.ª. Dra. Fernanda Campos Machado

DO-Prof. Adjunto do Departamento de Odontologia Social e Infantil da FO. UFJF



Prof.ª. Dra. Laura Salignac de S. Guimarães Primo

DO-Prof. Associado II do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da FO.UFRJ

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Geraldo e Beatriz,

Enfrentamos juntos cirurgia, consultas, fisioterapias e exames.
Enquanto eu chorava e ficava desesperada (com o jeito bem Stefânia
de ser), vocês tentavam tornar tudo leve e fácil.

Se hoje eu termino esse mestrado, devo a vocês, que não me
deixaram desistir e estavam ao meu lado.

Nada que eu fizer em minha vida será capaz de se igualar ao que
vocês fizeram e fazem por mim.

Vocês são o meu refúgio e a minha fortaleza! Amo muito vocês.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus, Nossa Senhora Aparecida e ao Divino Pai Eterno,
agradeço por estarem ao meu lado em todos os momentos de minha
vida, principalmente quando mais precisei. Me deram forças quando
eu achei que não ia conseguir.
Fortaleceram minha fé, me mostrando que nada nessa vida é por
acaso.

AGRADECIMENTOS

À minha irmã Thaís,

Somos ao mesmo tempo tão parecidas e tão diferentes. Sempre falo de você pra todo mundo, afinal, todos deveriam ter uma irmã como você. Mãe, amiga, advogada, maquiadora, consultora de moda...você faz tudo! Você poderia ser incrível só por isso, mas você ainda me deu de presente o meu amorzinho mais lindo e amado, que contagia e preenche nossos dias com amor e felicidade. Obrigada por me entender e aceitar tantas vezes que eu não animei sair com você, pois tinha alguma tarefa do mestrado pra fazer. Obrigada por ser luz em minha vida. Te amo demais.

Ao meu irmão Vinicius,

Você nunca entendeu o que era mestrado, só sabia que eu continuava a estudar e se orgulhava disso. Mesmo com seu jeito bravo, sempre foi o irmão carinhoso e companheiro que eu queria apresentar para todas as minhas amigas. Tenho muito orgulho de você e de tudo que você está conquistando. Te amo tanto!

À minha orientadora Profa Gloria,

Calmaria no meio da tempestade, assim posso definir a senhora. Sempre tranquila, tentava olhar sempre o lado bom das coisas. Em momento algum você negou ajuda ou qualquer pedido meu. Obrigada por confiar a mim sua linha de pesquisa que é tão amada e linda. Obrigada por vivenciar esse sonho comigo. Agradeço a Deus por me proporcionar conhecer uma pessoa tão humana e feliz. Obrigada por todo carinho e amor. Você é incrível! Que ainda possamos ter muitas conquistas juntas!

À minha co-orientadora Profa Apoena,

Você aceitou minhas inúmeras amostras, me confiou seu laboratório e tirou minhas dúvidas (que não foram poucas). Mesmo estando em outro país, não deixou em nenhum momento que eu me sentisse sozinha. Obrigada por toda confiança e oportunidade! É um grande prazer ser sua aluna.

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Odontologia,

Obrigada por todo carinho e compreensão. Sou eternamente grata a vocês por toda ajuda no período de recuperação. Mesmo com todas as dificuldades que

enfrentamos, nos proporcionam um ensino de alto nível. Tenho orgulho em ser filha dessa casa! Rumo ao Capes 7!

Profa Laura,

Quando lia seu nome nos artigos da iniciação científica, nunca imaginei que um dia a teria em minha banca de mestrado. Quando a conheci, me entregando um santinho de Maria passa na frente, percebi que a senhora era muito mais que eu imaginava. Afinal, orientar aluno de sétima série até aluno de pós doutorado, sempre com um sorriso no rosto e com excelência, não é pra qualquer pessoa! Sua capacidade de liderança é algo admirável! Obrigada por me permitir te conhecer (e conhecer o Dudu), por todas as conversas e ajudas na clínica. Gosto muito de você.

Profa Andréa,

Quando entrei na especialização, as meninas falavam do tanto que você era incrível. Na primeira clínica de bebês, comecei a perceber de onde vinha toda essa admiração. Na sua aula teórica, confirmei que você era mesmo sensacional. Além de realizar tudo com excelência, está sempre maravilhosa! Você é um grande exemplo a ser seguido! Obrigada por me ensinar tantas coisas e por todo carinho que sempre teve comigo. Ter você em minha banca é um prazer e uma honra. Gosto muito de você!

Profa Fernanda,

Na minha graduação, você era (e até hoje é) uma das minhas referências em Odontopediatria. Foi por te admirar tanto, que decidi ir para a UFRJ. Você é o meu exemplo real de que quando algo é para ser nosso, nada e ninguém tira do nosso caminho. Tenho certeza que você ainda vai brilhar muito na “nossa casa” UFJF. Serei eternamente grata pela oportunidade na especialização da Estácio. Acreditou em mim quando nem mesmo eu acreditava. É um orgulho ter você na minha banca.

Profa Lucianne,

Agradeço por sempre me ajudar durante todo o curso, por todo carinho e compreensão durante o período de recuperação! Obrigada por me permitir vivenciar a clínica de Trauma! Foi uma das experiências mais maravilhosas que pude ter durante o curso de Mestrado! Atendi e aprendi muito. Sou grata a você por toda confiança e oportunidade que me proporcionou.

Profa Luciana,

Ser sua supervisora foi maravilhoso! Todos deveriam ter a oportunidade de conhecer a pessoa maravilhosa que é! Obrigada pelo carinho, confiança e oportunidade!

Profa Aline,

Sua inteligência é algo admirável! Obrigada por compartilhar tanta sabedoria nos seminários! Você é muito querida, não só por mim, mas por todos os alunos do departamento! Continue sempre com sua leveza e alegria.

Prof Marcelo,

O departamento não poderia ter outro chefe! Os cafés no final da tarde sempre rendiam um bom papo! Os seminários sempre foram leves e proveitosos. O senhor é muito querido por todos do departamento!

Dra Ivete,

Conhecer a senhora foi um grande prazer. Educação, respeito, gentileza e sabedoria! Qualidades que tem de sobra! Agradeço por todo carinho e preocupação de sempre.

Prof Rogério,

Confesso que sou mais uma Rogerete assumida! Obrigada por transmitir tanta sabedoria! Nos momentos em que o seminário parecia perdido, o senhor vinha com seu comentário sensacional e tudo mudava! Sou sua fã! Agradeço por todo carinho sempre! Tenho muito orgulho de ser sua aluna!

Claudia Tavares,

Sua amizade foi um presente que a supervisão de clínica me deu. Fizemos uma dupla imbatível na APO! Sua disposição e energia são revigorantes! Obrigada por todos os conselhos, por todas as conversas e por ser tão especial! Quero te levar pra sempre.

Aos meus amigos de turma,

Nosso convívio não foi uma tarefa fácil! Muitas opiniões diferentes juntas! Mas eu não poderia pedir outra turma...Juntos fizemos um bom trabalho. Vocês foram amigos incríveis.

Hiorran,

No início do mestrado ninguém acreditava que nossa dupla daria certo, afinal somos água e vinho. No final, todos admiravam nossa parceria. Seu sorriso fácil trouxe calma, leveza e alegria para os meus dias! Nossa caminhada não foi fácil! Nem um pouco! Problemas de saúde, inúmeras semanas do trauma, vários pacientes, seminários dobrados, idas pra Nova Friburgo, aulas e supervisão pra graduação... Em nenhum momento você me deixou sozinha. Foi meu pé direito em vários momentos! Agradeço a Deus pelo nosso encontro nessa vida! Somos pra sempre! Amo você amigo!

Karla,

Karla, Karlinha, Karlota, Magnanima, japa, japiane, friend...AMIGA! Que mestrado foi esse? Juntas superamos desafios, choramos, trabalhamos, mas nos divertimos! Muito! Não imagino minha vida sem a sua alegria e seu jeitinho! Idas e vindas para o hospital, noites e finais de semana no laboratório, idas para Nova Friburgo, noites na sua casa...nada daria tão certo se não estivéssemos juntas! Nossos caminhos se cruzaram no momento certo de nossas vidas, em que uma foi o alicerce da outra. Estaremos sempre juntas! Somos pra sempre! Amo você!

Thayse,

Você sem nenhuma dúvida, é a amiga mais ciumenta que eu tenho. Obrigada por seu jeito animado e amigo. Você preencheu os meus dias com seu jeitinho único de ser! Obrigada por fazer parte da minha vida.

Amigos do Mestrado e Doutorado,

O melhor presente que o departamento me deu, sem nenhuma dúvida, foi a amizade. Rio de Janeiro, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Pará, Paraíba, Ceará, Bahia. Uma mistura de sotaques, tradições e costumes. A melhor mistura que já conheci! Alguns de perto, outros de longe. Conseguem diminuir a saudade da família, são o abraço apertado nos momentos de desespero e a papo amigo nos momentos de dúvida. Aprendi muito com vocês! Alguns já estão brilhando nos caminhos da vida, outros continuam a encher o departamento de vida. **Dani**, sou muito grata por sua amizade! Nossas idas e vindas pro fundão sempre rendiam boas histórias. **Thithi e Paulinha**, sou apaixonada por essa dupla. Vocês são amigos pra vida inteira. **Marcela**, me desculpe pelos infinitos pacientes. Você foi uma luz protesista que virou uma amiga especial e companheira pra tudo! Bora? Bora! **Aline Letieri**, você é maravilhosa e conselheira! **Kairon** meu parceiro, você brilha. **Gabs**, você é só sucesso amiga! Amo você. Obrigada por toda parceria de sempre. **Lari**, eu

ainda irei comer açaí e as outras iguarias paraenses. Nossas saídas na quarta salvavam a semana! Obrigada por tanta amizade e parceria. **Jé**, você é a mineira mais carioca que eu conheço. Obrigada por nossas idas a praia, trilhas e gordices na Agatha! Que nossa amizade continue tão leve e feliz. Desejo pra vocês o que desejo pra mim. Obrigada por tudo!

Estéfano,

Serei eternamente grata a você. Minhas infinitas amostras entraram no meio do seu trabalho, sua pesquisa e seu mestrado. Obrigada por toda ajuda! Você foi essencial.

Adrielle,

Você foi um presentinho que ganhei na especialização. Sua ajuda sempre foi e é essencial, uma amiga mais que especial! Obrigada por momentos tão felizes!

Amanda,

A aluna da graduação mais especial de todas! Todos deveriam ter a sorte de ter uma aluna de Iniciação Científica tão incrível como você, uma microbiologista de excelência. Obrigada por ser tão amiga, por nos socorrer nos momentos de dúvida e por momentos tão alegres e divertidos! Desejo a você um mundo infinito de coisas boas. Conte sempre comigo.

Profa Rosangela Almeida Ribeiro,

Nossa história juntas começou no início da graduação, quando eu pouco sabia de Odontologia. Ao observar seu amor pela docência e pela Odontopediatria, me apaixonei e decidi que era o que eu queria para a minha vida. Seu caráter, lealdade e profissionalismo são valores admiráveis, que me inspiram desde que a conheci. Obrigada por me ouvir e aconselhar nos momentos em que mais preciso. Obrigada por toda amizade de sempre e por me permitir estar presente em sua vida.

Profa Cristina Lougon,

Lembro como se fosse hoje de quando você me sugeriu vir para UFRJ. Me emprestou os livros, me incentivou e comemorou a aprovação. No mestrado não foi diferente, vibrou a cada conquista minha. Você é parte de tudo isso! Obrigada por toda a amizade e por estar sempre presente na minha vida!

Aos funcionários do Departamento de Odontopediatria,

Nossos cafés da manhã eram os melhores do mundo! Obrigada por tanta ajuda. Vocês são os melhores!

Aos professores da Faculdade de Odontologia da UFRJ,

Agradeço por toda a ajuda com os meus pacientes. Sem vocês, tudo seria mais difícil! Um verdadeiro trabalho em equipe.

À Capes,

Agradeço pela bolsa de estudos concedida.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.”

Eclesiastes 3:1

RESUMO

PROCÓPIO, Stefânia Werneck. Prevalência de *Staphylococcus aureus* na cavidade bucal de pacientes pediátricos hospitalizados. Rio de Janeiro, 2018. Dissertação de Mestrado em Odontologia – Área de concentração: Odontopediatria – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

O objetivo desse estudo foi avaliar a prevalência de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) na cavidade oral de pacientes hospitalizados em uma unidade de terapia intensiva (UTI). Foram selecionados 30 pacientes na UTI (grupo I) e 30 pacientes saudáveis (grupo II), com idade entre 1 e 12 anos, pareados por sexo e idade. Inicialmente, foram realizadas coletas de dados médicos e exames intra e extra-orais. Em seguida, foram coletados espécimes clínicos (swab bucal, swab de narina e biofilme supragengival) de ambos os grupos para verificar a presença de *Staphylococcus aureus*. A identificação ocorreu pelo crescimento no caldo de soja Tryptic com 7,5% de NaCl durante 48 h, crescimento em agar de sal de Mannitol, coloração de Gram, teste de catalase e coagulase. As amostras positivas de *S.aureus* foram submetidas ao antibiograma para avaliação da susceptibilidade a antibióticos. Os resultados foram analisados estatisticamente através do SPSS versão 20.0 e comparados por meio dos testes do Qui-quadrado, Teste de Fisher e Mann-Whitney. O valor de 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Apenas 36,7% dos pacientes na UTI realizavam higiene bucal durante o período de hospitalização e mais de 40% dos pacientes hospitalizados em UTI apresentavam biofilme espesso. A prevalência de *S. aureus* foi de 22,5% e 20,4% para UTI e grupo controle, respectivamente. Nove amostras de boca (30%), 6 amostras de narina (20%) e 3 amostras de biofilme (15%) do grupo UTI foram consideradas *S. aureus* positivo. No grupo de controle, 6 amostras de boca (20%), 5 amostras de narina (16,7%) e 7 de biofilme (25%) foram positivas. Nas 36 amostras positivas de *S. aureus*, 44,4% (16) foram consideradas MRSA, sendo 62,5% (10) no grupo I e 37,5% (6) no grupo II. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p = 0.032$, teste de Fisher). Não foram observadas correlações entre sua prevalência e razão e tempo de internação. Todas as amostras de MRSA dos dois grupos apresentaram resistência à penicilina G. No grupo I, duas amostras de MRSA foram resistentes a todos os antibióticos, inclusive a vancomicina, nove foram resistentes à eritromicina e sete à clindamicina. No grupo II, duas amostras de MRSA foram resistentes à eritromicina e duas à clindamicina. Dessa forma, conclui-se que os pacientes internados em UTI apresentam uma maior prevalência de MRSA, entretanto não houve correlação entre essa prevalência e a história médica dos pacientes.

Palavras chave: *Staphylococcus aureus*, Unidades de terapia intensiva, criança, *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina.

ABSTRACT

PROCÓPIO, Stefânia Werneck. Prevalência de *Staphylococcus aureus* na cavidade bucal de pacientes pediátricos hospitalizados. Rio de Janeiro, 2018. Dissertação de Mestrado em Odontologia – Área de concentração: Odontopediatria – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

The aim of this study was to evaluate the prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity of patients in an intensive care unit (ICU). We selected 30 patients in the ICU (group I) and 30 healthy patients (group II), aged between 1 and 12 years, matched by sex and age. Initially, medical data collection and intra- and extra-oral examinations were performed. Then, clinical specimens (buccal swab, nostril swab and supragingival biofilm) were collected from both groups to verify the presence of *Staphylococcus aureus*. Identification occurred by growth in Tryptic soy broth with 7.5% NaCl for 48 h, growth on Mannitol salt agar, Gram staining, catalase test and coagulase. The *S.aureus* positive samples were submitted to the antibiogram for evaluation of susceptibility to antibiotics. The results were analyzed statistically through SPSS version 20.0 and compared using the Chi-square test, Fisher's test and Mann-Whitney test. The value of 0.05 was considered statistically significant. Only 36.7% of the patients in the ICU performed oral hygiene during the hospitalization period and more than 40% of patients hospitalized in ICU had thick biofilm. The prevalence of *S. aureus* was 22.5% and 20.4% for ICU and control group, respectively. Nine mouth samples (30%), 6 nostril samples (20%) and 3 biofilm samples (15%) of the ICU group were considered *S. aureus* positive. In the control group, 6 mouth samples (20%), 5 nostril samples (16.7%) and 7 biofilm samples (25%) were positive. In the 36 positive *S. aureus* samples, 44.4% (16) were considered MRSA, 62.5% (10) in group I and 37.5% (6) in group II. This difference was statistically significant ($p = 0.032$, Fisher's test). No correlation was observed between its prevalence and reason and time of hospitalization. All MRSA samples from both groups showed resistance to penicillin G. In group I, two samples of MRSA were resistant to all antibiotics, including vancomycin, nine were resistant to erythromycin and seven to clindamycin. In group II, two samples of MRSA were resistant to erythromycin and two to clindamycin. Thus, we conclude that ICU patients present a higher prevalence of MRSA, but there was no correlation between this prevalence and the medical history of the patients.

Key-words: *Staphylococcus aureus*, Intensive Care Units, Child, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo

Figure 1: Flowchart representative of the identification of *Staphylococcus aureus* 50

Figure 2: Antimicrobial resistance pattern of the *S aureus* samples from pediatric patients hospitalized in Intensive Care Unit (ICU) and healthy children (control group). 51

LISTA DE TABELAS

Artigo

Table 1. Medical data of pediatric patients hospitalized in the Intensive Care Unit (ICU) (group I) (n=30) 49

Table 2: Oral health in pediatric patients hospitalized in the Intensive Care Unit (ICU) patients (group I) and healthy children patients (group II)..... 49

LISTA DE ABREVIATURAS

CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
FO	Faculdade de Odontologia
H	Horas
Ind	Indústria
ICU	Intensive Care Unit
ISNF	Instituto de Saúde de Nova Friburgo
LabPECMA	Laboratório de Pesquisa Clínica, Microbiológica e Análise Química
Ltda	Limitada
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à Meticilina/ methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
mL	Mililitro
N	Tamanho da amostra
NaCl	Cloreto de sódio
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Spp	Espécies
SP	São Paulo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TSB	Tryptic Soy Broth
UFC	Unidade formadora de colônias
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
µg	Micrograma
µl	Microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

°	Graus
=	Igual
®	Marca registrada
%	Porcentagem
p	Nível de significância
N	Tamanho da amostra

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 PROPOSIÇÃO	24
2.1 Objetivo Geral.....	24
2.2 Objetivos específicos.....	24
3 DELINEAMENTO DA PESQUISA	25
3.1 Desenho do estudo.....	25
3.2 Recrutamento dos participantes	25
3.3 Tamanho da amostra.....	26
3.4 Coleta dos dados e exames	26
3.4.1 Coleta dos espécimes clínicos.....	27
3.5 Análises laboratoriais.....	27
3.5.1 Identificação das cepas	28
3.6 Análises estatísticas	31
4 DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA.....	32
4.1 Artigo - Prevalence of methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) in the oral cavity of hospitalized pediatric patients	33
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
6 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXOS	58
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	62
Apêndice B - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO -	64
Apêndice C – Ficha Clínica.....	66

1 INTRODUÇÃO

A promoção de saúde bucal em ambiente hospitalar visa a assistência integral e mais humanizada do paciente hospitalizado, com o objetivo de proporcionar conhecimento e/ou motivar os pacientes e seus acompanhantes na geração de bons hábitos (MATTEVI et al., 2011). Muitas vezes, esses pacientes encontram-se dependentes de cuidados médicos especiais, fato que pode impossibilitar a manutenção de uma higiene bucal adequada (RABELO, QUEIROZ e SANTOS, 2010; LIMA et al., 2011).

A ausência de atenção com a saúde bucal pode gerar um aumento na quantidade e complexidade do biofilme dentário (ARAÚJO et al., 2009), o que pode interferir na condição sistêmica do paciente. Isso porque a cavidade bucal é um importante reservatório de microrganismos, compreendendo cerca de 700 espécies de bactérias, fungos e protozoários, incluindo espécies orais residentes e importantes patógenos como *Pseudomonas* spp, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Candida* spp (MORAIS et al., 2006; ZUANAZZI et al., 2009; MAHMOUDABADI et al., 2015; DA COLLINA et al., 2017).

O *S. aureus* é considerado um patógeno humano oportunista, frequentemente associado a infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar. As infecções mais comuns envolvem o tecido epitelial (celulite, impetigo) e feridas em sítios diversos (ANVISA, 2017). Esse microrganismo faz parte da microbiota transitória da pele em até um terço da população em geral, tendo como principais reservatórios os sítios vestíbulo nasal (35%) e a região perineal (20%), além das regiões umbilical e axilar (5% a 10%) (CAVALCANTI et al., 2006).

A despeito do reconhecimento dos estafilococos como patógenos de importância médica há muitos anos, a presença desses microrganismos como componentes da microbiota anfibiônica bucal é ainda uma questão controversa e pouco explorada. Assim, surpreendentemente, estudos sobre a distribuição

dos estafilococos na boca são pouco explorados, em população saudável ou sistemicamente debilitada. Porém, a literatura fornece evidências de que os *S. aureus* podem ser isolados, com certa frequência, da cavidade bucal de grupos particulares de pacientes, como crianças (MIYAKE et al, 1991) e portadores de doenças sistêmica (JOBINS et al., 1992). Assim, parece claro que a cavidade bucal pode representar um reservatório pobremente reconhecido de cepas de estafilococos e que, sob condições apropriadas, pode favorecer a instalação de doenças localizadas ou sistêmicas. Além disso, através da infecção cruzada, sobretudo em ambientes hospitalares, esta bactéria pode se disseminar e contaminar outros sítios corporais e outros pacientes (SMITH, JACKSON e BAGG, 2001; SMITH et al., 2003).

Algumas infecções por *S. aureus* são agudas, podendo disseminar para diferentes tecidos e provocar focos metastáticos. Episódios mais graves, como bacteremia, pneumonia, osteomielite, endocardite, miocardite, pericardite e meningite, também podem ocorrer e podem culminar em óbito do paciente (MATOUSKOVA e JANOUT, 2008; ANVISA, 2017). A pneumonia hospitalar, também conhecida como pneumonia nosocomial ou infecção nosocomial, pode ser definida como aquela que se instala após 48 horas da internação do paciente, e que não estava presente ou incubada no momento da admissão hospitalar. Ela é responsável por 10% a 15% de todas as infecções adquiridas em hospitais e de 20% a 50% dos óbitos dos pacientes que a contraem (MORAIS et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; DA COLLINA et al., 2017).

O estabelecimento da pneumonia nosocomial ocorre a partir da invasão de microrganismos no trato respiratório inferior, por meio da aspiração da secreção presente na orofaringe, através da inalação de aerossóis contaminados, ou ainda por meio da disseminação hematogênica originada de um foco a distância. Dessa forma, o biofilme presente na superfície dos dentes pode ser esse foco e, com isso, influenciar o início e a progressão da infecção. Podendo, ainda, a saliva agir como um veículo para que os microrganismos alcancem os pulmões (PEDREIRA et al., 2009; ZUANAZZI et al., 2009).

O indivíduo portador de *S. aureus* é o maior fator de risco para desenvolvimento de infecções hospitalares e adquiridas na comunidade,

exercendo papel chave na epidemiologia e na patogênese da infecção (CAVALCANTI et al., 2006). Além do dano a saúde do paciente, a pneumonia nosocomial acarreta aumento significativo nos custos hospitalares (MORAIS et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007). Portanto, pacientes internados, diante da possibilidade de desenvolvimento de pneumonia hospitalar, podem representar um grupo de alto risco ao desenvolvimento de infecções graves, se estes estiverem colonizados por *S. aureus* na cavidade bucal.

Além da debilidade sistêmica apresentada por pacientes internados, o uso prévio ou concomitante de antibióticos de largo espectro pode representar um importante fator de risco para o aumento das infecções no ambiente hospitalar. Podem promover a redução das bactérias protetoras, possibilitando a seleção, o crescimento e a colonização de microrganismos patogênicos resistentes e a propagação de infecções (SINGHI, REDDY e CHAKRABARTI, 2004; LOYOLA-RODRIGUEZ et al., 2017). Apesar do objetivo principal do tratamento antimicrobiano ser o de evitar a continuidade da infecção, reduzir a inoculação bacteriana e limitar a propagação para os tecidos e órgãos circundantes (LOYOLA-RODRIGUEZ et al., 2017), as infecções da cavidade oral podem ser consideradas um importante problema de saúde pública, já que são a terceira causa de prescrição antibiótica, que juntamente com a automedicação, são os principais fatores para o aumento no número de bactérias resistentes a antibióticos.

A resistência à múltiplos fármacos tornou-se então uma importante ameaça, que exige uma força motriz para tentar erradicá-la. A presença do *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) faz com isso seja ainda mais preocupante, sendo esse um importante agente patogênico das infecções hospitalares (LOYOLA-RODRIGUEZ et al., 2017). MRSA é responsável por um grande número de infecções em todo o mundo, já que sua resistência à maioria dos antibióticos β -lactâmicos, como as penicilinas, macrolídeos e cefalosporinas, o torna um grande obstáculo ao tratamento clínico (XIA et al., 2013). São considerados grupos de maior risco para colonização e posterior infecção pelo MRSA os pacientes imunodeprimidos, expostos a antibioticoterapia, portadores de doenças crônicas, em uso de cateteres,

idosos, pacientes com histórico de hospitalização ou cirurgia e pessoas em contato com pacientes colonizados ou infectados (CAVALCANTI et al., 2006).

Unidades de terapia intensiva (UTIs) representam a maior fonte de infecção dentro do ambiente hospitalar. Entretanto, a maior parte dos estudos até hoje realizados são em adultos, que por diferenças na idade, condições médicas, tipo e distribuição dos patógenos, não podem ser extrapolados para a população pediátrica (LAKSHMI et al., 2006). Diante disso, torna-se necessário conhecer, por meio de dados consistentes, a prevalência de *S. aureus* na cavidade bucal dos pacientes pediátricos hospitalizados, bem como seu padrão de resistência aos antibióticos, o que pode ajudar no tratamento e na prevenção de possíveis infecções que venham a agravar a condição sistêmica dos mesmos, o que levaria a uma piora no quadro de saúde, ao aumento nos dias de internação e ao aumento do risco de óbito destes pacientes.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a prevalência e o perfil de resistência de cepas de *Staphylococcus aureus* isolados da cavidade bucal de pacientes pediátricos, hospitalizados em UTI.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar a prevalência e distribuição de *S. aureus* na cavidade bucal de pacientes pediátricos hospitalizados em UTI, tendo como locais os sítios: mucosa bucal e biofilme dentário.
- Comparar a prevalência e distribuição de *S. aureus* na cavidade bucal com as narinas anteriores de pacientes pediátricos hospitalizados em UTI.
- Comparar a prevalência e distribuição de *S. aureus* na cavidade bucal e nas narinas anteriores de pacientes pediátricos hospitalizados em UTI, com pacientes clinicamente saudáveis.
- Caracterizar as cepas isoladas quanto ao perfil de susceptibilidade aos diversos antimicrobianos utilizados na clínica médica.

3 DELINEAMENTO DA PESQUISA

3.1 Desenho do estudo

Este estudo observacional do tipo transversal foi conduzido no Hospital Municipal Jesus, Rio de Janeiro, Brasil. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Biologia de Protistas do Instituto de Microbiologia Geral Professor Paulo Góes (Departamento de Microbiologia Geral) da Universidade Federal do Rio de Janeiro e no Laboratório de Pesquisa Clínica, Microbiológica e Análise Química (LabPECMA) do Instituto de Saúde de Nova Friburgo, da Universidade Federal Fluminense. Esse estudo possui aprovação prévia pelo Comitê de ética da Secretaria Municipal de Saúde do município do Rio de Janeiro (CAAE: 54723716.2.3001.5279) – Anexo A. O Hospital Municipal Jesus foi selecionado por ser um hospital pediátrico de referência no Rio de Janeiro e atender as diversas especialidades pediátricas e com maior número de leitos em enfermarias e UTI pediátrica para atendimento hospitalar de crianças.

3.2 Recrutamento dos participantes

A participação dos sujeitos na pesquisa foi voluntária e todos os responsáveis legais receberam esclarecimentos necessários para a realização da pesquisa e assinaram previamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndice A). O termo de assentimento livre e esclarecido também foi assinado por todas as crianças que possuíam capacidade de entendimento e que apresentavam condições físicas que possibilitavam a assinatura (Apêndice B).

Foram incluídos no estudo, os pacientes que apresentavam idade entre 1 e 12 anos, tempo mínimo de internação na UTI de 48h e a presença do responsável legal no momento do exame. Foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram situação clínica muito grave/instável, impossibilitando a realização do exame clínico, bem como aqueles internados para a realização de cirurgias eletivas.

O grupo controle foi pareado por idade e gênero. Foram incluídos nesse grupo pacientes com ausência de doença crônica ou aguda, que estavam no ambulatório do hospital para realização de puericultura/consulta de rotina.

3.3 Tamanho da amostra

A amostra foi censitária e para isso tomou-se por base a taxa de ocupação mensal dos leitos, sendo 100% no Hospital Municipal Jesus. Diante disso, foram examinados todos os pacientes internados por no mínimo 48h na Unidade de Terapia Intensiva desse hospital, durante o período de fevereiro a novembro de 2017. A escolha pela amostra censitária foi feita em razão da baixa rotatividade dos leitos.

3.4 Coleta dos dados e exames

A coleta de dados foi realizada através do preenchimento de uma ficha de identificação (Apêndice C) e anotação dos dados obtidos da anamnese, exame clínico extra e intrabucal e pesquisa aos prontuários médicos. Além disso, também foram anotadas informações a respeito de cuidados adotados pela equipe de saúde e/ou responsável legal com relação aos hábitos de higiene bucal das crianças hospitalizadas.

Exames extra e intraorais foram realizados por um único examinador previamente calibrado, com a criança deitada no próprio leito, com auxílio de espelho bucal, sonda exploradora, gaze e luz ambiente. O exame iniciou com a palpação dos linfonodos em região de cabeça e pescoço, atentando para possíveis alterações de volume e consistência. Na região peribucal foram avaliadas alterações nas comissuras labiais, nariz, bochecha e região mentoniana. Para o exame intra bucal foram examinados sistematicamente: lábios, fundo de vestíbulo, palato duro, palato mole, assoalho de boca, língua, mucosa jugal e gengivas. Ainda, o biofilme dentário foi avaliado para obtenção do índice de biofilme de acordo com os critérios de RIBEIRO et al. (2002), assim como os elementos dentários presentes para obtenção dos índices de cárie (ceo/CPOD) (OMS, 1987).

A história médica (diagnóstico, motivo da internação, tempo de internação, episódios de internação e uso de medicamentos) foi obtida através da pesquisa aos prontuários médicos dos respectivos pacientes.

3.4.1 Coleta dos espécimes clínicos

Os espécimes clínicos (narina, mucosa bucal e biofilme supragengival) foram coletados por um único pesquisador, no período da manhã, com no mínimo 2h após a refeição. Para a coleta na narina, foram realizados esfregaços utilizando um SWAB[®] estéril. Para a mucosa bucal, esfregaços foram realizados na língua, bochechas, palato, assoalho da boca e mucosas jugal, utilizando também um SWAB[®] estéril (CB Products Ind. e Com. LTDA). Para coleta do biofilme supragengival foram utilizadas curetas dentinárias nº20 (Duflex[®]) estéreis, sobre a superfície dentária vestibular (região cervical), até que a mesma estivesse completamente preenchida. Todos os espécimes foram colocados em tubos de ensaio estéreis individuais, com tampa, contendo 3mL de caldo soja tripticaseína (Tryptic Soy Broth – TSB - BD[™], Maryland, Estados Unidos da América) e 7,5% de NaCl (caldo TSB salgado). Os tubos foram identificados com o número do paciente e origem da amostra. Todos os espécimes clínicos coletados foram mantidos em um isopor com gelo seco e transportados para o Laboratório de Biologia de Protistas do Instituto de Microbiologia Geral Professor Paulo Góes (UFRJ) em um intervalo máximo de 2 horas para armazenamento e para subsequentes análises.

Após os exames e a coleta dos espécimes clínicos, os cuidadores receberam orientações quanto aos cuidados com a saúde bucal das crianças. Responsáveis das crianças que necessitavam de tratamento odontológico foram orientados para se encaminhar a Clínica de Odontopediatria da FO-UFRJ após alta hospitalar.

3.5 Análises laboratoriais

No Laboratório de Biologia de Protistas do Instituto de Microbiologia Geral Professor Paulo Góes (UFRJ), os tubos de ensaio contendo os espécimes clínicos coletados foram levados ao vórtex por 1 minuto a fim de

soltar as células aderidas ao swab e para a solubilização do biofilme. Após, foram incubados aerobicamente em estufa a 37°C por 48 horas. Passado esse período, as amostras com crescimento (meio de cultura turvo) foram então estocadas a -70°C em de glicerol estéril, para uma concentração final de 12% (p/v), sendo que este foi usado para ajudar a manter a viabilidade das células.

3.5.1 Identificação das cepas

As amostras recebidas no LabPECMA (ISNF/UFF) foram semeadas em caldo TSB e incubadas durante 18h, sob agitação de 250rpm, a 37°C. A seguir, 100µL da cultura foi semeada, através da técnica de esgotamento, na superfície de um ágar manitol salgado (BD™, Maryland, Estados Unidos da América), para a detecção de colônias isoladas de *S. aureus*. As placas foram incubadas a 37°C por 24h. Uma colônia manitol positiva, com característica morfológica de *S. aureus*, foi inoculada em um caldo TSB e a cultura incubada a 37°C por 18h.

Em seguida, as amostras foram identificadas através dos procedimentos laboratoriais de rotina, como coloração pelo método do gram, e análise da produção de catalase e coagulase.

COLORAÇÃO DE GRAM

A partir das culturas foram feitos esfregaços, para análise quanto à classificação pelo método do Gram. Esse método permite diferenciar bactérias com diferentes estruturas de parede celular a partir das colorações que estas adquirem após tratamento com agentes químicos específicos. O método consiste em tratar sucessivamente um esfregaço bacteriano, fixado pelo calor, com os reagentes: cristal violeta, lugol, etanol e fucsina básica. As bactérias que adquirem a coloração azul violeta são chamadas de *Gram-positivas* e aquelas que adquirem a coloração vermelho são chamadas de *Gram-negativas*. O procedimento consistiu em (i) Confeccionar o esfregaço; (ii) Corar com cristal de violeta por 60 segundos; (iii) Lavar com esguicho de água destilada; (iv) Cobrir com Lugol por 60 segundos; (v) Lavar com esguicho de

água destilada; (vi) Descorar com álcool a 95% durante 10-20 segundos; (vii) Lavar com esguicho de água destilada; (viii) Corar com fucsina por 20 segundos; (ix) Lavar com água destilada, secar e observar ao microscópio.

TESTE DE PRODUÇÃO DA CATALASE

As amostras Gram-positivas foram submetidas ao teste da catalase. O teste consiste na detecção de catalase em bactérias, servindo essencialmente para a distinção entre estafilococos e estreptococos. Uma gota de peróxido de hidrogênio a 3% (v/v) foi depositada em uma lâmina de microscópio; Em seguida, uma alçada da amostra foi colocada sobre esta gota de peróxido de hidrogênio; Foi observado então, o aparecimento de bolhas, sinal indicativo que o microrganismo é catalase-positivo (possui catalase, caso dos estafilococos), a não formação de bolhas indica que o microrganismo é catalase-negativo (estreptococos). As bolhas são formadas pelo oxigênio molecular libertado na reação da catalase com o peróxido de hidrogênio. As culturas catalase positivas (com desprendimento ou formação de bolhas) foram então analisadas quanto ao teste da coagulase em tubo, as cepas catalase negativas foram descartadas.

TESTE DA COAGULASE

Este teste tem a finalidade de verificar se o microrganismo produz a enzima coagulase (ou fator aglutinante) livre e ligada, que, reagindo com um fator plasmático, forma um complexo que atua no fibrinogênio do plasma formando a fibrina. Foi realizado com o Coagu-plasma (Laborclin, São Paulo-SP) seguindo as normas do fabricante. As amostras, Gram e catalase positivas, foram colocadas em meio TSB durante 24h, para se tornarem ativas. Então, após obter uma boa turvação, 0,5 ml do caldo com crescimento foram adicionados a 0,5 mL de coagu-plasma hidratado em um tubo de ensaio estéril; Os tubos foram então incubados a 37°C, sendo suavemente inclinados a cada 30 minutos nas 4h iniciais, para observar a formação de coágulo. As amostras

em que não houve a formação do coágulo permaneceram na estufa durante 24h. As amostras Gram, catalase e coagulase-positivas foram identificadas presuntivamente como *S. aureus* e testadas para a susceptibilidade antimicrobiana.

TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

Para avaliação da susceptibilidade às drogas, foi utilizada a técnica de difusão em meio sólido a partir de discos impregnados com antimicrobianos, de acordo com as recomendações do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute- CLSI (2016). A amostra classificada como *S. aureus* foi cultivada em 3mL de TSB por 24h a 37° C. A partir dessa cultura, foi preparado um inóculo em salina estéril, com densidade semelhante ao tubo 0,5 da escala McFarland ($10^8 - 10^9$ UFC/mL). O inóculo padronizado foi espalhado, homogeneamente, com auxílio de um swab estéril, em placas contendo Agar Mueller-Hinton (Merk), de modo a se obter crescimentos confluentes. Os discos contendo os antimicrobianos foram aplicados em seguida sobre a superfície semeada e incubados por 18h a 37° C. Em seguida, foram medidos os diâmetros dos halos de inibição do crescimento. Os discos utilizados foram: penicilina G (10U), gentamicina (10 µg), Rifampicina (10 µg), tetraciclina (30 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2µg), ciprofloxacina (5 µg), vancomicina (30µg) e cefoxitina (30 µg).

Os microorganismos padrões *S. aureus* (ATCC 29213), que apresenta expressão mais homogênea de resistência à meticilina, e (ATCC 25923), previamente conhecida como sensível à meticilina, foram utilizados para controle e acuracidade dos testes. Todas as amostras foram testadas em duplicata, e a média dos valores dos halos de inibição foi calculada.

CONSIDERAÇÕES IMPORTANTES:

Das crianças que apresentarem resultados positivos para cepas de estafilococos resistentes à meticilina:

- A)** Os responsáveis pelas crianças identificadas como portadoras de cepas de estafilococos resistentes à meticilina receberão notificação de sua condição, bem como seu médico;
- B)** Será avaliada, em conjunto com o médico responsável pelo atendimento à criança, a necessidade do uso de antimicrobianos e antissépticos nessas crianças, para sua descolonização;
- C)** Caso essa criança precise de atendimento odontológico, somente após sua descolonização este tratamento poderá ser efetuado, para evitar a contaminação cruzada deste patógeno.

3.6 Análises estatísticas

Os dados foram analisados estatisticamente através do Programa Estatístico SPSS versão 20.0. Os testes do Qui-quadrado e Teste de Fisher foram utilizados para comparações entre os grupos e correlações, quando conderadas as variáveis: realização de higiene bucal, índice de biofilme, presença de *S.aureus* e MRSA, presença de resistência aos antibióticos e motivo de internação. Para correlações envolvendo o tempo de internação, utilizou-se o teste de Mann-Whitney. O valor de 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

4 DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

Artigo: Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity of hospitalized pediatric patients

4.1 Artigo - Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity of hospitalized pediatric patients

Authors: Stefânia Werneck Procópio¹; Apoena de Aguiar Ribeiro²; Karla Magnan Miyahira¹; Estéfano Borgo Sarmiento²; Maristela Barbosa Portela³., Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro¹

¹ Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

² Divisions of Pediatric Dentistry and Cariology, School of Dentistry, Universidade Federal Fluminense, Nova Friburgo, RJ, Brazil.

³ Department of Dental Clinic, School of Dentistry, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil.

Correspondence Author – Gloria Fernanda Barbosa de Araujo Castro

Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia - UFRJ

Cidade Universitária - CCS

CEP: 21941-971 - Rio de Janeiro – RJ – Brazil

E-mail: gfbacastro@yahoo.com.br

Fax/phone: +5521 39382101

Abstract

Objective: To assess to prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity of an intensive care unit (ICU) hospitalized pediatric patients.

Methods: 30 ICU patients (group I) and 30 healthy patients (group II), aged between 1 and 12 years, matched by sex and age, were selected. Initially, medical data collection and intra and extra-oral examinations were performed. Then, clinical specimens (nostril swab, mucosal swab and supragingival biofilm) were collected from both groups to verify the presence of *Staphylococcus aureus*. Identification occurred by growth in Tryptic Soy Broth with 7.5% of NaCl for 48h, growth in Mannitol salt agar, Gram staining, catalase test and coagulase. *S.aureus* positive samples were submitted to the antibiogram for evaluation of susceptibility to antibiotics.

Results: Only 36.7% of patients in the ICU perform oral hygiene during the hospitalization period and more than 40% of ICU patients presented greater biofilm quantity. The prevalence of *S aureus* was 43.3 (13) and 50.0 % (15) for patients from ICU and control group, respectively. Nine mouth samples (30%), 6 nostril samples (20%) and 3 biofilm samples (15%) of the ICU group were considered as positive *S. aureus*. In control group, 6 mouth samples (20%), 5 nostril (16,7%) and 7 (25%) biofilm samples were positive. In the 36 *S. aureus* positive samples, 44.4% (16) the prevalence of MRSA in group I 62.5% was significant higher than in group II (37.5%) in group II ($p=0.032$, Fisher test). No correlations were observed between its prevalence and reason and time of hospitalization. All MRSA samples from both groups showed resistance to penicillin G. In group I, two samples of MRSA were resistant to all antibiotics, including vancomycin, nine were resistant to erythromycin and seven to clindamycin. In group II, two samples of MRSA were resistant to erythromycin and two to clindamycin

Conclusions: The prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity of an intensive care unit (ICU) hospitalized pediatric patients was high but no correlation between this prevalence and medical data was found.

Introduction

Nosocomial infections are major causes of morbidity and mortality among hospitalized pediatric patients, especially those in the intensive care unit (ICU) (ZUANAZZI et al., 2009). Scientific research reports a positive association between hospitalized patient's health and their oral condition (MORAIS et al., 2006) and often, pediatric patients in ICU present poor oral hygiene due to the impossibility of self care (LIMA et al., 2010).

Bacterial multidrug resistance has thus become a major threat, requiring a driving force to try to eradicate it. The emergence and spread of multiresistant strains of *S. aureus*, both in hospitals and in the community, is a reflection of an accelerated bacterial evolution, induced in great part by the selective pressure resulting from the immense amount of antimicrobial agents applied in the global environment (OLIVEIRA, TOMASZ, DE LENCASTRE, 2002). Due to this and other factors, such as the advancement of therapeutic and diagnostic techniques, the intrinsic characteristics of the patients (including an increase in the population presenting extremes of age and of patients with immunosuppression or other underlying diseases) and the virulence factors of these microorganisms (such as biofilm production), MRSA became the main hospital pathogen in terms of the incidence and severity of infections (LOYOLA-RODRIGUEZ et al., 2017).

MRSA is responsible for a large number of infections worldwide, since its resistance to most β -lactam antibiotics, such as penicillins, cephalosporins and carbapenems, makes it a major obstacle to clinical treatment (XIA et al., 2013). Healthcare-associated MRSA (HA-MRSA) is related to prolonged length of hospital stay and is currently one of the most frequently identified pathogens in hospitals in many parts of the world. (GOULD et al., 2012). Furthermore, Community-acquired MRSA (CA-MRSA) has demonstrated an extraordinary ability to spread, causing serious infections in healthy individuals from the community (RIBEIRO et al, 2005). Hence, reports of the emergence of this highly differentiated have been issued in the United States, Brazil, Europe (France, Spain, Latvia, Swiss, Belgium), Taiwan, New Zeland and Australia (CHEN et al., 2005; DENIS et al., 2006; LIASSINE et al., 2004; MIKLASEVICS

et al., 2004; RIBEIRO *et al.*, 2005; RUBIO *et al.*, 1999; VANDENESCH *et al.*, 2003).

The oral cavity is an important reservoir of microorganisms, comprising more than 700 species of bacteria, fungi and protozoa, including resident oral species and important pathogens such as *Pseudomonas* spp, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Candida* spp (MORAIS *et al.*, 2006; ZUANAZZI *et al.*, 2009; MAHMOUDABADI *et al.*, 2015; DA COLLINA *et al.*, 2017). This poorly recognized reservoir of strains of staphylococci, under appropriate conditions, can promote localized or systemic diseases. In addition, through cross infection, especially in hospital settings, this bacterium can spread and contaminate other body sites and other patients (SMITH, JACKSON e BAGG, 2001; SMITH *et al.*, 2003). Previously it was shown that this microorganism is frequently isolated from the oral cavity of particular groups of patients, such as children (MIYAKE *et al.*, 1991) and patients with systemic diseases (JOBINS *et al.*, 1992).

Thus, it seems clear that the oral cavity might represent a poorly recognized reservoir of strains of staphylococci and that, under appropriate conditions, could favor the installation of localized or systemic diseases. Also, MRSA in the oral cavity could potentially be disseminated by carriers to the environment or to other individuals. The aim of the present study is to evaluate the prevalence and resistance profile of strains of *Staphylococcus* sp. isolated from the oral cavity of pediatric patients hospitalized in ICU, and compare this prevalence with healthy children from the same age and gender.

Materials and methods

Study design

This research was designed as a Cross-sectional, observational and laboratory study.

Participants and recruitment

This study was carried out with children hospitalized in the ICU (group I) of a public pediatric hospital in Rio de Janeiro (Hospital Municipal de Jesus). The Research Ethics Committee gave the approval of the present study (CAAE: 54723716.2.3001.5279). Participation in the study was voluntary, and the parents/legal guardians received information regarding the exam and sample collection. Informed written consent was obtained from all participating parents/legal guardians and children who were able to understand expressed their consent. All the patients admitted to ICU during February 2017 to November 2017 were considered for sampling.

A total of 30 patients was obtained for group I, and the inclusion criteria were: (a) age between 01 and 12 years; (b) minimum length of stay in the ICU of 48 hours; The exclusion criteria was children with a very serious medical condition with life-threatening.

For comparing the clinical and microbiological data found in ICU patients, 30 patients with no chronic or acute disease (Control group - group II) were selected, in the outpatient clinic of the same hospital matched by age and gender, according to previously selected ICU patients.

Collection of data and exams

Data collection of all patients about anamnesis, clinical examination, extra and intrabuccal examination and medical records were recorded, and also the information regarding the performance of oral hygiene by the health team and / or legal guardian. The extra and intraoral exams were performed with the child lying on the hospital bed, by a single examiner previously calibrated, using a mouth mirror, exploratory probe, gauze and ambient light.

Dental biofilm was evaluated to obtain the biofilm index according to the criteria of RIBEIRO et al. (2002), as well as the dental elements present to obtain caries indexes (ceo / DMFT) (WHO, 1987) and to verify the necessity of dental treatment. The medical history (diagnosis, reason for hospitalization,

hospitalization time and medication use) was obtained from the medical records of the respective patients.

Collection of clinical specimens

The clinical specimens (nostrils, oral mucosa and supragingival biofilm) were collected by a single investigator in the morning, at least 2 hours after the last meal. For the nostrils, smears were performed using sterile SWAB® (CB Products Ind. And Com. LTDA). For oral mucosa, smears were performed on the tongue, cheeks, palate, floor of the mouth and jugal mucosa, using a sterile SWAB®. For collection of the supragingival biofilm, sterile excavators # 20 (Duflex®) were used on the buccal surface of the teeth (cervical region) until it was completely filled. All specimens were placed in individual, capped sterile test tubes containing 3mL of Tryptic Soy Broth (TSB-BDTM, Maryland, USA) and 7.5% NaCl (salted TSB broth) . The tubes were identified with the patient number and sample source. All clinical specimens collected were kept in a styrofoam with dry ice and transported to the laboratory within a maximum interval of 2 hours for storage and subsequent analyzes.

After the examinations and the collection of the clinical specimens, the caregivers received guidance on their children's oral health care and, for those in need of dental treatment, they were referred to the Pediatric Dentistry Clinic after discharge from hospital.

Laboratory analysis

The test tubes containing the collected clinical specimens were vortexed for 1 minute in order to release the cells adhered to the swab and biofilm solubilization. Afterwards, they were incubated aerobically at 37°C for 48 hours. After this period, positive growth was stored at -70°C in sterile glycerol to a final concentration of 12% (w/v).

Identification of strains

To obtain the isolated colonies, a 100µL aliquot of the culture grown in TSB was streaked for isolation on Mannitol salt Agar (BDTM, Maryland, United States of America). The plates were incubated at 37°C for 24 h. A positive colony on manitol agar, with a morphological character of *S. aureus*, was inoculated in a TSB broth and the culture incubated at 37⁰ C for 18h. The isolates were then evaluated at Gram coloring test, catalese and coagulase production. Gram positive coccus in chain, catalase and coagulase positive, isolated from Mannitol Salt Agar, were then identified as *S. aureus*.

Antimicrobial susceptibility tests

Disk-diffusion tests were performed according to CLSI recommendations (2016),, using disks containing the following antimicrobial agents: penicillin G (10U), gentamicin (10µg), rifampicin (10µg), tetracycline (30µg), erythromycin (15µg), clindamycin (2µg), ciprofloxacin (5µg), vancomycin (30µg) and cefoxitin (30 µg). *S. aureus* ATCC 25923 and ATCC 29213 were used for quality control purposes. All samples were tested in duplicate, and the mean values of inhibition halos were calculated.

Those parents/guardians responsible for children identified as having methicillin-resistant *Staphylococcus* strains will receive notification of their condition, as well as their physician. The need for the use of antimicrobials and antiseptics in these children for decolonization will be evaluated together with the physician responsible for the care of the child.

Statistical analysis

Data were analysed by SPSS Statical (version 20.0). Qui-square and Fisher tests were used to comparisons between groups and correlations when considered oral hygiene, dental biofilm, *S aureus* prevalence, presence of antimicrobial resilstance and reason for hospitalzation. For correlatios involving

hospitaliation time, the Mann Whitney test was used. The .05 was considered significant.

Results

Of the total of 60 patients, 30 from the ICU patients (group I) and 30 from the outpatients (group II - Control), 56.7% were male and the mean age was 5.23 ± 3.95 years in both groups. Considering only the group of patients in ICU (Table 1), the majority of patients (33.3%) presented as a diagnosis neurological disorders, however the more frequent reason for hospitalization was the acquisition of bacterial infection (26.7%). All patients used medication, being the most used the antimicrobials (83.3%). The average time of hospitalization of these patients was 44 days.

Hygiene habits, as well as biofilm indexes and chlorhexidine use of ICU in both groups are presented in Table 2. Only 36.7% of patients in the ICU perform oral hygiene during the hospitalization period. In relation to dental biofilm, for comparisons between groups, the biofilm index was recoded to fine, when the scores were 1 or 2 and thick when the scores were 3,4 or 5. Although no significant difference between groups was found ($p = 0.08$), more than 40% of ICU patients presented greater biofilm quantity. Important to note that in 6 ICU patients, it was not possible to evaluate the biofilm index due to the absence of teeth.

Figure 1 shows the flowchart of *Staphylococcus aureus* isolation and identification, according to the clinical environment. However, biofilm samples in ICU group was lower ($n=20$) since 6 patients had no teeth, and in 4 cases, the biofilm sample was not sufficient for processing. Samples needed to be positive in all tests to be considered *S. aureus* positive. At end, the prevalence of *S. aureus* was 22.5% and 20.4% for ICU and control group, respectively. Nine (9) mouth samples (30%), 6 nostril samples (20%) and 3 biofilm samples (15%) of the ICU group were considered as positive *S. aureus*. In control group, 6 mouth samples (20%), 5 nostril (16,7%) and 7 (25%) biofilm samples were positive. There was no significant difference between groups

After the identification, *S. aureus* positive samples were evaluated for susceptibility to antibiotics. Figure 2 shows the resistance of the samples in each group. It can be observed that for all antibiotics tested, but penicillin G, the resistance of the strains from ICU patients was higher than in the control group, however there was no significant difference. Only one sample in group I (mouth swab) and one sample in group II (biofilm) were sensitive to penicillin G, demonstrating the high resistance to this drug. In ICU patients, two samples (mouth swab and biofilm) were resistant to all drugs tested and only in this group, the resistance to vancomycin was observed.

The identification of MRSA is linked to resistance to ceftazidime. In the 36 *S. aureus* positive samples, 44,4% (16) were considered MRSA, being 68.75% (11) in group I and 31.25% (5) in group II. This difference was statistically significant ($p=0,32$, Fisher test). The colonization rates of it in the oral cavity, nasal cavity, and biofilm sites in the ICU patients were 31.25%, 12.5%, and 18.75%, respectively, and 18.75%, 6.25%, and 12.5%, respectively, for control group. All MRSA samples ($n = 16$) showed resistance to penicillin G. In the ICU group nine samples of MRSA were resistant to erythromycin and seven resistant to clindamycin. In the control group, two MRSA samples were resistant to erythromycin and two to clindamycin. In smaller numbers, MRSA samples were resistant to other antibiotics, including Vancomycin.

Considering only patients from the ICU group ($n=30$), no correlations were found between *S. aureus* prevalence in the oral cavity, nostril or biofilm and the time or reason for hospitalization.

Discussion

The present study shows that ICU hospitalized patients presented a higher frequency and quantity of dental biofilm, according to biofilm index. This difference between the outpatients patients may be related to hygiene deficiency during the days of hospitalization (MORAIS et al., 2006; ARAUJO et al., 2009). It is known that the amount of dental biofilm increases according to

the increase of days in hospital which can lead to the emergence of new infections (MORAIS et al., 2006).

Chlorhexidine is effective in controlling the dental biofilm due to its antifungal and bactericidal action, being able to eliminate gram-positive and gram-negative bacteria (OSMAN, 2014; WILLIAMS et al., 2012). It also reduces the incidence of nosocomial pneumonia in hospitalized patients, due a relationship between dental plaque colonization and respiratory pathogens, which could be very important for these patients (DARVISHI, 2014; ZHANG & TANG, 2014), however, there is no specific protocol of its use for ICU patients. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recommends the use of chlorhexidine only for oral hygiene in patients in the perioperative period of cardiac surgery (ANDREWS & STEEN, 2013; MUNRO & RUGGIERO, 2014). But this practice should be introduced as an option for hygiene oral care in ICU patients, mainly in children, which could prevent the accumulation of dental biofilm in the oral cavity. Although it is an important antiseptic for hospitalized patients, in our study, we founded that only 11 (36,7%) of the 30 ICU patients received this care by the medical team.

The oral cavity is an important reservoir of microorganisms including resident oral species and important pathogens such *S. aureus* (ZUANAZZI et al., 2009). This microorganism is a major human pathogen that occurs in many different types of infections of the human body. Infections caused by *S. aureus* differ in their severity, ranging from relatively mild conditions such as skin and soft tissue infections, to more severe diseases that include osteomyelitis, necrotizing pneumonia, surgical-site infection, and bacteremia/sepsis leading to endocarditis, septic shock, and septic arthritis (KIM & LEE, 2015).

S. aureus is also the most common cause of nosocomial infections and opportunistic infections (KIM & LEE, 2015) and in this study, we identified *S. aureus* in our both groups of patients. Although the prevalence of this microorganisms in immunocompromised or hospitalized patients is more common, the number of *S. aureus* positive samples in our control group was the same as in the ICU group (n=18). We believe that this fact occurred due to the non-collection of ten biofilm samples from patients in the ICU due to the

absence of teeth or insufficient quantity for analysis, since most of the positive samples (n = 7) of the control group were found in the samples of biofilm .

Among the *S. aureus*, *S. aureus* methicillin-resistant (MRSA) is most noteworthy because it is responsible for an increase number of hospital and community acquired infections worldwide and because of its association with multidrug resistance (WU et al., 2017). Colonization by *S. aureus*, especially involving multiresistant strains, by hospitalized patients and health professionals, represents a serious problem for public health (SCOTT, BLOOMFIELD, 1990). Another feature, which contributes to their persistence in hospitals, is the ability of these strains to survive for long periods of time outside the human body (KRAMER, SCHWEBKE, KAMPF, 2006). Studies on the characteristics of the biofilm formed by *S. aureus* revealed that these strains are able to persist for up to 7 months on dry inanimate surfaces, especially if these surfaces are plastic (KRAMER, SCHWEBKE, KAMPF, 2006; SCOTT, BLOOMFIELD, 1990). These data become extremely relevant when in hospitals where hand contact surfaces are often contaminated with nosocomial pathogens and represent important vectors of cross-transmission. In our study, the identification of MRSA was due to the presence of resistance to the antibiotic ceftazidime. Methicillin was not used because of the occurrence of false negative in several studies. According to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2016) ceftazidime has a molecular structure similar to methicillin and can be used for screening for MRSA. We identified MRSA in samples from mouth swab, nostril swab and biofilm. Although there was no significant difference between colonization sites, it was observed that the highest number of *S. aureus* positive was found in mouth swab samples.

MRSA is responsible for a large number of infections worldwide, since its resistance to most β -lactam antibiotics, such as penicillins, macrolides and cephalosporins, makes it a major obstacle to clinical treatment (XIA et al., 2013). Penicillins and macrolides are considered the most commonly prescribed classes of antibiotics for children (BONT et al., 2013). Because they are widely used in medical practice, the high resistance found to Penicillin G and erythromycin, in MRSA or not, can be explained.

A relevant result we found is that in our ICU patients, two samples were resistant to all antibiotics evaluated, including Vancomycin. Vancomycin is a glycopeptide antibiotic used to treat bacterial infections. It does not present action on Gram-negative bacteria, mycobacteria and fungi, being active on Gram-positive. Vancomycin resistance is a growing problem, particularly in places such as hospitals. Since vancomycin is a last generation antibiotic for several infections by gram-positive bacteria, the appearance of resistance can produce morbidity and mortality similar to infections that occurred in the before antibiotics became available (SMITH et al., 1999).

Our study provides important and surprising observations on the presence of MRSA in the oral cavity. To the best of our knowledge, this is the first study in the literature that evaluates the distribution of MRSA in the oral cavity of hospitalized children (HA-MRSA) and compares these data with clinically healthy children (CA-MRSA). The epidemiology of HA-MRSA infections shows a frequent association of these strains with serious hospital infections and guarantees to this bacterium a recognition as a serious global public health problem (COIMBRA et al., 2003). Regarding the CA-MRSA strains, observed in patients with no previous history of antibiotic use and hospitalizations, our study corroborates previous findings that there is no predilection for sex or age. The literature has a report of CA-MRSA infections involving children, young adults, and the elderly, of both sexes (SAID-SALIM, MATHEMA, KREISWIRTH, 2003). However, some studies have demonstrated an association with patients from less-favored social classes, such as minority groups (DUFOUR et al., 2002; EADY, COVE, 2003), which may explain the high prevalence found here in this study, since the children in the control group (group II) were those treated in the state public health network.

Resistance to multiple drugs, including Vancomycin, is a concern and can be considered a public health problem, as an increase in the number of resistant bacteria. This resistance is very rare and the PCR is needed to prove it. So, one limitation of our study is the absence of PCR to confirm this resistance pattern. The small sample size is also a limitation. Nevertheless, the results of our study show the importance of considering the oral cavity as a reservoir for *S. aureus* and, thus, the presence of this bacteria should be closely monitored

by the healthcare team, specially with the presence of a dental surgeon as a member of the multidisciplinary team in a hospital environment and in Intensive Care Units.

Acknowledgment

The present work was supported by a grant from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ; E-26/111.500/2012). E.B.S. had a fellowship from FAPERJ (E-26/103.260/2012).

References

ANDREWS, T; STEEN, C. A review of oral preventative strategies to reduce ventilator-associated pneumonia. **Nurs Crit Care**, v.18, n.3, p.116-122, 2013.

ARAUJO, R.J.G. et al. Análise das percepções e ações de cuidados bucais realizados por equipes de enfermagem em unidade de tratamento intensivo. **Rev Bras Ter Intensiva**, v.21, n.1, p.38-44, 2009.

BONT, E.G.P.M. et al. Oral and topical antibiotic prescriptions for children in general practice. *Arch Dis Child*, v.98, p.228-231, 2013.

CHEN, C. et al. Clinical features and genotyping analysis of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Taiwanese children. **Pediat Infect Dis J**, v.24, p.40-45, 2005.

COIMBRA, M.V.S. et al. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large geographic area of the United States. **J Hosp Infect**, v.53, p.103-110, 2003.

DA COLLINA, G.A. et al. Oral hygiene in intensive care unit patients with photodynamic therapy: study protocol for randomised controlled trial. **Trials**, v.18, n.1, p.1-9, 2017.

DARVISHI, K.H.T.H. Evaluation effect of chlorhexidine mouth wash on the VAP. Pathogenesis, incidence and mortality. **Arak Med Univ J**, v.17, n.91, p.41-49, 2014.

DENIS, O. et al. In vitro activities of ceftobiprole, tigecycline, daptomycin, and 19 other antimicrobials against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from a national survey of Belgian hospitals. **Antimicrob Agents Chemother**, v.50, p.2680-2685, 2006.

DUFOUR, P. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. **Clin Infect Dis**, v.35, p.819-824, 2002.

EADY, E.; COVE, J.H. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* – an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. **Curr Opin Infec Dis**, v.16, p.103-124, 2003.

GOULD, I.M. et al. New insights into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance. **Int J Antimicrob Agents**, v.38, n.2, p.96-104, 2012.

KIM, G.Y.; LEE, C.H. Antimicrobial susceptibility and pathogenic genes of *Staphylococcus aureus* isolated from the oral cavity of patients with periodontitis. **J Periodontol Implant Sci**, v.45, n.6, p.223-228, 2015.

KRAMER, A.; SCHWEBKE, I.; KAMPF, G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. **BMC Infect Dis**, v.6, n.130, p.1-8, 2006.

LIASSINE, N. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Switzerland contains the Panton-Valentine leukocidin or exfoliative toxin genes. **J Clin Microbiol**, v.42, p.825-828, 2004.

LIMA, D.C. et al. The importance of oral health in the view of in patients. **Ciência &Saúde Coletiva**, v.16, n.1, p.1173-1180, 2011.

LOYOLA-RODRIGUEZ, J.P. et al. Determination and identification of antibiotic-resistant oral streptococci isolated from active dental infections in adults. **Acta Odontol Scand**, p.1-7, 2017.

MAHMOUDABADI, A.Z. et al. Colonization and antifungals susceptibility patterns of *Candida* species isolated from hospitalized patients in ICUs and NICUs. **J Nephropathol**, v.4, n.3, p.77-84, 2015.

MIKLASEVICS, E. et al. Report of the first PVL-positive community acquired MRSA in Latvia. **Euro Mont Arch**, v.9, p. 5-6, 2004.

MIYAKE, Y. et al. Incidence and Characterization of *Staphylococcus aureus* from the Tongues of Children. **J Dent Res**, v.70, n.7, p.1045-1047, 1991.

MORAIS, T.M.N. et al. A importância da atuação odontológica em pacientes internados em Unidade de Terapia intensiva. **Rev Bras Ter Intensiva**, v.18, n.4, p.412-417, 2006.

MUNRO, N.; RUGGIERO M. Ventilator-associated pneumonia bundle: reconstruction for best care. **Adv Crit Care**, v.25, n.2, p.163-175, 2014.

OLIVEIRA, D.; TOMASZ, A.; DE LENCASTRE, H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Lancet Infect. Dis**, v.2, p.180-189, 2002.

OSMAN, M.A.A.R. Oral care practices in Egypt intensive care units – a national survey. **J Periodont Med Clin Pract**, v.1, n.2, p.172-182, 2014.

RIBEIRO, A. A. et al. Relation between biofilm, caries activity and gingivitis in HIV+ children. **Pesq Odontol Bras**, v.16, n.2, p.144-150, 2002.

RIBEIRO, A. et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. **J Clin Microbiol.**, v.43, v.4, p.1985-1988, 2005.

RUBIO, M. et al. Bacteremia by *Staphylococcus aureus*: analysis of 311 episodes. **Enferm Infec Microbiol Clin**, v.17, p.56-64, 1999.

SAID-SALIM B., MATHEMA B. & KREISWIRTH B.N. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v.24, p.451-455, 2003.

SCOTT, E.; BLOOMFIELD, S.F. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. **J Appl Bacteriol**, v.68, p.271-278, 1990.

SMITH, T.L. et al. Emergence of Vancomycin resistance of *Staphylococcus aureus*. **N Engl J Med**, v.340, n.7, p.493-501, 1999.

VANDENESCH, F. et al Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. **Emerg Infect Dis**, v.9, p.978-984, 2003.

WILLIAMS D.W. et al. The oral cavity, biofilms and ventilator-associated pneumonia. **Curr Respir Med Ver**, v.8, n.3, p.163-169, 2012.

WU, C.J. et al. Prevalence of and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among human immunodeficient virus–

infected outpatients in Taiwan: oral *Candida* colonization as a comparator. **J Oral Microbiol**, v.9, n.1, p.1-9, 2017.

XIA, J. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotic resistance and virulence. **Biosci Trends**, v.7, n.3, p.113-121, 2013.

ZHANG T.T.; TANG S.S. The effectiveness of different concentrations of chlorhexidine for prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. **J Clin Nurs**, v.23, n.11, p.1461-1475, 2014

ZUANAZZI, D. et al. Prevalence of potential bacterial respiratory pathogens in the oral cavity of hospitalised individuals. **Arch Oral Biol**, v.55, n.1, p.21-28, 2009.

Table 1. Medical data of pediatric patients hospitalized in the Intensive Care Unit (ICU) (group I) (n=30)

Medical data			
	N (%)		N (%)
Reason of hospitalization	30 (100%)	Medications	30(100%)
Surgery	4 (13,3%)	Antibiotic	25 (83,3%)
Bacterial Infection	8 (26,7%)	Anti- inflammatory	7 (23,3%)
Convulsion	7 (23,3%)	Anitihypertensive	8 (26,7%)
Other	11 (36,7%)	Antifungal	0 (0%)
Diagnostic	30 (100%)	Anticonvulsant	16 (53,3%)
Systemic disease/ Chronic	8 (26,7%)	Chemoterapy	0 (0%)
Infection	7 (23,3%)		
Neurological Disorders	10 (33,3%)	Time of hospitalization	Medial (day)
Cancer	5 (16,7%)		44,06

Table 2: Oral health in pediatric patients hospitalized in the Intensive Care Unit (ICU) patients (group I) and healthy children patients (group II)

	Hygiene		Biofilm Index		Chlorhexidine	
	Yes	No	Thin	Thick	Yes	No
UTI (n=30)	11 (36,7%)	19 (63,3%)	14 (58,3%)	10 (41,7%)	11 (39,3%)	17 (60,7%)
Control (n=30)	30 (100%)	0	24 (80%)	6 (20%)	0	30 (100%)

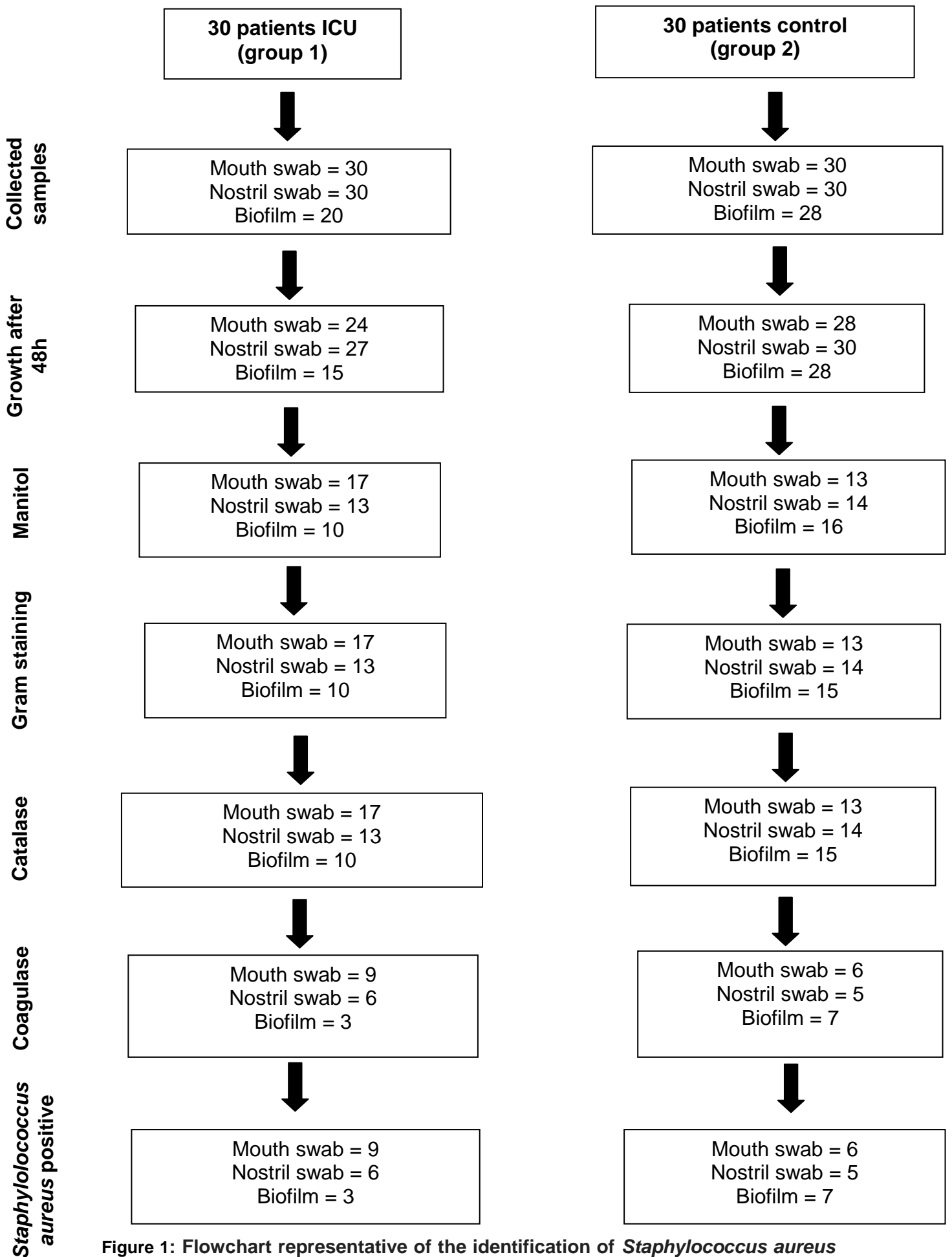


Figure 1: Flowchart representative of the identification of *Staphylococcus aureus*

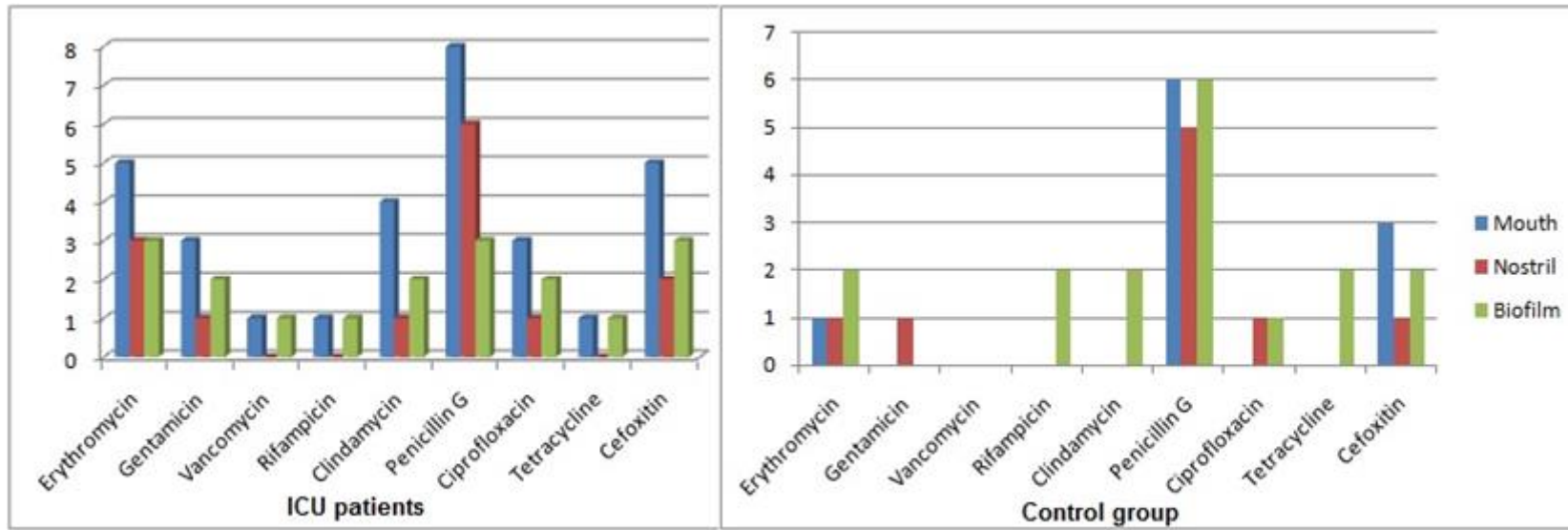


Figure 2: Antimicrobial resistance pattern of the *S aureus* samples from pediatric patients hospitalized in Intensive Care Unit (ICU) and healthy children (control group).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo foi desenvolvido no Hospital Municipal de Jesus, no município do Rio de Janeiro, com o intuito de determinar a prevalência de espécies de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) em pacientes pediátricos internados em UTI. Partimos da hipótese que esses pacientes teriam uma saúde bucal deficiente, devido ao estado de saúde crítico e dificuldade de realizar a higiene bucal e uma elevada prevalência de *Staphylococcus aureus*, o que foi confirmado pelos nossos resultados. Os dados encontrados foram comparados com dados de pacientes saudáveis, entretanto, diferenças significativas entre os pacientes foram obtidas.

Os resultados demonstram a importância da presença de um cirurgião dentista como membro da equipe multidisciplinar em ambiente hospitalar, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva. A partir disso, sugere-se que novos estudos sejam realizados em diferentes hospitais, com metodologia semelhante, bem como aumento da amostra.

6 CONCLUSÕES

A prevalência de *S. aureus* foi de 22,5% para o grupo de pacientes hospitalizados em UTI e de 20,4% para o grupo controle. Nove amostras de boca (30%), 6 amostras de narina (20%) e 3 amostras de biofilme (15%) do grupo I foram consideradas *S. aureus* positivo. No grupo de controle, 6 amostras de boca (20%), 5 amostras de narina (16,7%) e 7 de biofilme (25%) foram positivas.

Nas 36 amostras positivas de *S. aureus*, 44,4% (16) foram consideradas MRSA, sendo 62,5% (10) no grupo I e 37,5% (6) no grupo II. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p = 0,32$). Não foram observadas correlações entre sua prevalência e razão e tempo de internação.

Todas as amostras de MRSA ($n = 16$) apresentaram resistência à penicilina G. No grupo I, nove amostras de MRSA foram resistentes à eritromicina e sete resistentes à clindamicina. No grupo de controle, duas amostras de MRSA eram resistentes à eritromicina e duas à clindamicina. Em menor número, as amostras de MRSA foram resistentes a outros antibióticos, incluindo a Vancomicina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resistência microbiana: mecanismos e impacto clínico. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo3/gramp_staphylo.htm.

ANDREWS, T; STEEN, C. A review of oral preventative strategies to reduce ventilator-associated pneumonia. **Nurs Crit Care**, v.18, n.3, p.116-122, 2013.

ARAÚJO, R.J.G. et al. Análise das percepções e ações de cuidados bucais realizados por equipes de enfermagem em unidade de tratamento intensivo. **Rev Bras Ter Intensiva**, v.21, n.1, p.38-44, 2009.

BONT, E.G.P.M. et al. Oral and topical antibiotic prescriptions for children in general practice. *Arch Dis Child*, v.98, p.228-231, 2013.

CAVALCANTI, S.M.M. et al. Comparative study on the prevalence of *Staphylococcus aureus* imported to intensive care units of a university hospital, Pernambuco, Brazil. **Rev Bras Epidemiol**, v.9, n.4, p.436-446, 2006.

CHEN, C. et al. Clinical features and genotyping analysis of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Taiwanese children. **Pediatr Infect Dis J**, v.24, p.40-45, 2005.

COIMBRA, M.V.S. et al. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large geographic area of the United States. **J Hosp Infect**, v.53, p.103-110, 2003.

DA COLLINA, G.A. et al. Oral hygiene in intensive care unit patients with photodynamic therapy: study protocol for randomised controlled trial. **Trials**, v.18, n.1, p.1-9, 2017.

DARVISHI, K.H.T.H. Evaluation effect of chlorhexidine mouth wash on the VAP. Pathogenesis, incidence and mortality. **Arak Med Univ J**, v.17, n.91, p.41-49, 2014.

DENIS, O. et al. In vitro activities of ceftobiprole, tigecycline, daptomycin, and 19 other antimicrobials against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from a national survey of Belgian hospitals. **Antimicrob Agents Chemother**, v.50, p.2680-2685, 2006.

DUFOUR, P. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. **Clin Infect Dis**, v.35, p.819-824, 2002.

EADY, E.; COVE, J.H. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* – an emerging problem for the

management of skin and soft tissue infections. **Curr Opin Infec Dis**, v.16, p.103-124, 2003.

GOULD, I.M. et al. New insights into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance. **Int J Antimicrob Agents**, v.38, n.2, p.96-104, 2012.

KIM, G.Y.; LEE, C.H. Antimicrobial susceptibility and pathogenic genes of *Staphylococcus aureus* isolated from the oral cavity of patients with periodontitis. **J Periodontol Implant Sci**, v.45, n.6, p.223-228, 2015.

KRAMER, A.; SCHWEBKE, I.; KAMPF, G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. **BMC Infect Dis**, v.6, n.130, p.1-8, 2006.

LAKSHMI, K.S. et al. Study of nosocomial primary bloodstream infections in a Pediatric Intensive Care Unit. **J Trop Pediatr**, v.53, n.2, p.87-92, 2006.

LIASSINE, N. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Switzerland contains the Pantone-Valentine leukocidin or exfoliative toxin genes. **J Clin Microbiol**, v.42, p.825-828, 2004.

LIMA, D.C. et al. The importance of oral health in the view of in patients. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.16, n.1, p.1173-1180, 2011.

LOYOLA-RODRIGUEZ, J.P. et al. Determination and identification of antibiotic-resistant oral streptococci isolated from active dental infections in adults. **Acta Odontol Scand**, p.1-7, 2017.

MAHMOUDABADI, A.Z. et al. Colonization and antifungals susceptibility patterns of *Candida* species isolated from hospitalized patients in ICUs and NICUs. **J Nephropathol**, v.4, n.3, p.77-84, 2015.

MATTEVI, G.S. et al. The participation of the dental surgeon in the multidisciplinary health team for child care in the hospital context. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.16, n.10, p.4229-4236, 2011.

MATOUSKOVA, I.; JANOUT, V. Current knowledge of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and community associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub**, v. 152, n.2, p. 191-202, 2008.

MIKLASEVICS, E. et al. Report of the first PVL-positive community acquired MRSA in Latvia. **Euro Mont Arch**, v.9, p. 5-6, 2004.

MIYAKE, Y. et al. Incidence and Characterization of *Staphylococcus aureus* from the Tongues of Children. **J Dent Res**, v.70, n.7, p.1045-1047, 1991.

MORAIS, T.M.N. et al. A importância da atuação odontológica em pacientes internados em Unidade de Terapia intensiva. **Rev Bras Ter Intensiva**, v.18, n.4, p.412-417, 2006.

MUNRO, N.; RUGGIERO M. Ventilator-associated pneumonia bundle: reconstruction for best care. **Adv Crit Care**, v.25, n.2, p.163-175, 2014.

OLIVEIRA, D.; TOMASZ, A.; DE LENCASTRE, H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Lancet Infect. Dis**, v.2, p.180-189, 2002.

OLIVEIRA, L.C.B.S. et al. A presença de patógenos respiratórios no biofilme buccal de pacientes com pneumonia nosocomial. **Rev Bras Ter Intensiva**, v.19, n.4, p.428-433, 2007.

OSMAN, M.A.A.R. Oral care practices in Egypt intensive care units – a national survey. **J Periodont Med Clin Pract**, v.1, n.2, p.172-182, 2014.

PEDREIRA, M.L.G. et al. Oral care interventions and oropharyngeal colonization in children receiving mechanical ventilation. **Am J Crit Care**, v.18, n.4, p. 319-328, 2009.

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

RIBEIRO, A. A. et al. Relation between biofilm, caries activity and gingivitis in HIV+ children. **Pesq Odontol Bras**, v.16, n.2, p.144-150, 2002.

RIBEIRO, A. et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. **J Clin Microbiol.**, v.43, v.4, p.1985-1988, 2005.

RUBIO, M. et al. Bacteremia by *Staphylococcus aureus*: analysis of 311 episodes. **Enferm Infec Microbiol Clin**, v.17, p.56-64, 1999.

SAID-SALIM B., MATHEMA B. & KREISWIRTH B.N. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v.24, p.451-455, 2003.

SCOTT, E.; BLOOMFIELD, S.F. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. **J Appl Bacteriol**, v.68, p.271-278, 1990.

SINGHI, S.C.; REDDY, T.C.S.; CHAKRABARTI, A. Candidemia in a pediatric intensive care unit. **Pediatr Crit Care Med**, v.5, n.4, p. 369-374, 2004.

SMITH, T.L. et al. Emergence of Vancomycin resistance of *Staphylococcus aureus*. **N Engl J Med**, v.340, n.7, p.493-501, 1999.

SMITH, A.J.; JACKSON, M.S.; BAGG,J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. **J Med Microbiol**, v.50, n.11, p.940-946, 2001.

SMITH, A.J. et al. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. **Br Dent J**, v.195, n.12, p.701-703, 2003.

SUZUKI, J. et al. A long-term survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the oral cavity of children. **Microbiol Immunol**, v.41, n.9, p.681-686, 1997.

VANDENESCH, F. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. **Emerg Infect Dis**, v.9, p.978-984, 2003.

WILLIAMS D.W. et al. The oral cavity, biofilms and ventilator-associated pneumonia. **Curr Respir Med Ver**, v.8, n.3, p.163-169, 2012.

WU, C.J. et al. Prevalence of and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among human immunodeficient virus–infected outpatients in Taiwan: oral *Candida* colonization as a comparator. **J Oral Microbiol**, v.9, n.1, p.1-9, 2017.

XIA, J. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotic resistance and virulence. **Biosci Trends**, v.7, n.3, p.113-121, 2013.

ZHANG T.T.; TANG S.S. The effectiveness of different concentrations of chlorhexidine for prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. **J Clin Nurs**, v.23, n.11, p.1461-1475, 2014

ZUANAZZI, D. et al. Prevalence of potential bacterial respiratory pathogens in the oral cavity of hospitalised individuals. **Arch Oral Biol**, v.55, n.1, p.21-28, 2009.

ANEXOS

Anexo A – Parecer do Comitê de Ética

SECRETARIA MUNICIPAL DE
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -
SMS/RJ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Alterações bucais e perfil microbiológico de pacientes pediátricos hospitalizados

Pesquisador: Glória Fernanda Barbosa de Araújo Castro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 54723716.2.3001.5279

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Odontologia da UFRJ
Financiamento Próprio
FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.011.902

Apresentação do Projeto:

Com evidências científicas que apontam para uma relação positiva entre a condição de saúde bucal do paciente hospitalizado e o comprometimento do estado geral de sua saúde, a Odontologia passa a dividir responsabilidades juntamente com a equipe de saúde no ambiente hospitalar, contribuindo para uma melhor qualidade de vida desses pacientes. A pneumonia hospitalar (infecção nosocomial), que se instala após 48 horas da internação do paciente, é responsável por 10% a 15% de todas as infecções adquiridas em hospitais e de 20% a 50% dos óbitos dos pacientes que a contraem (MARTINS, 2009). Estudos indicam que pacientes de Unidade de Terapia Intensiva (UTI) apresentam higiene bucal deficiente e consequente acúmulo de biofilme dental e inflamação gengival aumentados pelo tempo de internação, atuando como uma fonte de infecção nosocomial. Sabe-se que a cavidade bucal é particularmente susceptível à infecção por possuir numerosos micro-organismos que proliferam em condições de imunossupressão, causando lesões fúngicas, virais, bacterianas e neoplásicas.

Objetivo da Pesquisa:

Endereço: Rua Evairato da Veiga, 16, 4º andar
Bairro: Centro CEP: 20.031-040
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepams@rio.rj.gov.br

SECRETARIA MUNICIPAL DE
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -
SMS/RJ



Continuação do Parecer: 2.011.902

* Objetivo Primário:

- O objetivo será determinar a presença das alterações bucais e o perfil microbiológico da cavidade bucal de crianças de 03 a 12 anos, internadas em dois Hospitais Pediátricos de referência no município do Rio de Janeiro (Instituto Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira - IPPMG - e Hospital Municipal Jesus).

* Objetivo Secundário:

1. Identificar a presença de lesões orais de tecidos moles e prevalência de cárie, em crianças hospitalizadas, comparando com crianças não hospitalizadas;
2. Determinar as necessidades de tratamento odontológico nesse grupo de pacientes;
3. Verificar a existência de cuidados adotados pela equipe de saúde com relação à saúde bucal das crianças hospitalizadas;
4. Determinar o perfil microbiológico (fúngico e bacteriano) da cavidade bucal destes pacientes;
5. Determinar a relação entre os achados clínicos e microbiológicos com a história médica dos pacientes (diagnóstico, motivo de internação, tempo de internação, episódios de internação);
6. Analisar, in vitro, os fatores de virulência e susceptibilidade ao Fluconazol das *Candida* spp encontradas nos pacientes hospitalizados, comparando com a expressão desses fatores dos isolados do grupo controle;
7. Analisar a incidência de isolamento de *S. aureus*, *S. epidermidis* e em outras espécies *Staphylococcus* coagulase-negativas no biofilme dental e saliva de crianças hospitalizadas, através de PCR;
8. Caracterizar as cepas de *Staphylococcus* metilicina resistentes, através do gene *mecA*;
9. Mapear 25 genes acessórios (de virulência) nessas amostras através de PCR multiplex.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

* Riscos:

- Os riscos relacionados a esta pesquisa são a possibilidade de constrangimento, ficar sem graça com relação às questões da ficha clínica, sendo assim poderá se recusar a responder as perguntas sem nenhum prejuízo ou sentir algum desconforto durante a realização do exame clínico.

* Benefícios:

- Os pacientes e responsáveis receberão orientações quanto aos cuidados de higiene e saúde bucal. Pacientes com necessidade de tratamento odontológico serão encaminhados a clínica de pacientes especiais da FO, UFRJ, onde será matriculados e terão garantido o direito ao tratamento.

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepams@rio.rj.gov.br

SECRETARIA MUNICIPAL DE
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -
SMS/RJ



Continuação do Parecer: 2.011.902

* Objetivo Primário:

• O objetivo será determinar a presença das alterações bucais e o perfil microbiológico da cavidade bucal de crianças de 03 a 12 anos, internadas em dois Hospitais Pediátricos de referência no município do Rio de Janeiro (Instituto Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira - IPPMG - e Hospital Municipal Jesus).

* Objetivo Secundário:

1. Identificar a presença de lesões orais de tecidos moles e prevalência de cárie, em crianças hospitalizadas, comparando com crianças não hospitalizadas;
2. Determinar as necessidades de tratamento odontológico nesse grupo de pacientes;
3. Verificar a existência de cuidados adotados pela equipe de saúde com relação à saúde bucal das crianças hospitalizadas;
4. Determinar o perfil microbiológico (fúngico e bacteriano) da cavidade bucal destes pacientes;
5. Determinar a relação entre os achados clínicos e microbiológicos com a história médica dos pacientes (diagnóstico, motivo de internação, tempo de internação, episódios de internação);
6. Analisar, in vitro, os fatores de virulência e susceptibilidade ao Fluconazol das *Candida spp* encontradas nos pacientes hospitalizados, comparando com a expressão desses fatores dos isolados do grupo controle;
7. Analisar a incidência de isolamento de *S. aureus*, *S. epidermidis* e em outras espécies *Staphylococcus* coagulase-negativas no biofilme dental e saliva de crianças hospitalizadas, através de PCR;
8. Caracterizar as cepas de *Staphylococcus* metilicina resistentes, através do gene *mecA*;
9. Mapear 25 genes acessórios (de virulência) nessas amostras através de PCR multiplex.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

* Riscos:

• Os riscos relacionados a esta pesquisa são a possibilidade de constrangimento, ficar sem graça com relação às questões da ficha clínica, sendo assim poderá se recusar a responder as perguntas sem nenhum prejuízo ou sentir algum desconforto durante a realização do exame clínico.

* Benefícios:

• Os pacientes e responsáveis receberão orientações quanto aos cuidados de higiene e saúde bucal. Pacientes com necessidade de tratamento odontológico serão encaminhados a clínica de pacientes especiais da FO, UFRJ, onde será matriculados e terão garantido o direito ao tratamento.

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepsms@rio.rj.gov.br

SECRETARIA MUNICIPAL DE
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -
SMS/RJ



Continuação do Parecer: 2.011.902

ser apresentadas a este CEP/SMS-RJ, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Acrescentamos que o sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (item IV.3 .d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12) e deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (item IV.5.d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Ressaltamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Caso haja interrupção do projeto ou não publicação dos resultados, solicitamos justificar fundamentalmente ao CEP/SMS-RJ.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_735119_E1.pdf	11/08/2016 19:40:42		Aceito
Outros	justificativa_da_emenda.docx	11/08/2016 19:22:44	Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pac_Hospitalizados_versao_revísada_CEP.doc	05/05/2016 22:50:18	Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro	Aceito
Outros	Conclusoes_ou_Pendencias_e_Listas_de_Inadequacoes.doc	05/05/2016 22:46:47	Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_de_infraestrutura.pdf	05/05/2016 22:45:35	Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_02.doc	05/05/2016 22:44:04	Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_02.doc	05/05/2016 22:28:45	Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro	Aceito

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepsms@rio.rj.gov.br

Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do projeto de pesquisa: “Alterações bucais e necessidades odontológicas em pacientes pediátricos hospitalizados”.

Seu filho (a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa sobre as alterações da boca e as necessidades odontológicas. Os Pesquisadores Gloria Fernanda B de A Castro, Maristela Barbosa Portela e Apoena de Aguiar Ribeiro pretendem realizar um estudo com as seguintes características:

Objetivo do estudo: identificar a presença de alterações da boca e cárie em crianças (3 a 12 anos) hospitalizadas em enfermarias, e determinar as necessidades de tratamento odontológico, por meio de exame da boca. Verificar a existência de cuidados adotados pela equipe de saúde do hospital com relação à saúde bucal dessas crianças e determinar a relação entre os achados clínicos com a história médica dos pacientes (diagnóstico, motivo de internação, tempo de internação, episódios de internação) através de uma ficha de identificação. Também, coletar saliva e placa dental para verificar a presença de micro-organismos que podem causar ou não algum tipo de piora no quadro de saúde da criança.

Além disso, realizar análises no laboratório com os micro-organismos isolados para determinar quais são exatamente os micro-organismos existentes e também o quanto eles são resistentes e capazes de causar doença.

Justificativa: A realização deste trabalho demonstrará a importância da presença do dentista nas equipes de saúde dos hospitais, contribuindo para uma melhor qualidade de vida desses pacientes.

Benefícios: Como benefício indireto por participar deste estudo, você poderá contribuir para estabelecer medidas necessárias para a manutenção de saúde bucal em ambiente hospitalar. Adicionalmente, você contribuirá para o levantamento de aspectos importantes para a melhora da qualidade de vida da criança hospitalizada, uma vez que a condição bucal do paciente pode influenciar no seu estado de saúde geral.

Riscos: Os riscos relacionados a esta pesquisa são a possibilidade de constrangimento, ficar sem graça com relação às questões da ficha, sendo assim poderá se recusar a responder estas perguntas sem nenhum prejuízo ou sentir algum desconforto durante a realização do exame clínico.

Garantia de acesso aos pesquisadores: Em qualquer fase do estudo você terá pleno acesso à pesquisadora responsável, Profa. Dra. Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro, pelo telefone 3938-2101, Departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Prof Paulo Rocco, 325 - 1º andar; Cidade Universitária, Rio de Janeiro. Em caso de qualquer esclarecimento poderá também entrar em contato com a pesquisadora através do telefone (21) 99640-6390.

Garantia de liberdade: A participação neste estudo é absolutamente voluntária. Dentro deste raciocínio, todos os participantes estão livres para, a qualquer momento, negar o consentimento ou desistir de participar e retirar o consentimento, sem que isto traga qualquer tipo de dano ou impedimento. Lembramos, assim, que a recusa não trará nenhum prejuízo à relação com o pesquisador ou com a instituição e que a participação não é obrigatória. Mediante a aceitação, espera-se que o questionário seja respondido e permitido o exame clínico.

Direito de confidencialidade e acessibilidade: os dados colhidos no presente estudo serão utilizados para elaborar artigos científicos. Porém, todas as informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o absoluto sigilo dos que

aceitarem participar. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar a identificação do participante e ninguém, com exceção dos próprios pesquisadores, poderá ter acesso aos resultados da pesquisa. Cada participante somente poderá ter acesso aos próprios resultados. É assegurado o completo sigilo da identidade do responsável e do participante quanto à participação neste estudo, incluindo a eventualidade da apresentação dos resultados deste estudo em congressos e periódicos científicos.

Despesas e compensações: o participante não terá, em momento algum, despesas financeiras pessoais. As despesas, assim, se por ventura ocorrerem, serão de responsabilidade dos próprios pesquisadores. Também, não haverá compensação financeira relacionada à participação nesta pesquisa.

Garantia de indenização: Este estudo não implica gastos financeiros para você, apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa.

Em caso de dúvidas ou questionamentos, pode se manifestar agora ou em qualquer momento do estudo para explicações adicionais.

Caso surja alguma dúvida quanto à ética do estudo, o(a) Sr.(a) deverá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas envolvendo seres humanos – subordinado ao Conselho Nacional de Ética em Pesquisa, órgão do Ministério da Saúde, através de solicitação ao representante de pesquisa, que estará sob contato permanente, ou contatando o Comitê de Ética em Pesquisa desta instituição, no endereço Rua Rodolpho Paulo Rocco, 255 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão, 1º andar; Contato: 3938-2480 Fax: 3938-2481; Horário de funcionamento: De segunda a sexta-feira, das 8h às 16h.

CONSENTIMENTO

Eu, _____, portador (a) do documento de Identidade _____, fui suficientemente informado (a) a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim. Eu discuti com a pesquisadora Amanda Vervloet Dutra Agostinho Assis sobre a minha decisão em deixar meu filho (a) participar deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimento permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que meu filho (a) possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 20__.

Nome do Sujeito da Pesquisa

Assinatura do Sujeito da Pesquisa

Nome do Representante Legal

Assinatura do Representante Legal

Pesquisadora Responsável

Apêndice B - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO -

(faixa etária de 7 a 12 anos)

Você está sendo convidado(a) para participar de um trabalho de uma pesquisa chamada **“Alterações bucais e perfil microbiológico de pacientes pediátricos hospitalizados”**. Seus pais/responsáveis já permitiram que você participe. Neste estudo, queremos saber se crianças com idades de três a 12 anos que estão internadas em hospitais, têm machucados e doenças na boca e nos dentes, mais do que crianças que não estão internadas em hospitais, e também ver se as crianças precisam de tratamento nos dentes, olhando sua boca. Queremos, também, saber se as pessoas que trabalham nos hospitais e que cuidam dessas crianças fazem a limpeza da boca delas e ver se tudo isso tem relação com o fato de ela estar internada no hospital, respondendo algumas perguntas. Também, iremos passar um cotonete na boca e outro no nariz para saber se têm bactérias que podem deixar a criança mais doente. Saber o nome dessas bactérias e se causam doenças.

O que nos faz estudar esse assunto é mostrar a importância do dentista nos hospitais, ajudando a melhorar a qualidade de vida das crianças internadas em hospitais. É uma coisa boa que pode acontecer, é que você pode nos ajudar a fazer isso.

Uma coisa ruim que pode acontecer é você ficar sem graça ou com vergonha de responder as perguntas, mas se isso acontecer não precisa responder se não quiser. Outra coisa que pode acontecer é que você se sinta desconfortável quando olharmos sua boca.

Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelos telefones (21) 3938-2101 e (21) 99640-6390 da pesquisadora professora Gloria Fernanda Barbosa de Araújo Castro.

Para participar deste estudo, seu responsável também assinará um papel. Você não terá que pagar nada e nem receberá nenhum dinheiro por participar desta pesquisa. Mas você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é uma escolha sua. Ninguém ficará bravo com você se você disser não. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer sim agora e mudar de ideia depois e tudo continuará bem.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a ninguém o que você nos disser. Depois que a pesquisa acabar, contaremos a você e seus pais o que descobrimos com ela e isso também pode ser escrito em revista, mas sem identificar as crianças que participaram.

Um Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) é formado por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa está sendo feita de forma certa. Se você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o CEP do Hospital Clementino Fraga Filho no endereço Rua Rodolpho Paulo Rocco, 255 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão, 1º andar; Contato: 3938-2480 Fax: 3938-2481; Horário de funcionamento: De segunda a sexta-feira, das 8h às 16h; ou pelo e-mail cep@hucff.ufrj.br.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar.

CONSENTIMENTO

Eu, _____, aceito participar da pesquisa “**Alterações bucais e perfil microbiológico de pacientes pediátricos hospitalizados**”. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer e que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar bravo comigo. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste papel e li e concordo em participar da pesquisa.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 20____.

Nome legível do(a) participante:

Assinatura do(a) participante:

Pesquisadora responsável:

Apêndice C – Ficha Clínica

Ficha Clínica

____/____/20____

Nome da criança: _____
 Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Sexo: _____
 Responsável legal: _____
 Data da hospitalização: ____/____/____
 Motivo da hospitalização: _____
 Diagnóstico: _____
 Tempo de internação: _____
 Episódios de internação: _____
 Faz uso de medicação? Sim Não
 Qual _____

Tem algum problema de saúde? Sim Não
 Caso positivo, qual? _____

1 HIGIENE

1.1 A criança realiza higiene oral? Sim Não
 1.2 Caso positivo, de que forma?
 escova e creme dental só escova fio dental
 outros: _____
 1.3 Em quais horários a criança realiza higiene oral? _____
 1.4 Quem realiza a higiene oral? _____
 1.5 Recebeu orientação de higiene oral durante a internação? Sim Não
 1.6 Caso positivo, que profissional orientou?
 médico
 enfermeiro
 dentista
 outro: _____
 1.7 Qual foi a orientação recebida? _____
 1.8 Outros cuidados com a saúde oral são realizados na criança por parte da equipe de saúde do hospital? Sim Não
 1.9 Caso positivo, quais? _____

2 EXAME CLÍNICO

2.1 Exame extraoral

Lábios: _____
 Anomalias: _____

2.2 Exame intraoral

2.2.1 Tecidos moles

Lábio: _____
 Gengiva: _____
 Mucosa _____ jugal:

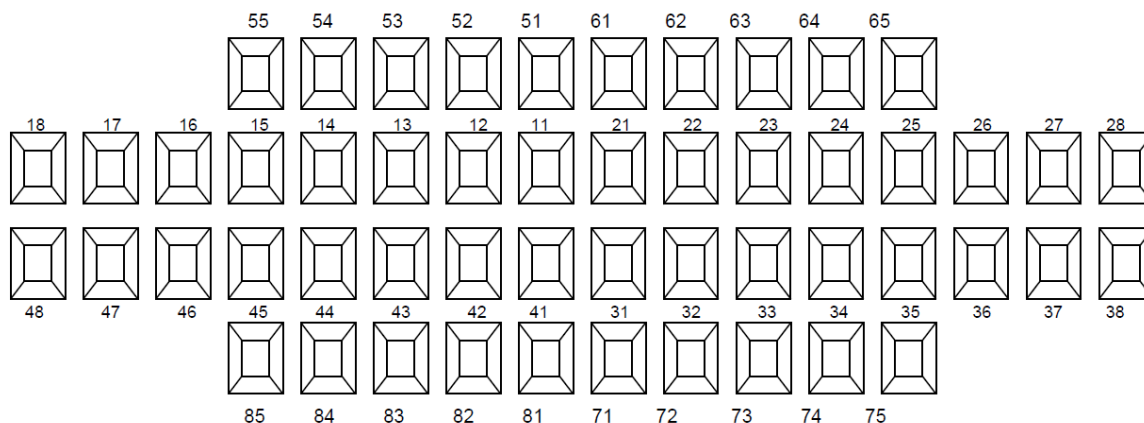
 Palato duro: _____
 Palato mole: _____

Língua: _____
 Assoalho bucal: _____
 Freio labial: _____ Freio lingual: _____
 Anomalias: _____

2.2.2 Índice de biofilme (RIBEIRO et al., 2002)

- () Score 0: Ausência clínica de biofilme visível
 () Score 1: Biofilme fino somente nos dentes anteriores
 () Score 2: Biofilme fino, difuso, facilmente removido, em dentes anteriores E posteriores
 () Score 3: Biofilme espesso e firmemente aderido, em dentes anteriores OU posteriores
 () Score 4: Biofilme espesso e firmemente aderido em dentes anteriores e fino em posteriores OU biofilme espesso e firmemente aderido em posteriores e fino em anteriores
 () Score 5: Biofilme espesso e firmemente aderido em dentes anteriores e posteriores

2.2.3 Índice de cárie (OMS, 1987)



CPO-D	Ceo-d
0 = hígido	A = hígido
1 = cariado	B = cariado
2 = restaurado com cárie	C = restaurado com cárie
3 = restaurado sem cárie	D = restaurado sem cárie
4 = perdido por cárie	E = perdido por cárie
5 = perdido por outras razões	- = perdido por outras razões
6 = selante	F = selante
7 = apoio de prótese	G = apoio de prótese
8 = não erupcionado	- = não erupcionado
9 = extraído	- = extraído
T = trauma/fratura	T = trauma/fratura