



Uso de clorhexidina como protocolo en el área prequirúrgica en pacientes con cirugía electiva

Verania Jiménez Medina,¹ Luis Antonio López Gómez,² José Manuel Athié García³

Resumen

Antecedentes: El aseo bucal prequirúrgico (ABP) con cepillado dental se ha establecido para prevenir complicaciones infecciosas. La adición de aseo con clorhexidina es cuestionable. **Objetivo:** Establecer el nivel de colonización bacteriana faríngea según cumplimiento del ABP y el impacto adicional del aseo con clorhexidina. **Métodos:** Estudio con pacientes mayores de 18 años programados a cirugía; dos fases: evaluación del nivel de colonización (*leve-moderado-severo*) según cumplimiento o no del ABP y maniobra de enjuague o no con 15 mL de clorhexidina (0.12%), asignada aleatoriamente. Se analizó la presencia de patógenos. **Resultados:** 48/60 (80%) no cumplieron con el ABP. Todos tuvieron colonizaciones de moderadas a altas, pero los cumplidores, menos proporción de altas (16.7 contra 33.3%, $p = 0.23$). Después del aseo con clorhexidina (30 pacientes), 1/6 (16%) con ABP continuaron con alta colonización y al resto les bajó a moderada; 20% (5/24) sin ABP continuaron con alta colonización, a 70% (17/24) les bajó de alta a moderada y a dos (8%) a leve; a uno (4%) con moderada colonización preclorhexidina, le bajó a leve. Sólo en seis pacientes sin ABP (12.6%) se aisló *S. aureus* o *S. pneumoniae*. La clorhexidina redujo la colonización de alta a moderada en tres con *S. aureus*; en el otro continuó alta. La clorhexidina redujo la colonización de alta a moderada en uno con *S. pneumoniae*. **Conclusión:** El cumplimiento del ABP reduce la colonización faríngea, sobre todo por patógenos. La adición de enjuague con clorhexidina puede aumentar esta protección.

Palabras clave: Clorhexidina, aseo bucal, cepillado de dientes, flora bacteriana.

Summary

Background: Pre-surgical oral hygiene (POH) with tooth brushing has been established to prevent infectious complications. The need of an additional cleansing with chlorhexidine is questionable. **Objective:** To establish the level of pharyngeal bacterial colonization according to compliance with POH and the additional impact of a chlorhexidine rinse. **Methods:** Study with patients 18 years and older scheduled for surgery. Two phases: first, we evaluated the level of colonization (*mild-moderate-severe*) according to compliance or not with the POH, and second, to a randomly assigned rinse (or not) with 15 mL of chlorhexidine (0.12%). The presence of pathogenic agents was analyzed. **Results:** 48/60 (80%) did not comply with the POH. All had moderate to high colonization, but compliers had a lower proportion of high colonization (16.7 versus 33.3%, $p = 0.23$). After cleansing with chlorhexidine (30 patients), 1/6 (16%) with POH continued with high colonization, the rest fell to moderate; 20% (5/24) without POH continued with high colonization, 70% (17/24) fell from high to moderate and two (8%) from high to mild; one (4%) with moderate pre-chlorhexidine colonization decreased to mild. Only six patients without POH (12.6%) had *S. aureus* or *S. pneumoniae* isolated. Chlorhexidine reduced colonization from high to moderate in three with *S. aureus*, in the other, it remained high. Chlorhexidine reduced colonization from high to moderate in one of the two patients with *S. pneumoniae*. **Conclusion:** Compliance with POH reduces pharyngeal colonization, especially of pathogenic bacteria. The addition of a rinse with chlorhexidine can increase this protection.

Key words: Chlorhexidine, buccal cleaning, brushing teeth, bacterial flora.

¹ Residente de Anestesiología. Hospital Ángeles Mocel. Facultad Mexicana de Medicina, Postgrado, Universidad La Salle.

² Médico Anestesiólogo. Hospital Ángeles Mocel. Ciudad de México.

³ Médico Anestesiólogo, Director Médico, Hospital Ángeles Mocel. Ciudad de México.

Correspondencia:

Verania Jiménez Medina

Correo electrónico: vera_msh@hotmail.com

Aceptado: 20-11-2017.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/actamedica>

INTRODUCCIÓN

La colonización bacteriana bucal resulta de la acumulación de desechos de alimentos, base para la formación de una placa dental favorable a la adhesión de bacterias a los dientes.¹⁻³ Éstas son, en su mayoría, no patógenas,⁴ pero también hay patógenas respiratorias causantes de infecciones potencialmente letales,³ tales como las neumonías asociadas al ventilador (NAV), cuyo mecanismo de desarrollo es la aspiración de estas secreciones hacia el tracto respiratorio inferior.^{1,5,6} Un momento crítico de este fenómeno es durante la intubación orotraqueal o el uso de presión positiva a través de cánulas laríngeas u orofaciales.⁷ De ahí la recomendación de algunas guías, tanto nacionales como internacionales, de realizarse un aseo bucal con cepillado de dientes antes de cualquier procedimiento quirúrgico.⁵

Estudios en pacientes en terapias intensivas han asociado la contaminación de la cavidad oral por bacterias patógenas a mayor morbilidad intrahospitalaria y mortalidad secundaria.⁵ Rello y sus colaboradores,⁸ con base en su evaluación sobre estrategias conocidas para la prevención de neumonía asociada al ventilador, recomiendan, además, el aseo oral con clorhexidina. Ello porque este antiséptico previene la formación de la placa, tanto sub- como supra-gingival, hasta por 96 horas,^{4,8} periodo frecuentemente asociado con la necesidad de mantener una asistencia a la ventilación.

Por otro lado, estudios recientes han buscado el efecto protector del uso de la antisepsia local con clorhexidina para pacientes con alto riesgo de infecciones respiratorias nosocomiales por ser sometidos a cirugías como las cardiovasculares. Munro y su grupo⁵ encontraron en su estudio una reducción en las infecciones nosocomiales.

En nuestra experiencia, no es infrecuente que los pacientes no cumplan con la recomendación del ABP y, por tanto, la adición rutinaria de un enjuague con clorhexidina podría ser una opción. En este trabajo se buscó la frecuencia del no cumplimiento del ABP, su repercusión en el tipo y grado de colonización y el posible impacto del uso de clorhexidina para disminuir la colonización riesgosa (alta o asociada a patógenos).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó el estudio en dos fases: la primera, un análisis transversal de las condiciones de colonización preanestesia, y la segunda, un análisis antes y después del uso de clorhexidina.

Participantes. Se invitó a participar a pacientes de 18 o más años de edad programados para cirugía electiva, sin antecedentes de administración de algún antibiótico siete

días antes del procedimiento y que aceptaron participar en el estudio. Se excluyeron aquéllos que manifestaron alergia a la clorhexidina.

Aislamiento bacteriano

Previamente al procedimiento, se interrogó a los pacientes sobre el antecedente de aseo bucal con cualquier antiséptico realizado en su casa o en la habitación hospitalaria en las ocho horas previas al ingreso a preanestesia. A todos los pacientes se les realizó hisopado de mucosa faríngea 30 minutos antes de iniciar el procedimiento anestésico. La muestra fue procesada en cultivos de agar sangre en el laboratorio del hospital. Se leyó el aislamiento de la caja de Petri entre las 48 y 72 horas. La intensidad de colonización se analizó por la dispersión de las colonias después de sembrado por técnica de cruzamiento; se consideró *leve* ante la presencia de menos de 10 colonias por cruce, *moderado* con más de 10 pero contables, y *alta*, muestra incontable. La tipificación de las especies se llevó a cabo por morfología de las colonias. La valoración fue efectuada por dos observadores independientes y cegados al antecedente de aseo bucal o uso de clorhexidina.

El reporte se dio como colonización *leve*, *moderada* o *alta* y el germen más abundante.

Aseo con clorhexidina

Para la valoración del efecto del aseo con clorhexidina, se realizó una asignación aleatoria secuencial. Los pacientes a quienes les tocó recibir el aseo con clorhexidina recibieron 15 mL del antiséptico (al 0.125%) para realizar gárgaras durante 30 segundos con expulsión posterior. A los cinco minutos, un segundo hisopado faríngeo fue tomado. La muestra fue procesada como fue referido previamente. A los pacientes que no recibieron el aseo con clorhexidina no se les tomó nuevo hisopado.

Análisis estadístico

Se obtuvieron las frecuencias simples y porcentajes para las variables cualitativas y medias con sus desviaciones estándar para las cuantitativas (edad), dada su distribución normal.

Para contrastar la diferencia entre porcentaje de colonización según aseo bucal, se usó la prueba de χ^2 obtenida por máxima verosimilitud. En la comparación entre pacientes con o sin aseo con clorhexidina, se contrastó con prueba de χ^2 de Pearson o exacta de Fisher según proporción de casos. En la comparación antes y después del uso de clorhexidina, se empleó la prueba de χ^2 de McNemar o Levené según el número de celdas (2 x 2 o 2 x 3). El análisis se realizó con el paquete estadístico

MedCalc®. Se consideró un nivel de significancia estadística de $p < 0.05$.

RESULTADOS

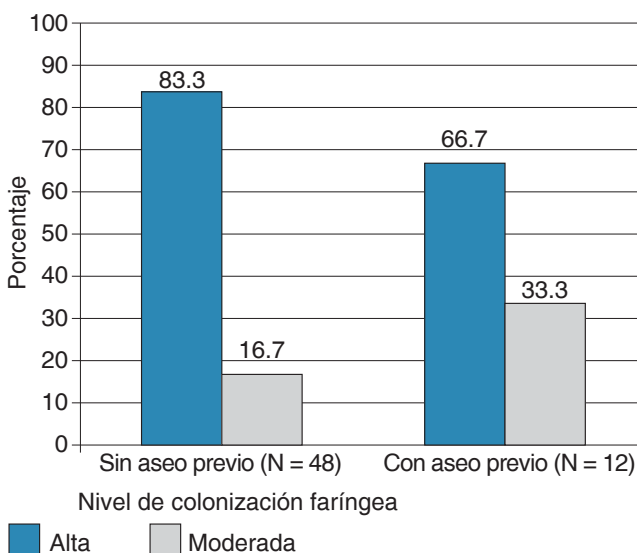
De 62 pacientes invitados a participar, 60 aceptaron. El *cuadro 1* resume sus características. Tuvimos más pacientes masculinos, en una relación 1.9:1. El 60% tuvieron más de 40 años (edades de 18 a 86 años). Poco menos de la mitad fueron pacientes ambulatorios y 56.7% estaban programados para una anestesia general. Las cirugías ortopédicas fueron las más frecuentemente programadas. Por último, se encontró que la mayoría de los pacientes (80%) no habían cumplido con la indicación de un aseo bucal previo a la cirugía.

Colonización faríngea preanestesia

A todos los pacientes se les realizó el cultivo de mucosa faríngea y en todos hubo aislamiento bacteriano con moderada o alta colonización. Como se observa en la *figura 1*, los pacientes que cumplieron con el aseo bucal previo tuvieron una menor proporción de alta colonización (83.3 contra 66.7%, diferencia no estadísticamente significativa, $p = 0.23$).

Al analizar el tipo de gérmenes aislados (*Cuadro 2*), se encontraron patógenos sólo en los pacientes sin aseo bucal

Figura 1. Porcentajes de colonización faríngea en pacientes programados a cirugía y anestesia según el antecedente de aseo bucal previo. Comparación entre porcentajes, prueba χ^2 por máxima verosimilitud $p = 0.234$.



Cuadro 2. Especies bacterianas aisladas de exudados faríngeos según el antecedente o no de aseo bucal previo.

Cuadro 1. Características de los pacientes (N = 60).			
Datos		n	%
Sexo	Masculino	38	63.3
	Femenino	22	36.7
Edad en años	Media (DS)	46.6	(18.3)
Procedencia	Hospital	33	55
	Casa	27	45
Anestesia	General	34	56.7
	Local-regional	26	43.3
Aseo bucal previo	No	48	80
	Sí	12	20
Tipo de cirugía	Ortopédica	28	46.7
	Urológica	9	15.0
	Oncológica	6	10.0
	Vías biliares	6	10.0
	Plastias	6	10.0
	Vascular	5	8.3

	Sin aseo previo (N = 48) % (n)	Con aseo previo (N = 12) % (n)
Especies aisladas⁺		
<i>Streptococcus</i> sp.	39.6 (19)	75.0 (9)
<i>Rothia</i> sp.	20.8 (10)	16.7 (2)
<i>Staphylococcus</i> sp.	12.5 (6)	0
<i>Granulicatella</i> sp.	12.5 (6)	0
<i>Dermaococcus</i> sp.	4.2 (2)	8.3 (1)
<i>Gemella</i> sp.	4.2 (2)	0
Otros*	6.2 (3)	0
Especies patógenas⁺⁺		
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.4 (4)	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4.2 (2)	0

⁺ Prueba χ^2 de Pearson 7.24, $p = 0.29$; ⁺⁺ prueba exacta de Fisher $p = 0.33$.
 Especies aisladas: *Streptococcus salivarius*, *Strep sanguinis*, *Strep oralis*, *Strep parasanguinis*, *Strep mitis*, *Strep agalactiae*, *Rothia dentocariosa*, *R mucilaginoso*, *Staph hominis*; *Granulicatella adiacens*, *G elegans*; *Dermaococcus nishinomiyaensis*; *Gemella morbillorum*; * *Kytococcus sedentarius*, *Leuconostoc pseudodmesenteroides*, *Sphingomonas paucimobilis*.

previo (seis pacientes; 12.6 contra 0%, χ^2 1.63, 2 gL; $p = 0.20$). Del resto de microbiota, las especies más frecuentes fueron *Streptococcus sp.* y *Rothia sp.* ($p = 0.29$).

Efecto del aseo con clorhexidina

De los 60 pacientes, a 30 se les realizó el aseo con clorhexidina. Como se muestra en el **cuadro 3**, no hubo diferencias en cuanto al sexo, edad, procedencia, tipo de anestesia, aseo bucal previo o tipo de cirugía con respecto a aquéllos sin el aseo con clorhexidina.

En la **figura 2** se presentan los efectos de este lavado, considerando a los pacientes con o sin aseo antes de la aplicación de la clorhexidina. De los pacientes con aseo previo, en cinco (83.3%) se redujo el nivel de colonización y en uno no, diferencia no estadísticamente significativa ($p = 0.06$). Ningún paciente bajó a colonización escasa. Para aquéllos sin aseo bucal previo a la clorhexidina, de los 24, a 19 (79.1%) se les aminoró la colonización (McNemar 17.05, 1 gL, $p < 0.001$), aunque la disminución en cuanto a la intensidad de la colonización no alcanzó la significancia estadística ($p = 0.11$). Sólo en un paciente bajó de alta a escasa, y en aquel con moderada colonización, se redujo a escasa.

Cuadro 3. Comparación entre los pacientes sometidos y no a lavado bucal con clorhexidina (N = 60).

Datos		Con lavado N = 30	Sin lavado N = 30
Sexo	Masculino	19	19
	Femenino	11	11
Edad en años	Media (DS)	43.5 (19)	49.7 (17)
Procedencia	Hospital	16	17
	Casa	14	13
Anestesia	General	16	18
	Local-regional	14	12
Aseo bucal previo	Sí	6	6
	No	24	24
Tipo de cirugía	Ortopédica	11	17
	Urológica	6	3
	Oncológica	3	3
	Vías biliares	4	2
	Plastias	3	3
	Vascular	3	2

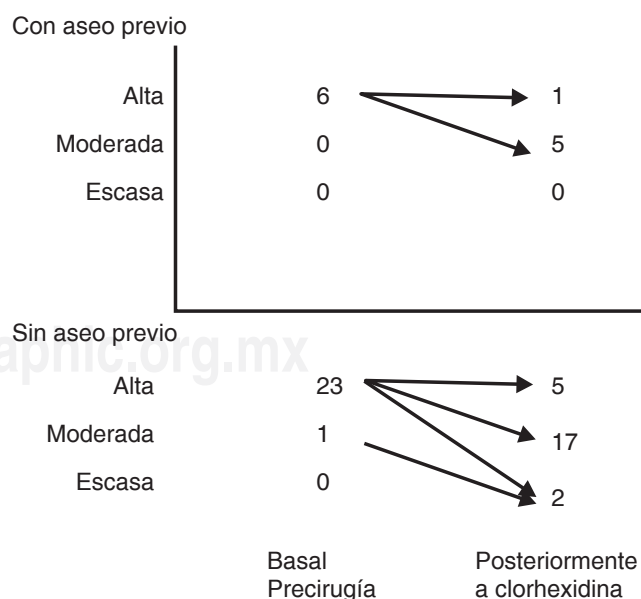
Con respecto a los microorganismos cultivados, se encontró que ninguno de los dos pacientes con *Streptococcus pneumoniae* tenía antecedente de aseo bucal. Sólo uno recibió aseo con clorhexidina, con lo cual su colonización cambió de alta a moderada. El otro paciente con colonización alta no recibió clorhexidina.

De los cuatro pacientes con colonización por *Staphylococcus aureus*, todos sin antecedentes de aseo bucal y con colonización alta, uno continuó con colonización alta y a los tres restantes les bajó a moderada después del aseo con clorhexidina.

DISCUSIÓN

Dada la importancia de la reducción del riesgo de infecciones asociadas con la atención médica, en particular las de vías aéreas, en este estudio evaluamos el cumplimiento de la recomendación del aseo bucal con cepillado y el impacto potencial de agregar enjuagues con clorhexidina para la disminución de bacterias patógenas. Nuestros datos comprobaron el bajo cumplimiento de la indicación a pesar de ser una práctica habitual en nuestro hospital. Una observación alarmante fue que la prevalencia no difirió entre los pacientes que provenían de su domicilio con respecto a los previamente hospitalizados. En este sentido, la vigilancia de esta recomendación en el hospital se hace fundamental.

Figura 2. Cambios en la intensidad de la microbiota después del aseo con clorhexidina según el antecedente de aseo o no de la cavidad bucal. Prueba de McNemar en el grupo con aseo bucal $p = 0.06$, y para el grupo sin aseo previo $p = 0.11$.



Como era de esperarse, cuando la indicación fue referida como cumplida, la proporción de pacientes con colonización alta fue menor, y sobre todo, solamente a bacterias no patógenas o microbiota oral. Aunque *S. aureus* puede formar parte de la flora habitual de la cavidad oral, su presencia puede ser un riesgo alto para una infección de vía aérea alta o baja si se rompen las barreras naturales de protección (fenómeno no raro durante la intubación o colocación de mascarillas laríngeas). Por otro lado, *S. pneumoniae* no se considera una bacteria habitual de la cavidad oral y su presencia implica un riesgo alto de enfermedades pulmonares o sistémicas, particularmente en huéspedes inmunocomprometidos.⁹ El grupo con ABP mostró una colonización menos abundante de flora normal; estos organismos, aunque con baja virulencia, en condiciones particulares (tales como presencia en sitios estériles, ausencia de competencia en el microambiente y alteraciones en la inmunidad innata o adquirida) podrían generar infecciones graves potencialmente mortales.⁵ Es necesario comentar que hubo algunos pacientes de nuestro estudio con enfermedades oncológicas en quienes este riesgo estaba presente.

Nuestro segundo objetivo fue analizar la utilidad de realizar una maniobra directa supervisada de aseo bucal con clorhexidina. Esta estrategia se apoyó en la baja tasa de cumplimiento del ABP. Habitualmente, tras la valoración preanestésica, el anestesiólogo elige la anestesia requerida para el paciente de acuerdo con sus antecedentes y el tipo de cirugía; en general, la anestesia locorregional es preferible por su menor riesgo; sin embargo, como se observó en nuestro estudio, 56.7% requirieron de anestesia general, y en cuatro, ésta se hizo necesaria luego del inicio con anestesia regional. En la primera, el ABP se hace obligatorio, pero en las regionales nunca se puede descartar la posibilidad de conversión a una general; de ahí la importancia de tener la seguridad de estar ante un ambiente lo más limpio posible y, sobre todo, libre de patógenos conocidos.

Debido a las propiedades de sabor y sensación de la clorhexidina, no suele ser recomendada de forma habitual. Aunque la concentración indicada por nosotros no causa irritación local, siempre existe la posibilidad de pacientes con alergia a la misma.¹⁰ Por ello, decidimos probar la maniobra de forma aleatoria con un subgrupo de pacientes. Como mostramos en los resultados, esta acción redujo el nivel de colonización tanto en los pacientes con ABP previo como en los que no. La excepción fueron seis pacientes (uno con antecedente de ABP y cinco sin él) que mantuvieron concentraciones altas. Más importante fue la disminución en la concentración de los patógenos. Estudios previos ya han señalado la alta eficacia de la clorhexidina en la eliminación de patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*.^{1,2,5,10-12}

Nuestro estudio tuvo la fortaleza de realizar un análisis bacteriológico con alta capacidad de aislamiento, con ello se pudo encontrar claramente el efecto del antecedente del cumplimiento del ABP. Al ser un estudio aleatorizado, se logró observar el efecto adicional del uso de la clorhexidina; ello ante el posible control de factores confusores. Por ser un estudio prospectivo, se cuidó la toma de las muestras y el cumplimiento en la maniobra antiséptica.

Hay que considerar varias limitaciones en este trabajo. La primera es un posible sesgo de clasificación en los pacientes con y sin ABP, la cual fue obtenida por interrogatorio y es factible que los pacientes afirmaran su realización cuando no lo hicieron o erraron en el tiempo cuando la ejecutaron. Sin embargo, esto se habría traducido en una mayor proporción de pacientes en el grupo de ABP, situación contraria a la observada. Por otro lado, no se realizaron cultivos de virus y hongos. En condiciones habituales, los primeros no suelen asociarse a infecciones severas intrahospitalarias, pero tanto los virus como los hongos podrían ser agentes altamente patógenos en pacientes inmunocomprometidos.⁹ El aislamiento de estos agentes requiere técnicas y procedimientos especiales. Por último, el tamaño de muestra para los pacientes con ABP fue bajo, por lo cual la significancia estadística no fue alcanzada; sobre todo para el análisis del efecto sobre bacterias patógenas.

Es necesario recalcar que durante un procedimiento habitual de intubación con fines anestésicos, la técnica suele realizarse en condiciones de asepsia, previniendo en todo momento el contacto con la mucosa oral o faríngea para prevenir el arrastre de bacterias a la vía aérea.¹³ Sin embargo, esta protección no se logra en casos de apoyo respiratorio con la colocación de una mascarilla laríngea.

CONCLUSIÓN

Por el momento consideramos que ante la baja tasa de cumplimiento del ABP, aun en pacientes hospitalizados, un aseo con algún antiséptico como la clorhexidina podría reducir el riesgo de colonización alta o presencia de patógenos asociados a infecciones de vías respiratorias en pacientes programados a un procedimiento anestésico.

REFERENCIAS

1. Labeau SO, Van de Vyver K, Brusselsaers N, Vogelaers D, Blot SI. Prevention of ventilator-associated pneumonia with oral antiseptics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11 (11): 845-854.
2. Quintas V, Prada-López I, Prados-Frutos JC, Tomás I. *In situ* antimicrobial activity on oral biofilm: essential oils vs. 0.2% chlorhexidine. *Clin Oral Investig*. 2015; 19 (1): 97-107.

3. Yoneyama T, Yoshida M, Ohru T, Mukaiyama H, Okamoto H, Hoshiba K et al. Oral care reduces pneumonia in older patients in nursing homes. *J Am Geriatr Soc.* 2002; 50 (3): 430-433.
4. Marino PJ, Wise MP, Smith A, Marchesi JR, Riggio MP, Lewis MAO et al. Community analysis of dental plaque and endotracheal tube biofilms from mechanically ventilated patients. *J Crit Care.* 2017; 39: 149-155.
5. Munro CL, Grap MJ, Jones DJ, McClish DK, Sessler CN. Chlorhexidine, tooth brushing, and preventing ventilator-associated pneumonia in critically ill adults. *Am J Crit Care.* 2009; 18 (5): 428-437; quiz 438.
6. McGovern Murphy F, Raymond M, Menard PA, Bejar-Ardiles KR, Carignan A, Lesur O. Ventilator associated pneumonia and endotracheal tube repositioning: an underrated risk factor. *Am J Infect Control.* 2014; 42 (12): 1328-1330.
7. Ohara-Nemoto Y, Haraga H, Kimura S, Nemoto TK. Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria. *J Med Microbiol.* 2008; 57 (Pt 1): 95-99.
8. Rello J, Lode H, Cornaglia G, Masterton R; VAP Care Bundle Contributors. A European care bundle for prevention of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2010; 36 (5): 773-780.
9. Jaimes F, De La Rosa G, Gómez E, Múnera P, Ramírez J, Castrillón S. Incidence and risk factors for ventilator-associated pneumonia in a developing country: where is the difference? *Respir Med.* 2007; 101 (4): 762-767.
10. Santos GOD, Milanese FC, Greggianin BF, Fernandes MI, Oppermann RV, Weidlich P. Chlorhexidine with or without alcohol against biofilm formation: efficacy, adverse events and taste preference. *Braz Oral Res.* 2017; 31: e32.
11. DeRiso AJ 2nd, Ladowski JS, Dillon TA, Justice JW, Peterson AC. Chlorhexidine gluconate 0.12% oral rinse reduces the incidence of total nosocomial respiratory infection and non prophylactic systemic antibiotic use in patients undergoing heart surgery. *Chest.* 1996; 109 (6): 1556-1561.
12. Klompas M, Speck K, Howell MD, Greene LR, Berenholtz SM. Reappraisal of routine oral care with chlorhexidine gluconate for patients receiving mechanical ventilation: systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med.* 2014; 174 (5): 751-761.
13. Valdés C, Tomás I, Alvarez M, Limeres J, Medina J, Diz P. The incidence of bacteraemia associated with tracheal intubation. *Anaesthesia.* 2008; 63 (6): 588-592.
14. DeLuca LA Jr, Walsh P, Davidson DD Jr, Stoneking LR, Yang LM, Grall KJ et al. Impact and feasibility of an emergency department-based ventilator-associated pneumonia bundle for patients intubated in an academic emergency department. *Am J Infect Control.* 2017; 45 (2): 151-157.
15. Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RH, Bergmans DC, Camus C, Bauer TT et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13 (8): 665-671.
16. Righi E, Aggazzotti G, Ferrari E, Giovanardi C, Busani S, Rinaldi L et al. Trends in ventilator-associated pneumonia: impact of a ventilator care bundle in an Italian tertiary care hospital intensive care unit. *Am J Infect Control.* 2014; 42 (12): 1312-1316.
17. Okgün Alcan A, Demir-Korkmaz F, Uyar M. Prevention of ventilator-associated pneumonia: Use of the care bundle approach. *Am J Infect Control.* 2016; 44 (10): e173-e176.