UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

VANESSA CASTRO DE SOUZA E SILVA

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE ANTISSEPTICOS BUCAIS E
ANTIFÚNGICOS SOBRE *CANDIDA* spp. ISOLADAS NA SALIVA DE PACIENTES
ONCOLÓGICOS**

RIBEIRÃO PRETO
2009

VANESSA CASTRO DE SOUZA E SILVA

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE ANTISSEPTICOS BUCAIS E
ANTIFÚNGICOS SOBRE *CANDIDA* spp. ISOLADAS NA SALIVA DE PACIENTES
ONCOLÓGICOS**

Dissertação apresentada a Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Enfermagem junto ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem Fundamental.

Área de Concentração: Enfermagem Fundamental

Linha de pesquisa: Doenças Infecciosas: problemática e estratégias de enfrentamento

Orientadora: Prof^a.Dr^a Denise de Andrade

RIBEIRÃO PRETO

2009

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

Catálogo na publicação
Serviço de Documentação de Enfermagem
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo

Silva, Vanessa Castro de Souza

Avaliação antimicrobiana de antissépticos bucais e antifúngicos sobre *Candida* spp. isoladas na saliva de pacientes oncológicos.

98 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP Depto. de Enfermagem Geral e Especializada.

Orientadora: Andrade, Denise.

1. Candida. 2. Mucosite. 3. Anti-sépticos bucais.
4. Antifúngicos. 5. Neoplasias. 6. Saúde bucal.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Vanessa Castro de Souza e Silva

Avaliação antimicrobiana de antissépticos bucais e antifúngicos sobre *Candida* spp. isolados na saliva de pacientes oncológicos.

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Enfermagem Fundamental da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre. Linha de Pesquisa: Doenças Infecciosas: problemática e estratégias de enfrentamento

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

*Ao meu marido, que sempre me incentivou e esteve
ao meu lado. Pelo amor e compreensão de minha
ausência durante a elaboração deste estudo.*

*Aos meus pais pela vida, por todo afeto e apoio para
a busca desse sonho.*

*As minhas tias Maraisa e Marinês, que de muitas
formas sempre me apoiaram, obrigado por todo
carinho.*

*A Profa Denise, pela amizade verdadeira, por toda
orientação para elaboração desse estudo e por
acreditar na superação de todas as dificuldades.*

Agradecimentos

A Deus, pela vida, pelo amor, por toda força nos momentos de fraqueza e por estar presente em todas etapas desse estudo.

Aos médicos da Fundação Pio XII: Drº Paulo de Tarso, Drª Sônia Moriguchi, Drº Renato Affonso, Drº Eduardo Paton, Drª Izabel Zapparolli, por toda ajuda prestada.

As funcionárias Cristiane do Ensino e Pesquisa e Daniele da Biblioteca, pela compreensão, solidariedade e auxílio durante todo o trabalho.

Aos funcionários e dentistas da Fundação Pio XII, em especial ao Drº Hélió Massaiochi, e enfermeiras da hematologia, pelo apoio, ensinamentos e por toda contribuição para coleta da saliva dos participantes.

Aos funcionários da Radiologia, Camila, por permitir minhas ausências no trabalho, Ana Carolina, Ana Beatriz, Sandra, Izabel, Benedita e em especial a Cassilda, pela amizade sincera e incansáveis trocas de horários. Obrigada por tudo.

Aos médicos Drº José de Sá, Drº Mauro Bonadío, Drº Carlos Marçal e Drª Ângela Saito, do Instituto Médico de Diagnóstico por Imagem (IMEDI), e também aos funcionários, em especial Marcela, pela amizade, por toda ajuda e apoio, Mariângela Santos e Valdirene.

A Drª Cristine Galvão, obrigada pelas idéias e por toda contribuição.

Aos funcionários da FCFRP – USP, Mara e Aline, a doutoranda Andressa Piacezzi e o Profo Drº Evandro Watanabe pelo apoio nas análises laboratoriais e ensinamentos durante todo processo.

A Profª Drª Izabel Y. Ito, pela colaboração no processamento microbiológico.

A Profª Drª Helena Megumi, pelo carinho e apoio na construção desse estudo.

A doutoranda Paula, pelo auxílio e por acolher-me em sua casa durante as etapas finais do estudo, pelas alunas Meryane, Marcela e Daniele por toda contribuição.

*“mas como está escrito: Nem olhos viram, nem ouvidos
ouviram, nem jamais penetrou em coração humano o que Deus
tem preparado para aqueles que o amam”*

I Coríntios: Capítulo 2, versículo 9

RESUMO

SILVA, V. C. S. **Avaliação antimicrobiana de antissépticos bucais e antifúngicos sobre *Candida* spp. isoladas na saliva de pacientes oncológicos.** 2009. 98 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

A ocorrência de leveduras do gênero *Candida* spp. constitui uma ameaça a saúde bucal de pacientes oncológicos submetidos ao tratamento antineoplásico. Diante do exposto, objetivou-se no estudo avaliar as variáveis clínicas de pacientes oncológicos portadores ou não de *Candida* spp. na saliva; estimar a prevalência dessas cepas, avaliar a atividade antimicrobiana dos antissépticos bucais e, determinar o perfil de sensibilidade aos antifúngicos. Foram coletadas amostras de salivas de pacientes oncológicos, com e sem mucosite. A saliva foi submetida a diluição decimal seriada até 10^{-3} e semeada em meio de cultura (CHROMagar™ *Candida*) para quantificação das unidades formadoras de colônias por mililitro de saliva (UFC/mL). Também, realizaram-se provas bioquímicas específicas para identificação das espécies. Na avaliação da atividade antimicrobiana dos antissépticos bucais (Periogard®, Cepacol® Cool Ice e Clorexidina a 0,12%) utilizou-se a Diluição Inibitória Máxima (DIM). O perfil de sensibilidade destas cepas a anfotericina B e fluconazol foi realizado pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) por meio das fitas Etest®. Na análise estatística utilizou-se os testes não paramétricos de McNemar e Wilcoxon, com nível de significância ($\alpha=0,05$). Totalizou-se 34 pacientes dos quais 79,4% eram masculinos e 19(55,9%) estavam com mucosite. Das amostras de saliva 9(26,5%) eram positivas para *Candida* spp.. Evidenciou-se 12 cepas distintas de *Candida* spp., sendo 7(20,6%) *C. albicans*, 3(8,8%) *C. glabrata* e 2(5,9%) *C. tropicalis*. A mucosite foi mais freqüente 66,7% nos portadores de *Candida*. Comparando os resultados da DIM foi possível verificar que o Cepacol® Cool Ice apresentou os melhores resultados. A Clorexidina a 0,12% teve a pior atividade, sendo que 4 (11,8%) das cepas não foram inibidas na diluição de 1:10. Com relação ao perfil de sensibilidade, todas cepas foram sensíveis a anfotericina B e 2 (5,9%) das cepas de *Candida glabrata* apresentaram sensibilidade dose dependente ao fluconazol. Pesquisas adicionais são

necessárias sobre o uso de antissépticos na manutenção da saúde bucal desses pacientes, especialmente, considerando o elevado risco de mucosite.

Palavras-chave: *Candida*, mucosite, anti-sépticos bucais, antifúngicos, neoplasias, saúde bucal.

ABSTRACT

SILVA, V. C. S. **Antimicrobial assessment of mouthwashes and antifungals against *Candida* spp. isolated in the saliva of cancer patients.** 2009. 98 f. Thesis (Masters) – University of São Paulo at Ribeirão Preto College of Nursing, Ribeirão Preto, 2009.

The occurrence of *Candida* spp. is a threat to the oral health of cancer patients undergoing antineoplastic treatment. This study described the clinical variables of cancer patients with or without *Candida* spp. in the saliva; determined the prevalence of these strains, and assessed mouthwashes' antimicrobial activity and the sensitivity profile to antifungals. Saliva samples of cancer patients, with or without mucositis, were collected. Saliva was subject to serial decimal dilution up to 10^{-3} and sowed in culture (CHROMagar™ *Candida*) to quantify the number of colony forming units per milliliter of saliva (CFU/mL). Specific biochemical tests were also done to identify the species. The Maximum Inhibitory Dilution (MID) was used to assess the antimicrobial activity of the mouthwashes (Periogard®, Cepacol® Cool Ice and 0.12% Chlorhexidine). The sensitivity profile of the strains as to amphotericin B and fluconazole was done by the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), using Etest® strips. Non-parametric McNemar and Wilcoxon tests were used for statistical analysis, with level of significance ($\alpha = 0.05$). Of the 34 patients, 79.4% were male and 19 (55.9%) had mucositis. 9(26.5%) tested positive for *Candida* spp. in the saliva. Regarding the diversity of species, the study evidenced 12 different strains of *Candida* spp., 7 (20.6%) *C. albicans*, 3(8.8%) *C. glabrata* and 2 (5.9%) *C. tropicalis*. Mucositis was more common in patients with *Candida*, 66.7%. Comparing the MID results, it was verified that Cepacol® Cool Ice presented better results than other products. The worst activity was presented by 0.12% Chlorhexidine, 4(11.8%) of the strains were not inhibited at 1:10 dilution. As to the sensitivity profile, all strains were sensitive to amphotericin B and 2 (5.9%) strains of *Candida glabrata* were Dose-Dependent Sensitive to fluconazole. Additional research is needed to broaden the scientific evidences of the use of antiseptics in the maintenance of these patients' oral health, especially considering the high risk of mucositis.

Key words: *Candida*, mucositis, mouthwashes, antifungal, neoplasms, oral health.

RESUMEN

SILVA, V. C. S. **Evaluación antimicrobiana de antisépticos bucales y antifúngicos sobre *Candida* spp. aisladas en la saliva de pacientes oncológicos.** 2009. 98 f. Disertación (Maestría) – Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

La ocurrencia de *Candida* spp. constituye una amenaza a la salud bucal de pacientes oncológicos sometidos al tratamiento antineoplásico. Ese estudio describió las variables clínicas de pacientes oncológicos portadores o no de *Candida* spp. en la saliva; determinó la prevalencia de esas cepas, y evaluó la actividad antimicrobiana de los antisépticos bucales y del perfil de sensibilidad a los antifúngicos. Fueron recolectadas muestras de salivas de pacientes oncológicos, con y sin mucositis. La saliva fue sometida a dilución decimal seriada hasta 10^{-3} y sembrada en medio de cultura (CHROMagar™ *Candida*) para cuantificación de las unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro de saliva (UFC/mL). También se realizó testes bioquímicas específicos para identificación de las especies. La Dilución Inhibitoria Máxima (DIM) fue utilizada en la evaluación de la actividad antimicrobiana de los antisépticos bucales (Periogard®, Cepacol® Cool Ice y Clorhexidina 0,12%). El perfil de sensibilidad de esas cepas a anfotericina B y fluconazol fue realizado por la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), por medio de las tiras Etest®. En el análisis estadístico, se utilizó los testes no paramétricos de McNemar y Wilcoxon, con nivel de significancia ($\alpha = 0,05$). De los 34 pacientes, el 79,4% era masculino y 19 (55,9%) estaban con mucositis. 9(26,5%) fueron positivos para *Candida* spp. en la saliva. Se evidenció 12 cepas distintas de *Candida* spp., siendo 7 (20,6%) *C. albicans*, 3 (8,8%) *C. glabrata* y 2 (5,9%) *C. tropicalis*. La mucositis fue más presente en los portadores de *Candida*, 66,7%. Comparando los resultados de la DIM se verificó que el Cepacol® Cool Ice presentó mejores resultados que los otros productos. La Clorhexidina 0,12% tuvo la peor actividad, siendo que 4 (11,8%) de las cepas no fueron inhibidas en la dilución de 1:10. Con relación al perfil de sensibilidad, todas las cepas fueron sensibles a la anfotericina B y 2 (5,9%) de las cepas de *Candida glabrata* presentaron sensibilidad dosis dependiente (SDD) al fluconazol. Investigaciones adicionales son necesarias para ampliar las evidencias científicas sobre el uso de antisépticos

en la manutención de la salud bucal de esos pacientes, especialmente considerando el elevado riesgo de mucositis.

Palabras clave: *Candida*, mucositis, antisépticos bucales, antifúngicos, neoplasias, salud bucal.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Interpretação da sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Candida</i> spp.....	51
Tabela 2-	Caracterização clínica dos pacientes atendidos em um hospital oncológico.....	55
Tabela 3-	Distribuição dos pacientes segundo o tipo de espécie de <i>Candida</i> spp.. Ribeirão Preto – SP, 2009.	60
Tabela 4-	Distribuição dos pacientes oncológicos segundo a presença de <i>Candida</i> spp. e de mucosite. Ribeirão Preto – SP, 2009.	63
Tabela 5-	<i>Candida</i> spp. em unidades formadoras de colônias por mililitro de saliva (UFC/mL)	66
Tabela 6-	Diluição Inibitória Máxima (DIM) de antissépticos bucais frente as cepas de <i>Candida</i> spp. isoladas da saliva de pacientes de um hospital oncológico. Ribeirão Preto – SP, 2009.	70
Tabela 7-	Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre cepas de <i>Candida</i> spp. isoladas na saliva de pacientes oncológicos. Ribeirão Preto – SP, 2009.	76
Tabela 8-	Perfil de sensibilidade sobre cepas de <i>Candida</i> spp. Ribeirão Preto – SP, 2009.....	77
Tabela 9-	Uso profilático de fluconazol e presença ou não de mucosite. Ribeirão Preto – SP, 2009.	78

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Escala de Toxicidade Bucal da OMS.....	39
Quadro 2-	Técnica de coleta, armazenamento e transporte de saliva e suas respectivas justificativas de execução.....	40
Quadro 3-	Provas bioquímicas para identificação de leveduras, Zimograma (fermentação de carboidratos) e Auxanograma (assimilação de carboidratos).	68
Quadro4-	Provas bioquímicas para identificação de leveduras, Auxanograma (assimilação de nitrogênio) e Tubo germinativo.	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Diagrama de aderência bacteriana e superfície dentária. Adaptado de Kolenbrander e London (1993).....	23
Figura 2-	Processo de homogeneização da saliva e tubos (A), Placas utilizados na diluição decimal seriada (B).....	44
Figura 3-	Fluxograma para isolamento e identificação de leveduras na saliva	45
Figura 4-	Preparação da lâmina de microcultivo em ágar fubá (A), Incubação em câmara úmida (B).....	46
Figura 5-	Visão panorâmica dos tubos preparados para teste de fermentação de carboidratos	48
Figura 6-	Fluxograma da DIM	50
Figura 7-	Fita Etest [®] (AB Biodisk – Solna, Suécia).....	51
Figura 8-	Visão panorâmica de <i>Candida spp.</i> isoladas da saliva: A - <i>C. tropicalis</i> (azul), B – <i>C. albicans</i> (verde), <i>C. glabrata</i> (rosa).....	62
Figura 9-	Aspectos clínicos da candidíase pseudomenbranosa (A) e da mucosite (B).....	63
Figura 10-	Visão panorâmica de <i>C. albicans</i> de saliva <i>innatura</i> (A), <i>C. albicans</i> na diluição da saliva a 10^{-1} (B), <i>C. albicans</i> na diluição da saliva a 10^{-2} (C), <i>C. albicans</i> na diluição da saliva a 10^{-3} (D).....	65
Figura 11-	Perfil de sensibilidade de <i>Candida glabrata</i> ao fluconazol e anfotericina B.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHX	Clorexidina
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COX-2	Cicloxigenase 2
DIM	Diluição Inibitória Máxima
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
MASCC/ISOO	Multinational Association of Supportive Care em Cancer
MBI	Injúria das Barreiras Mucosas
OMS	Organização Mundial da Saúde
QT	Quimioterapia
RT	Radioterapia
TMO	Transplante de Medula Óssea
TNF α	Fator- α de necrose tumoral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Condição clínica bucal na perspectiva da saúde integral	21
1.2. Aspectos fisiopatológicos da mucosite: considerações gerais	25
1.3 <i>Candida spp.</i> e suas implicações clínicas	29
1.3.1. Distribuição das espécies de <i>Candida spp.</i> relacionados a mucosite e sua implicação clínica.....	30
2 OBJETIVOS.....	36
3. MATERIAL E MÉTODO	38
3.1. Tipo e local de estudo	38
3.2. Participantes do estudo	38
3.3. Variáveis do estudo	39
3.4. Conceito adotado	39
3.5. Coleta das amostras de saliva	39
3.6. Etapa microbiológica	41
3.6.1. Meios de cultura	41
3.6.2. Semeadura e Identificação de <i>Candida spp.</i>	44
3.6.2.1. Estudo da micromorfologia	46
3.6.2.2. Formação do tubo germinativo	46
3.6.2.3. Teste de assimilação de fonte de carbono e nitrogênio (auxanograma)	47
3.6.2.4. Teste de fermentação de carboidratos (zimograma)	47
3.6.2.5. Crescimento a 37°C e 42°C.....	48
3.7. Determinação da Diluição Inibitória Máxima (DIM) aos antissépticos bucais sobre as cepas isoladas da saliva.....	48
3.8. Determinação do perfil de sensibilidade aos antifúngicos (Concentração Inibitória Mínima -CIM)	50
3.8.1. Preparação do inóculo.....	52
3.8.2 Incubação e identificação	52
3.9. Procedimentos Éticos em Pesquisa	53
3.10. Análise estatística dos dados	53

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1. Caracterização clínica	55
4.2. Prevalência de Candida spp. na saliva.....	60
4.2.1. Unidades formadoras de colônias por mililitro de saliva (UFC/mL)	64
4.3. Diluição Inibitória Máxima (DIM) de antissépticos bucais sobre cepas de Candida spp. isoladas na saliva de pacientes oncológicos	69
4.4. Perfil de sensibilidade de Candida spp. à antifúngicos	76
5. CONCLUSÕES	82
6. REFERÊNCIAS.....	85

ANEXO

APÊNDICE

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

O número de casos de câncer tem aumentado de maneira considerável, configurando-se, na atualidade, como um dos mais importantes desafios em âmbito mundial. Das diversas causas de morte no mundo, o câncer é a única que continua a crescer independente do país ou continente e, nos países em desenvolvimento, é responsável por uma entre dez mortes. A distribuição dos diferentes tipos de câncer apresenta-se variável em função de múltiplos fatores o que inclui as características individuais, variações geográficas e os hábitos de vida. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), ocorre anualmente em todo o mundo mais de 10 milhões de casos novos e 6 milhões de mortes por câncer. Cerca de 4,7 milhões de casos novos ocorrem nos países desenvolvidos, enquanto 5,5 milhões ocorrem naqueles economicamente menos desenvolvidos (ALEXANDER; BOYCE; BABCOCK, 1990;).

Ainda, a OMS alerta que o câncer, nos próximos vinte anos duplicará o número de óbitos, sendo que a maioria dos indivíduos terá o diagnóstico já com a doença em fase avançada e incurável.

Os avanços científicos-tecnológicos representados pelas intervenções cirúrgicas, farmacológicas e radiológicas, entre outras tem amenizado a gravidade deste contexto. Tais intervenções têm proporcionado a melhoria expressiva nas taxas de sobrevivência. Cabe mencionar que o sucesso dessas ações exige uma abordagem integral do indivíduo e atuação interdisciplinar dos profissionais.

Esta incorporação de densidade tecnológica deve agregar maior qualidade no cuidado as pessoas com doença oncológica considerando o rigor na realização de procedimentos como fator primordial para a segurança do paciente.

Um mecanismo primário, que assegura um cuidado de qualidade, na redução da transmissão de agentes infecciosos é, sem dúvida, a lavagem das mãos, que há tempos os profissionais de controle de infecção militam pela adesão. Esta medida é fundamental para reduzir o risco de infecção entre pacientes expostos a procedimentos invasivos (WEY; COLOMBO, 1997; LARSON, 1999).

No entanto, aspectos relacionados à toxicidade dos agentes anti-neoplásicos, ainda representam um desafio aos profissionais nas atividades de cuidado. Vale destacar que o nível de toxicidade está diretamente relacionado à dose, a

combinação de drogas, a duração, a condição clínica do paciente, entre outros fatores associados.

É sabido que a quimioterapia (QT) e a radioterapia (RT) são responsáveis pela erradicação das células atípicas, mas também, podem comprometer as células normais acarretando diferentes complicações orgânicas. Estas podem ser locais ou sistêmicas e debilitam ainda mais os pacientes oncológicos, e com agravos clínicos multifatoriais. Um dos mais frequentes comprometimentos clínicos está relacionado com a cavidade bucal.

Na literatura, cerca de 70% dos pacientes oncológicos submetidos ao tratamento antineoplásicos apresentam complicações bucais, decorrentes de estomatotoxicidade direta ou indireta, como mucosite, xerostomia, infecções fúngicas ou virais (MARTINS; CAÇADOR E GAETI, 2002).

A temática saúde bucal nos pacientes oncológicos ou imunossuprimidos constitui um desafio aos profissionais de saúde, o que justifica a vasta literatura nas últimas décadas (DORO et al., 2005; GORDON-NÚÑEZ et al., 2005; WEY, 1997).

Os principais sinais e sintomas bucais nos pacientes em tratamento com antineoplásicos são: sangramento, dor, mudança na produção salivar, ulcerações e infecções.

A literatura pesquisada sobre as recomendações da higiene bucal em pacientes oncológicos com mucosite é escassa e contraditória. Em geral, recomenda-se que seja realizada quatro vezes ao dia, enfatizando especial cuidado com o ressecamento das membranas mucosas (POTTER; PERRY, 1997; WOLFF et al., 1983). Os pacientes hospitalizados geralmente não recebem a assistência integral que necessitam. Apesar de a higiene bucal ser uma prática fundamental no cuidado do paciente hospitalizado, garantir essa prática representa um desafio. (McNEILL, 2000; POTTER; PERRY, 1997; WOLFF et al., 1983).

Os agentes antimicrobianos mais eficazes são aqueles que permanecem na boca por maior tempo, ou seja, mantêm a substantividade. Entende-se por substantividade a capacidade do produto de manter por um tempo prolongado na superfície de um substrato. Nas infecções dentais este efeito é de extrema importância, pois o agente antimicrobiano requer um tempo para inibir o microrganismo e eliminá-lo. (BASCONES; MUDARRA; PEREA, 2002).

1.1. Condição clínica bucal na perspectiva da saúde integral

A cavidade bucal mantém íntima relação com o sistema digestivo e respiratório, através da faringe a qual é dividida em três partes: nasal (nasofaringe), bucal (bucofaringe), e da laringe (laringofaringe). Os dentes, a língua e a saliva são estruturas que auxiliam no processo mastigatório, digestivo e, também na proteção anti-infecciosa. A saliva e o fluido gengival têm uma importante contribuição na manutenção da saúde bucal, devido à limpeza, capacidade tampão, atividade antimicrobiana, lubrificação, entre outras (PEREIRA, 2003).

Outras substâncias encontradas na saliva atuam no mecanismo de defesa (a lisozima promove a lise de parede celular e bactérias Gram-positivas; a lactoferrina causa depleção de ferro, a lactoperoxidase é uma enzima bacteriostática; as glicoproteínas interferem com a agregação bacteriana; e a IgA compete com a aderência bacteriana), neutralização de ácidos e bases fortes. O papel antimicrobiano é desempenhado por várias proteínas salivares, como enzimas, glicoproteínas e imunoglobulinas (BACALTCHUK; JACOBS, 2005; LUZ; BIRMAN, 1996; MANDEL, 1987; JUNIOR RAPHAEL; SANTOS et al., 2001; ZUMAÊTA, 1999).

O fluxo salivar é definido como a quantidade de saliva secretada por um determinado tempo, que banha a boca e distribui uma infinidade de compostos. O valor normal de referência é de 1 a 2 ml/min para o adulto normal. A diminuição do fluxo salivar é causada por mudanças orgânicas e funcionais, atingindo o sistema salivar, em diferentes níveis. O centro de secreção salivar pode ser influenciado por emoções, doenças orgânicas ou drogas. A via autônoma pode ser afetada por encefalites, tumores cerebrais, operações neurológicas, acidentes e pela ação de um grande número de drogas. A própria função da glândula salivar pode ser diminuída devido à aplasia, à obstrução, à irradiação, à idade e às doenças sistêmicas, como a síndrome de Sjögren (FERRARI; AVERSA, 2002; RAMOS et al., 2001).

No sulco gengival tem-se imunoglobulina G e M ao lado de células e fatores séricos, também com propriedades antibacterianas. Ao lado de todos esses fatores, soma-se a capacidade da microbiota residente em competir com as bactérias exógenas na ocupação de receptores químicos específicos, existentes nas

superfícies das células epiteliais e da mucosa, por meio de adesinas (SPENCE, 1991).

A microbiota bucal co-existe harmonicamente com o hospedeiro, mantendo uma homeostasia microbiológica, denominada de comensalismo, mas por diversos fatores, pode tornar-se patogênica, ou seja, prejudicial à saúde. A composição da microbiota bucal depende do local, do pH, do potencial de oxi-redução, da disponibilidade de nutrientes e água, da anatomia das estruturas bucais, do fluxo salivar e das substâncias antimicrobianas presentes na saliva (ABOPREV, 2001; COSTERNON; STEWART; GREEMBERG, 1999; FITZPATRICK, 2000; PEREIRA, 2003).

Em síntese, cabe explicar que a microbiota bucal de um indivíduo saudável é diversificada e complexa podendo estar aderida nos dentes e/ou em mucosas. Presume-se aproximadamente 550 a 600 espécies de bactérias na boca, além de vírus e fungos. As espécies mais comuns são *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrius*, *Lactobacillus* spp., *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces* spp., *Porphyromonas gingivallis*, *Porphyromonas intermedia*, *Wolinella recta*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eubacterium corrodens*, *Jannerellam forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema* spp. (AMARAL, 2001; JORGE, 1998; SCANNAPIECO; BUSH; PAJU, 2003).

Essa composição microbiana quando aderida na estrutura dentária ou na mucosa bucal é denominada placa dentária ou placa bacteriana; cuja terminologia, atualmente denominado de biofilme dentário ou biofilme bucal (ABOPREV, 2001; PANNUTI, 2003; PEREIRA, 2003).

Segundo Pereira (2003), a formação do biofilme dentário apresenta os seguintes estágios:

- Formação da película adquirida (constituído por macromoléculas presentes na saliva);
- Aderência microbiana inicial (representa o início da colonização das bactérias na película adquirida, após duas a quatro horas sem higienização);
- Maturação da placa dental (corresponde ao crescimento e acúmulo do biofilme placa dentária, isto é, as bactérias se agregam entre si para formar essa estrutura, sendo os principais microrganismos encontrados nessa fase são: *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* e *Prevotella*.

Na Figura 1 que se segue tem-se o esquema de aderência bacteriana, do biofilme no dente.

Figura 1 - Diagrama de aderência bacteriana a superfície dentária.
Adaptado de Kolenbrander e London. (1993).

Em torno de 1960, o pesquisador Johannes van Houte e Ronald Gibbons, mencionaram pela primeira vez a inter-relação do biofilme placa dentária como problema de saúde bucal, acarretando perda de dente e gengivite. Em 1970, Thomas Marrie detectou biofilme cobrindo o coração e cateteres urinários, também afirmando que esse biofilme leva a infecções nas vesículas e em outros órgãos. Nos anos 80, Joseph Lam da Universidade de Copenhagem na Dinamarca, com métodos mais avançados confirmou presença de biofilme em fibrose cística nos pulmões. Nels Hoiby da mesma faculdade, em estudos mais recentes, comprovou a presença da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, em pacientes com pneumonia (POTERA, 1999).

O biofilme é uma estrutura altamente organizada, suas bactérias produzem um carboidrato polissacarídeos que funcionam como barreira, os quais não permitem a entrada de anticorpos ou antimicrobianos (COSTERNON; STEWART; GREENBERG, 1999).

Portanto, para provocar uma doença ou processo infeccioso, o microrganismo necessita entrar em contato com o hospedeiro, superar os componentes de sua microbiota autóctone, adaptar-se ao meio existente, aderir à superfície epitelial ou penetrar nos tecidos, multiplicar, resistir ou não estimular os mecanismos de defesa e provocar danos, geralmente subvertendo o metabolismo celular, produzindo fatores líticos ou potentes toxinas. Ocorre uma interação físico-química entre as superfícies microbianas e os receptores tissulares do hospedeiro, o que explica a especificidade dos microrganismos aos diferentes sítios do corpo humano (SILVERMAN; EVERSOLE; TRUELO,2004).

As complicações clínicas decorrentes de infecções periodontais favorecem a invasão dos agentes etiológicos ou de outros microrganismos que têm sua penetração favorecida pelos danos na integridade epitelial. Estas infecções são favorecidas por alterações do epitélio bucal, ocasionadas pela idade avançada, drogas antineoplásicas ou deficiência de vitamina C, assim como o uso de antibióticos sistêmicos que promovem alterações na microbiota bucal, inclusive a ocorrência de estomatite por *Candida* spp. (SILVERMAN; EVERSOLE; TRUELO,2004).

Além disso, a diminuição do fluxo salivar decorrentes do jejum, ou da desidratação, ou de outros problemas como a xerostomia e paralisia dos movimentos da boca determinam a superpopulação bacteriana. Nesses casos, como uma das medidas preventivas dos agravos, tem-se a higiene rigorosa e frequente da boca (SILVERMAN; EVERSOLE; TRUELO,2004).

A infecção dentária também pode disseminar-se por contiguidade, levando às infecções graves do espaço fascial profundo do pescoço, que às vezes afeta estruturas críticas como os grandes vasos, levando às complicações letais como a mediastinite, algumas complicações infecciosas, particularmente em pacientes imunossuprimidos, com próteses valvulares ou ortopédicas (SILVERMAN; EVERSOLE; TRUELO,2004).

Tem sido expressiva a literatura sobre a correlação entre doenças como pneumonia e doença coronariana com a microbiota bucal e a doença periodontal. Ainda, destacam que o comprometimento do sistema imunológico tem maior

vulnerabilidade para desenvolver infecções bacterianas e/ou viróticas proveniente do biofilme dentário considerando:

- Estado clínico do paciente que apresenta sistema imunológico debilitado, em consequência ao estresse do processo anestésico-cirúrgico (procedimentos cirúrgicos e/ou invasivos), uso de antibioticoterapia (surgimento da multiresistência das cepas); a hipersalivação (devido ao refluxo gástrico provocado pela intubação); desidratação terapêutica e xerostomia (redução do fluxo salivar). A xerostomia pode ser também por consequência de várias drogas como, antihipertensivos, anticolinérgicos, antihistamínicos, antipsicóticos, anticonvulsivos, antineoplásicos, antidepressivos e diuréticos; além disso, pacientes inconscientes são suscetíveis ao ressecamento das secreções salivares mucoespessadas por estarem incapacitados de comer, beber e respirar (GRAP et al., 2003; OKUDA et al., 2003; POTTER; PERRY, 1997).

Como já mencionado a quimioterapia (QT) imunossupressora e a radioterapia (RT) em pacientes oncológicos induzem a complicações clínicas diversas com destaque a mucosite.

É importante ressaltar que estes tratamentos são realizados em fase anterior ao procedimento cirúrgico, o que agrava ainda mais a condição clínica do paciente e aumenta o risco de complicações como infecções.

1.2. Aspectos fisiopatológicos da mucosite: considerações gerais

A mucosite é uma inflamação severa da mucosa bucal que se manifesta por formação de úlcera, sangramento, eritema e formação de exsudato (SAADEH, 2005). Este tipo de inflamação começa entre 3 a 5 dias e atinge seu pico máximo de 7 a 14 dias, é um mecanismo que envolve eventos biológicos complexos (CHENG; CHANG; YUEN, 2004).

Tanto a QT e a RT geram radicais livres que causam danos aos tecidos da mucosa bucal. Os leucócitos e as células da mucosa bucal têm renovação similar e com o pico de neutrofilia entre o 7º e 10º dia de QT, o que justifica o agravo da mucosite. Na RT a lesão da mucosa bucal está associada a quantidade de radiação administrada. A mucosite aparece nos primeiros dias de tratamento e pode persistir

por muitas semanas. O tipo de câncer e o tratamento antineoplásico influenciam no desenvolvimento e o agravamento da mucosite.

Outros fatores associados para o aparecimento da mucosite estão o sexo e a idade do paciente, a saúde dentária, a nutrição, o tratamento e a neutropenia. A incidência da mucosite ocorre em 40% dos pacientes submetidos à quimioterapia e aproximadamente 100% nos pacientes oncológicos de cabeça e pescoço em radioterapia. Nos pacientes de transplante de medula óssea (TMO) a mucosite ocorre em cerca de 80% (VANNICE, 2009).

Stiff (2000) relata que a mucosite é consequência dos efeitos tóxicos do uso de altas doses de quimioterapia ou radioterapia. Muitos sintomas são identificados no paciente como vômitos, náuseas, alterações alimentares e do sono, o que interfere na qualidade de vida e na realização de procedimentos do tratamento indicado. Este autor ressalta que o uso de recombinantes hematopoiéticos, associados aos agressivos regimes de condicionamento aumentam a toxicidade da mucosa bucal e do trato digestivo, o que favorece a severidade e prevalência da mucosite e retarda o tratamento e os custos da terapia.

A integridade da mucosa da boca pode ser danificada pela ação desses procedimentos terapêuticos antineoplásicos. Isso tem início com um eritema mucoso generalizado, logo após o início do tratamento, e ao longo deste, no caso dos pacientes submetidos à TMO, pode ocorrer a desintegração progressiva da mucosa, com descamação e ulceração. Neste período, o paciente apresenta dor devido a lesão da mucosa, os movimentos da boca estarão prejudicados, dificultando ou tornando impossível a alimentação.

Na evolução da mucosite muitas infecções bucais estão associadas ao processo, comprometendo mucosa, gengiva e dentes e ser causadas por bactérias, vírus ou fungos (ANDERS et al., 2000).

Blijlevens (2000) relata que a injúria das barreiras mucosas (MBI) é o termo mais apropriado para o processo biológico da mucosite apesar de não existir clareza de terminologia para definir os diversos sinais e sintomas apresentados.

Sonis (1998) propôs um modelo patobiológico da mucosite, na tentativa de incorporação e esclarecimento do conhecimento atual, acerca da MBI bucal. Esse modelo descreve quatro sucessivas fases, com variação do tempo estimado para cada uma destas: - A *Fase Vascular /Inflamatória* ocorre, em consequência de liberação de citocinas para o tecido epitelial como o fator de necrose tumoral alfa,

interleucina-1(IL-1) e talvez interleucina-6 (IL-6). A radiação ionizante também provoca liberação de citocinas para o tecido conectivo adjacente e provavelmente as citocinas sejam as causadoras locais de danos nos tecidos. A vascularização aumentada que é causada pela IL-1, resultante das concentrações adicionais das drogas citotóxicas na mucosa.

- Na *Fase Epitelial* a radioterapia e a quimioterapia afetam a fase S do ciclo celular causando impacto na divisão das células basais do epitélio, o que resulta na redução da renovação epitelial, atrofia e ulceração. - A *Fase Ulcerativa* é sintomática e, talvez a mais complexa, nessa fase ocorre erosões mais profundas, cobertas muitas vezes por fibrina pseudomembranosa. A colonização secundária das lesões acontece com a própria microbiota, incluindo microrganismos gram-negativos e endotoxinas (lipossacarídeos), que estimulam novamente a liberação de citocinas e o tecido conectivo em volta das células. As citocinas adicionam ácido nítrico, intensificando as condições e sintomas nos pacientes. A fase ulcerativa ocorre geralmente no período de neutropenia máxima do paciente. - A *Fase Cicatrização* ocorre com a proliferação, renovação epitelial, diferenciação, normalização das células brancas e restabelecimento da microbiota no local.

Mais recentemente Sonis et al. (2004) consideraram a mucosite como um complexo processo biológico que pode ocorrer em 5 fases:

- *Iniciação*: a radioterapia e/ou quimioterapia pode iniciar a mucosite por ação direta ao DNA e dos fatores oxidativos e dos radicais livres, que estão presentes no epitélio bucal, levando a danos celulares, nos tecidos, nos vasos sanguíneos e outros eventos biológicos.

- *Super-regulação*: múltiplos eventos ocorrem simultaneamente. Fatores oxidativos causam destruição do DNA levando a morte celular; a ativação de outros fatores de transcrição em resposta aos fatores oxidativos; QT ou RT resultam em super-regulação gênica, incluindo os genes fator- α de necrose tumoral (TNF- α); as interleucinas IL-1 e IL-6 levam a injúria tecidual e apoptose das células da submucosa e das células da camada basal do epitélio. Outros genes também são super-regulados, conduzindo à expressão de moléculas de adesão, ciclooxigenase-2 (COX-2) e subsequente angiogênese.

- *Sinalização e amplificação*: é provável que as citocinas pró-inflamatórias também executem uma função indireta na amplificação da injúria da mucosa iniciada pela RT

e QT, os danos nessa fase estão na submucosa e camada basal do epitélio, onde clinicamente, a aparência da mucosa é normal.

- *Ulceração*: resultado das citotoxicidades nas células primordiais da camada basal caracterizado por alterações atróficas, que culminam em ulceração. Os macrófagos (produtos oxidativos mediados por células T, ativadas e precedidas pela produção de moléculas de adesão) representam a resposta inflamatória intermediária, pois nessa fase pode ocorrer colonização bacteriana que vai ativar esses macrófagos teciduais, aumentando as citocinas pró-inflamatórias, que irão amplificar e acelerar os danos teciduais.

- *Cicatrização*: inicia-se com um sinal da matriz extracelular que leva a uma renovação do epitélio, diferenciação e restabelecimento da microbiota, o que pode acontecer simultaneamente à recuperação da medula óssea, com o aumento de leucócitos. Após essa fase, a mucosa bucal parece normalizar. Pode haver angiogênese residual e o paciente fica susceptível a futuros episódios de mucosite e outras complicações, decorrentes da terapia oncológica.

É de extrema importância a prevenção do desenvolvimento de inflamações das membranas mucosas da boca, para que não ocorram infecções sistêmicas, causadas por microrganismos como bactérias e fungos. (PITTEN et al., 2003).

Pesquisadores relatam que na boca, a candidíase bucal pode se manifestar devido a alguns fatores como uso de antibioticoterapia, higiene bucal deficiente, uso de terapia antineoplásica, entre outros. Uma das terapias antineoplásicas que compromete o sistema imune e a homeostasia salivar é a QT, constituindo sendo uma porta de entrada para infecções fúngicas na boca, durante ou após o tratamento (KAM; LIN, 2002; REX; SO BEL, 2001).

Na radioterapia, os pacientes também têm forte probabilidade tendência em adquirir infecções bucais, causadas por fungos e bactérias. A candidose bucal é uma infecção comum em pacientes oncológicos irradiados na região da cabeça e pescoço, com incidência entre 17 e 29%, pois a radioterapia diminui o fluxo salivar, que é um fator de risco para a candidose (JHAM; FREIRE, 2006).

1.3 *Candida* spp. e suas implicações clínicas

Em hospitais, a prevalência do gênero *Candida*, é de cerca de 80% das infecções fúngicas documentadas. Representa um desafio aos profissionais de saúde principalmente, considerando às dificuldades diagnósticas e terapêuticas dessas infecções (BANERJEE et al., 1991).

As leveduras do gênero *Candida* têm grande importância pela alta frequência, com que colonizam e infectam o hospedeiro humano. Várias espécies de *Candida* são encontradas no tubo gastrointestinal, em 20 a 80% da população adulta saudável. Entre as mulheres, cerca de 20 a 30% apresentam colonização em região vaginal por *Candida*. São também encontrados entre 30% a 60% na saliva de indivíduos sadios.

Infecções por *Candida* spp. envolvem um espectro amplo de doenças superficiais e invasivas, acometendo indivíduos expostos a uma grande diversidade de fatores de risco. Infecções de pele e mucosas, podem ser documentadas em pacientes saudáveis, mas com pequenas alterações locais de resposta do hospedeiro no sítio da infecção por *Candida*. Por outro lado, infecções sistêmicas por *Candida* spp. podem comprometer vísceras como resultado de disseminação hematogênica da levedura pelo organismo. E, as complicações infecciosas, geralmente documentadas em pacientes críticos, portadores de doenças degenerativas e/ou neoplásicas (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSE, 2003).

Acresce-se que, estes microrganismos tornam-se patogênicos, caso ocorram alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro ou o comprometimento de barreiras anatômicas secundariamente a queimadura ou procedimentos invasivos. As alterações dos mecanismos de defesa do hospedeiro podem ser decorrentes de mudanças fisiológicas características da infância (prematuridade) e do envelhecimento ou mais frequentemente, associadas a doenças crônicas, neoplásicas, imunodeficiências congênitas ou adquiridas, e imunodepressão consequente aos tratamentos (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSE, 2003).

As peculiaridades apresentadas por diferentes espécies de *Candida* spp., do ponto de vista epidemiológico e terapêutico, justificam a necessidade de identificar as leveduras ao nível de espécie, quando estes microrganismos estão associados a indivíduos debilitados. Este procedimento é fundamental para permitir a escolha da

melhor abordagem terapêutica a ser instituída no paciente infectado. Em relação aos aspectos epidemiológicos, esta identificação é a etapa fundamental para monitorização das taxas de infecção hospitalar, bem como, para a identificação precoce de surtos de infecções por *Candida*.

1.3.1. Distribuição das espécies de *Candida* spp. relacionados a mucosite e sua implicação clínica

Nos últimos anos, vem aumentando o número de infecções invasivas causadas por espécies de *Candida* não *albicans*. Em 1963, eram conhecidas apenas cinco espécies de *Candida* como causadoras de doenças em humanos, incluindo *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea* (*Candida albicans* var *stellatoidea*) e *C. guilliermondii*. Atualmente, são conhecidas cerca de dezessete espécies de *Candida*, causadoras de micoses superficiais ou invasivas, em seres humanos (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSE, 2003).

As principais espécies de interesse clínico são: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii* e *Candida lusitanae*. Entretanto, um número progressivo de casos de doenças superficiais e invasivas relacionadas a espécies emergentes de *Candida* têm sido descrito, envolvendo isolamentos de *Candida dubliniensis*, *Candida kefyr*, *Candida rugosa*, *Candida famata*, *Candida utilis*, *Candida lipolytica*, *Candida norvegensis*, *Candida inconspicua* entre outras (COLEMAN et al., 1998).

Nas casuísticas, em âmbito mundial, *Candida albicans* é, a espécie mais frequentemente isolada de infecções superficiais e invasivas, em diferentes sítios anatômicos. Trata-se de levedura com potencial patogênico bastante conhecido, apresentando como principais fatores de patogenicidade e virulência a capacidade de aderência a diferentes mucosas e epitélios, o dimorfismo com produção de estruturas filamentosas que auxiliam a invasão tissular, a termotolerância significativa, e a capacidade da produção de enzimas como proteinases e fosfolipases (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSE, 2003). Esta espécie é naturalmente sensível a todas as drogas antifúngicas de uso sistêmico, mas casos de resistência

adquirida a azólicos são conhecidos em pacientes, que foram expostos prolongadamente a estes medicamentos. (SANGLARD; ODD, 2002).

Recentemente, *C. dubliniensis* foi reconhecida como uma nova espécie, cujas características morfológicas e bioquímicas são muito semelhantes a *C. albicans*, sendo necessária a utilização de métodos moleculares para diferenciá-las. Esta nova espécie foi descrita inicialmente na Irlanda, onde 17 a 35% dos pacientes com infecção por HIV/AIDS são colonizados ou infectados por este agente em cavidade bucal (SULLIVAN; COLEMAN, 1998). Em estudo realizado no Brasil, com 548 amostras de leveduras, verificou-se que 2% das amostras armazenadas originalmente como *C. albicans* eram na verdade *C. dubliniensis*. Aparentemente, esta espécie emergente é menos patogênica que *C. albicans*, mas tem maior facilidade em desenvolver resistência a azólicos. Atualmente, ainda são raros os casos de doenças sistêmicas relacionadas a esta nova espécie, sendo na maioria dos casos associados a infecções de mucosa bucal (KRCMERY; BARNES, 2002).

Candida tropicalis possui considerável potencial biológico como agente oportunista, quando o hospedeiro encontra-se neutropênico, com supressão da microbiota bacteriana pelo uso de antimicrobianos e danos na mucosa gastrointestinal. Tem sido relatada como o segundo ou terceiro agente etiológico mais comum de candidemia em pacientes com neoplasias, sendo sua frequência maior em leucemias e menor em tumores sólidos (WINGARD, 1995). Os isolados clínicos desta espécie são sensíveis a anfotericina B e, em geral, aos triazólicos. Em países da América Latina, particularmente o Brasil, esta espécie é extremamente frequente, mesmo entre pacientes não portadores de câncer, constituindo-se na segunda ou terceira principal causa de candidemia nas principais séries publicadas (COLOMBO et al., 1999; COSTA et al., 2000; GODOY et al., 2003; GOLDANI; MÁRIO, 2003).

Candida glabrata surge como um importante patógeno hospitalar, constituindo-se na segunda ou terceira espécie mais comum na maioria das séries de candidemia, relatada nos EUA e Europa (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). Isolados clínicos de *C. glabrata* apresentam menor sensibilidade ao fluconazol. Consequentemente, um aumento nos índices de colonização/infecção por *C. glabrata* tem sido observado em diferentes grupos de pacientes, expostos prolongadamente ao fluconazol (SAFRAN; DAWSON, 1997). Além dos problemas terapêuticos de infecções por *C. glabrata* associados aos azólicos, Pfaller et al (2001) documentaram a menor suscetibilidade de isolados desta espécie em relação

a anfotericina B. Em uma análise envolvendo 949 isolados clínicos de *C. glabrata*, observou-se que cerca de 53% das amostras avaliadas apresentaram Concentração Inibitória Mínima (MIC) de anfotericina B maiores que 1mg/ml, valores considerados muito elevados para a terapêutica com doses convencionais deste medicamento. Na verdade, já havia sido descrito que infecções por *C. glabrata*, podem ocorrer em pacientes previamente expostos a anfotericina B. Outro aspecto interessante sobre a epidemiologia deste patógeno é sua maior ocorrência em pacientes idosos (DIEKEMA; PFALLER; JONES, 2000).

Candida parapsilosis apresenta-se, desde os anos 80, como um importante patógeno hospitalar de fungemias, sendo sua ocorrência maior em crianças e recém-nascidos prematuros, internados em unidades de terapia intensiva, onde a prevalência de candidemias por este agente é de 17 a 50% dos casos (LEVY, 1998). Caracteristicamente, *C. parapsilosis* prolifera-se em soluções contendo glicose, tem grande capacidade de produzir biofilme e frequentemente coloniza a pele. Isolados clínicos desta espécie são sensíveis a anfotericina B e aos triazólicos (DIEKEMA; PFALLER; JONES, 2000; SANGULARD; ODDS, 2002). Em países da América Latina, *C. parapsilosis* tem sido reconhecida como a segunda principal causa de infecção invasiva em diferentes casuísticas já publicadas no nosso meio (COLOMBO et al., 1999; COSTA et al., 2000; GODOY et al., 2003; GOLDANI; MÁRIO, 2003).

Candida krusei tem-se mostrado como um patógeno hospitalar ocasional, particularmente, em pacientes portadores de doenças hematológicas malignas e/ou submetidos a transplante de medula óssea (IWEN et al., 1995). Alguns autores relataram aumento da ocorrência de fungemias causadas por *C. krusei* em pacientes neutropênicos expostos prolongadamente a fluconazol (WINGARD, 1995). Esta levedura é naturalmente resistente ao fluconazol, o que provavelmente explique seu aumento em pacientes neutropênicos expostos a este antifúngico.

Candida lusitanae é uma levedura pouco frequente como agente causador de doença invasiva mas tem sido relatada como agente de candidemia em pacientes imunocomprometidos. De um total de 86 casos descritos de doença invasiva por esta espécie, 70 foram identificadas em pacientes com câncer. Frequentemente, isolados clínicos de *C. lusitanae* têm resistência natural à anfotericina B ou desenvolve-se rapidamente, mas são sensíveis a triazólicos (MERZ, 1984).

Infecções invasivas por *Candida guilliermondii* são ainda infreqüentes, mas esta espécie é reconhecida por diferentes autores como agente emergente. Na

maioria dos casos descritos relaciona-se a pacientes com câncer. Em relação a seu tratamento, apesar do número limitado de informações disponíveis na literatura, há relatos de resistência *in vitro* de amostras clínicas à anfotericina B, assim como documentação de má resposta clínica de pacientes tratados com este poliênico. Sendo assim, há dúvidas sobre a real eficácia de anfotericina B na terapêutica de infecções sistêmicas por *C. guilliermondii* (HAZEN, 1995).

A frequente ocorrência de infecções sistêmicas por espécies não *albicans* vem sendo documentada por diversos autores, em todas as partes do mundo (PFALLER et al., 1998). Há variações geográficas significativas no padrão etiológico de infecções invasivas por *Candida* spp. documentadas, em diferentes países. Enquanto na América do Norte nota-se o predomínio de *C. glabrata* entre as espécies não *albicans*, na América do Sul, observa-se predomínio de *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (COLOMBO et al., 2003).

Além das medidas de prevenção mencionadas, tendo em vista as dificuldades diagnósticas nas infecções fúngicas, assim como os altos índices de mortalidade, associados ou atribuídos a estas complicações, a profilaxia com drogas antifúngicas tem sido avaliada em grupos onde há alta prevalência de micoses invasivas.

Para casos de pacientes submetidos a transplante de medula óssea, há estudos randomizados, duplo-cegos, demonstrando que fluconazol administrado profilaticamente diminui a incidência de candidíase superficial, invasiva e também a mortalidade relacionada a estas infecções (HUGHES et al., 2002). Por tratar-se de medida que reduz mortalidade, tem sido implementada nos diferentes centros de TMO no mundo todo, entretanto, há controvérsia em relação a sua duração.

Um estudo realizado em 300 pacientes que receberam fluconazol 400mg/dia versus placebo durante após 75 dias transplante de medula óssea foram comparados quanto à sobrevida, causas de morte e quanto à incidência de infecção fúngica precoce (<110 dias) ou tardia (>110 dias). Após oito anos de seguimento, a sobrevida, em ambos os períodos analisados, foi significativamente maior no grupo que recebeu fluconazol profilático ($p < 0,001$). Da mesma forma, a incidência de candidíase invasiva e de doença enxerto versus hospedeiro foi maior nos pacientes que receberam placebo (MARR et al., 2000). Após esta publicação, a *American Society of Blood and Bone Marrow Transplantation*, juntamente com a *Infectious Diseases Society of America*, passaram a recomendar a administração de fluconazol

profilático em pacientes transplantados de medula óssea para a prevenção de candidíase (HUGHES et al., 2002).

Embora, a profilaxia antifúngica tenha efetividade comprovada em pacientes neutropênicos de alto risco, a profilaxia antifúngica em pacientes críticos internados em unidades de terapia intensiva (UTI) clínica e cirúrgica ainda é assunto de muita controvérsia. Pelz et al.(2001) realizaram um estudo prospectivo, randomizado, controlado, avaliando o impacto de fluconazol versus placebo em 260 pacientes internados em uma UTI cirúrgica durante sua permanência na unidade. Após ajuste de variáveis confundidoras, foi observado que, o risco de infecção fúngica foi reduzido em 55% no grupo exposto a 400mg de fluconazol. Nenhuma diferença na mortalidade foi observada entre os dois grupos avaliados, o que demonstra a eficácia do fluconazol na redução da incidência de infecções fúngicas em pacientes críticos cirúrgicos.

Isolados de *Candida krusei* são completamente resistentes a fluconazol e amostras de *C. glabrata*, com frequência, são resistentes ou necessitam doses maiores de azólicos para possibilitar sucesso terapêutico. Da mesma forma, acredita-se que doses maiores de anfotericina B devam ser utilizadas na terapêutica de infecções invasivas por *C. krusei* e *C. glabrata*. Isolados clínicos de *C. lusitanae* podem ser resistentes à anfotericina B (PFALLER et al., 2001; SANGULARD; ODDS, 2002).

Pesquisadores relatam que, a candidíase bucal pode se manifestar devido a alguns fatores como uso de antibioticoterapia, higiene bucal deficiente, uso de terapia antineoplásica etc. Dentre as terapias antineoplásicas, como a quimioterapia compromete o sistema imune e a homeostasia salivar sendo uma porta de entrada para infecções fúngicas na boca tanto durante como após o tratamento (KAM; LIN, 2002; REX; SOBEL, 2001).

Poucos antifúngicos são utilizados no tratamento de infecções por *Candida spp.*, como exemplo temos o fluconazol, itraconazol e cetoconazol no grupo dos azólicos, nos derivados azólicos podemos encontrar o voriconazol e o posaconazol e nos poliênicos a nistatina e anfotericina B (AVRELLA; GOULART, 2008).

Considerando as condições do paciente oncológico, submetidos a quimioterapia e/ou radioterapia questiona-se: Qual é a prevalência de *Candida spp.* na saliva de pacientes oncológicos submetidos a quimioterapia e/ou radioterapia e quais são as espécies mais frequentes? A solução de clorexidina a 0,12% (CHX) tem ação antimicrobiana sobre cepas de *Candida spp.* isoladas da saliva de pacientes oncológicos?

2. Objetivos

2 OBJETIVOS

- Caracterizar os pacientes oncológicos segundo sexo, idade, tipo de câncer, terapêutica antineoplásica, uso de antifúngico e ocorrência de mucosite;
- Avaliar a prevalência das espécies mais frequentes de *Candida* spp. nos pacientes supracitados;
- Estimar a unidade formadora de colônias por mililitro de saliva (UFC/mL) de *Candida* spp.;
- Determinar a Diluição Inibitória Máxima (DIM) dos antissépticos bucais sobre as cepas de *Candida* spp. isoladas da saliva e avaliar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dessas leveduras aos antifúngicos.

3. Material e Método

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Tipo e local de estudo

Trata-se de um estudo de prevalência e experimental realizado nos setores da odontologia e internação de hematologia da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos - SP. Atualmente, o referido hospital realiza 2400 atendimentos/dia sendo 98% SUS com uma cobertura de 1296 municípios de 27 estados. Conta com aproximadamente 150 médicos e mais de 1400 funcionários, e está equipado com os mais sofisticados equipamentos necessários para prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer, contando com uma equipe transmultidisciplinar altamente qualificada.

A onco-hematologia conta com doze leitos sendo quatro restritos ao transplante de medula óssea (TMO) e, o setor de odontologia possui quatro consultórios, onde são realizados diversos procedimentos, inclusive a laserterapia. Cabe mencionar que, em geral, a laserterapia é realizada em pacientes com mucosite submetidos ao tratamento antineoplásico.

Considerando que os objetivos propostos demandam procedimentos metodológicos distintos optou-se por descrever o material e métodos em duas etapas: caracterização clínica dos participantes e avaliação microbiológica.

3.2. Participantes do estudo

O estudo envolveu pacientes adultos, de ambos os sexos, em tratamento oncológico quimioterápico e/ou radioterápico, com e sem mucosite atendidos no referido hospital e, que consentiram em participar no estudo.

Os dados biográficos e clínicos dos pacientes foram obtidos nos prontuários dos pacientes.

3.3. Variáveis do estudo

Sexo, idade, tipo de câncer, tratamento, mucosite, prevalência de *Candida* spp., Unidades formadas de Colônias por millitro de saliva (UFC/mL), perfil de sensibilidade das cepas aos antifúngicos (CIM), atividade antimicrobiana de antissépticos bucais (DIM).

3.4. Conceito adotado

O conceito de mucosite utilizado no estudo foi norteado na Escala de Toxicidade Bucal elaborada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a descrição é baseada em sinais objetivos (vermelhidão ou eritema, desenvolvimento de úlceras) e subjetivos (habilidade de deglutir, sensibilidade da mucosa) (Quadro 1).

Quadro 1 - Escala de Toxicidade Bucal da OMS

Graus de mucosite					
Escala	0	1	2	3	4
Toxicidade bucal (OMS)	Nenhuma	Sensibilidade e eritema	Eritema, úlcera, pode deglutir alimentos sólidos	Úlcera, eritema extenso, não pode deglutir dieta sólida	Úlcera, mucosite extensa, não é possível deglutição

Fonte: Stone R; Fliedner MC; Smiet ACM, 2005

3.5. Coleta das amostras de saliva

Após orientações pertinentes ao estudo e aceite por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), os pacientes foram instruídos a coletar

cerca de 2ml da saliva em tubo de ensaio (25x150mm) esterilizado contendo pérolas de vidro, conforme técnica (Quadro 2).

Quadro 2 - Técnica de coleta, armazenamento e transporte de saliva e suas respectivas justificativas de execução.

PROCEDIMENTOS	JUSTIFICATIVA
1. Lavar as mãos, calçar luvas de procedimento e orientar ao paciente quanto ao método de coleta.	Prevenir, controlar a transmissão de microrganismos, e facilitar o procedimento de coleta
2. Fornecer o recipiente para que o paciente possa expelir cerca de 2ml de saliva e pedir que permaneça com a cabeça inclinada e boca semi-aberta durante 3 minutos, a fim de obter espontaneamente a saliva. Ao término, da coleta ceder papel toalha ao paciente caso queira enxugar a boca. ;	A saliva coletada assegura a qualidade da coleta microbiológica em termos quantitativos e qualitativos.
4. Identificar o tubo com data; horário; registro do paciente. Certificar que o tubo esteja rigorosamente fechado.	Assegura a procedência dos dados e a viabilidade dos microrganismos até seu processamento
5. Remover adequadamente as luvas de procedimento e descartá-las em local apropriado. 6- Lavar as mãos	Prevenir e controlar a transmissão de microrganismos
7. Encaminhar a amostra acondicionada em caixa isotérmica com gelo para o laboratório de microbiologia.	O acondicionamento e transporte assegura a viabilidade dos microrganismos até seu processamento

Ao término da coleta o material foi acondicionado em caixa isotérmica contendo gelo e, transportadas até o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP.

3.6. Etapa microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP.

3.6.1. Meios de cultura

CHROMagar™ Candida (CHROMagar / Paris, França)

Peptona.....	10,2g
Mistura cromogênica.....	22,2g
Cloranfenicol.....	0,5g
Ágar.....	15,0g
Água destilada.....	1000,0ml

O meio CHROMagar™ Candida foi utilizado para a diferenciação e, também isolamento de espécies do gênero *Candida*. De acordo com o fabricante, para cada 47,7g de meio de cultura pesado é adicionado 1000ml de água destilada. O meio de cultura é fundido e colocado em banho-maria até atingir a temperatura de 50°C para ser realizada a sua distribuição nas placas. Em cada placa de Petri (15x50mm) foi colocado cerca de 5,0ml do meio em câmara de fluxo laminar (VECO/Indústria Brasileira/Campinas-SP).

Ágar Sabourand dextrose (Difco™)

Digesto peptídicos de tecido animal.....	5,0g
Digesto pancreático de caseína.....	5,0g
Peptona micológica.....	5,0g
Glicose.....	40,0g
Ágar.....	15,0g
Água destilada.....	1000,0ml

O meio ágar Sabourand dextrose foi utilizado para o isolamento de leveduras que cresceram nas amostras de saliva e para o subcultivo das cepas que cresceram no CHROMagarTM Candida para a manutenção das mesmas. O meio também foi utilizado para a realização do teste de crescimento a 37°C e 42°C.

O meio de cultura foi pesado e colocado em balão de Erlenmeyer, foi adicionado logo após água destilada e depois autoclavado a 120°C por 20 minutos. Após a esterilização o meio foi mantido em banho-maria até alcançar a temperatura de 50°C, em seguida foi vertido em placas de Petri (20x100mm) em câmara de Fluxo Laminar e foi utilizado para o isolamento de leveduras que cresceram nas amostras de saliva e para o teste de crescimento a 37 e 42°C.

Quando o meio foi utilizado para o subcultivo das colônias que cresceram no meio CHROMagarTM Candida, este foi pesado, acrescentou-se água destilada e foi fervido até dissolver-se totalmente. Logo após foi distribuído cerca de 6,0ml em tubos de ensaio de 16x160mm, e, autoclavado a 120°C por 2 minutos. Depois inclinado sob um apoio de madeira até sua solidificação.

Ágar Fubá com Tween 80

Fubá de milho amarelo (Kinino).....	40,0g
Ágar (Acumedia®).....	20,0g
Tween 80 (INLAB).....	10,0ml
Água destilada.....	1000,0ml

Utilizou-se para o estudo da micromorfologia das leveduras. O fubá foi suspenso em 800,0ml de água destilada e aquecido em banho-maria sendo agitado constantemente durante uma hora, em seguida filtrado em gaze dobrada por quatro vezes e colocado em repouso para decantação. O ágar foi fundido separadamente em 200,0ml de água destilada, depois foram acrescentados o Tween 80 e, o filtrado de fubá até ser completado o volume sendo o pH acertado em 6,6-6,8. O meio foi colocado em balão de Erlenmeyer de 50,0ml e levado autoclave a temperatura de 120°C por 20 minutos, e armazenado. Quando utilizado foi fundido e colocado sobre as lâminas ainda quente para o microcultivo de leveduras.

Meio de cultura para o teste de fermentação de carboidratos

Peptona (Biobrás).....	7,5g
Extrato de levedura (Difco).....	4,5g
Água destilada.....	1000,0ml

Os componentes do meio foram dissolvidos em água destilada e após a homogeneização distribuído em balões. Em cada balão foi adicionado os seguintes carboidratos: glicose (Analítica), maltose (Analítica), sacarose (União) ou lactose (Oxoid®), nas quantidades para obter concentrações finais a 2,0%. Foram depositados 3,5ml do meio em tubos de 12x125mm contendo tubos de Durhan na posição invertida. Logo após os tubos foram tamponados, codificados e levados a autoclave a 120°C por 20 minutos. Depois da esterilização esses tubos foram resfriados no banho de gelo para evitar a caramelização dos açúcares.

Meio C (utilizado para o teste de assimilação de fontes de carbono)

Sulfato de amônia (J.T.Baker).....	5,0g
Fosfato de potássio monobásico (Cinética).....	1,0g
Sulfato de magnésio heptahidrato (Merck).....	0,5g
Ágar (Oxoid®).....	1,5g
Água destilada.....	1000,0ml

Os componentes do meio foram pesados e adicionados de água destilada e estes foram fervidos até a dissolução completa. Logo após, cerca de 18,0ml do meio foram distribuídos nos tubos de 20x200mm e levados a autoclave a 120°C por 20 minutos.

Meio N (utilizado para o teste de assimilação de fontes de nitrogênio)

Dextrose (Analítica).....	20,0g
Fosfato de potássio monobásico (Cinética).....	1,0g
Sulfato de magnésio heptahidrato (Merck).....	0,5g
Ágar (Oxoid®).....	15,0g
Água destilada.....	1000,0ml

Os componentes do meio (exceto a dextrose) foram pesados e em seguida suspensos na água destilada e fervidos até a dissolução completa. Logo após a dextrose foi adicionada e cerca de 18,0ml do meio foram depositados nos tubos de 20x200mm e levados a autoclave a 120°C por 20 minutos.

Meio líquido RPMI – 1640 tamponado com MOPS 0,165 mol/L, 1 L

Este meio foi composto por 10,4 de RPMI – 1640 em pó (com glutamina e vermelho fenol, sem bicarbonato) e 34,53 de tampão de MOPS (ácido 3 – [N – morfolino] propassosulfônico).

O meio em pó foi dissolvido em 900ml de água destilada, depois foi acrescentado MOPS (com concentração final de 0,165 mol/L), agitando até sua dissolução. Durante o tempo que este foi agitado, ajustou-se o pH para 7,0 a 25°C utilizando hidróxido de sódio 1 mol/L. Depois foi acrescentado água para o meio chegar a um volume final de 1 L. O meio foi esterilizado por filtração e armazenado a 4°C até a sua utilização.

3.6.2. Semeadura e Identificação de *Candida* spp.

No laboratório as amostras de saliva foram homogeneizadas em agitador de tubos durante 1 minuto e, em seguida foram efetuadas diluições decimais seriadas de até 10^{-3} em tubos de ensaio (15x150mm) esterilizados contendo 4,5ml de solução de cloreto de sódio a 0,85% (Figura 2).

Figura 2 - Processo de homogeneização da saliva (A), Tubos e placas utilizados na diluição decimal seriada (B)

As amostras *innatura* e diluídas foram semeadas em placas de Petri (10x50mm) com meio de cultura CHROmagar™ Candida (CHOMagar - Paris, França). O meio CHROmagar™Candida contém substratos cromogênicos que através das enzimas do próprio microrganismo produz colônias microbianas com diversidade de pigmentação, assim podemos analisar suas diferenças pela coloração e morfologia (SIVAKUMAR et al; 2009).

Em cada placa com CHROmagar™ Candida foi inoculado cerca de 50µl de saliva *innatura* ou diluída a 10^{-3} . As amostras foram semeadas com auxílio de bastão de vidro em L esterilizado (Figura 3).

Figura 3 - Fluxograma para isolamento e identificação de leveduras na saliva.

As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 48h. Decorrido o período de incubação as colônias foram contadas e o resultado expresso em unidades formadoras de colônias por mililitro de saliva (UFC/ml).

As colônias foram identificadas segundo a metodologia clássica, sendo realizadas as seguintes provas: formação do tubo germinativo em soro humano, estudo da micromorfologia em ágar fubá acrescido de tween – 80, assimilação de diferentes fontes de carbono e nitrogênio, fermentação de carboidratos e crescimento a 37°C e 42°C (SIDRIM; ROCHA, 2004).

3.6.2.1. Estudo da micromorfologia

O meio ágar fubá com tween 80 foi fundido e resfriado à aproximadamente 50°C e cerca de 3ml do meio foi depositado sobre uma lâmina até obtenção de uma camada espessa. Após a solidificação, foram feitas duas estrias na superfície do meio e semeadura em ziguezague, em seguida o inóculo foi coberto por lamínula e incubado em câmara fria - a lâmina foi colocada em placa de Petri com um chumaço de algodão embebido em água destilada esterilizada e incubado a 30°C durante 72 – 96 horas (Figura 4). Após esse período a lâmina foi examinada ao microscópio óptico (Nikon – Japão) em objetiva 40x com o objetivo de observar as seguintes estruturas: células leveduriformes, pseudomicélio, micélio e clamidoconídios.

Figura 4 - Preparação da lâmina de microcultivo em ágar fubá (A), Incubação em câmara úmida(B)

3.6.2.2. Formação do tubo germinativo

Os inóculos de leveduras foram suspensos em 0,5ml de soro humano procedente do Laboratório de Análises Clínicas da FCFRP – USP, sendo logo após incubados a 37°C em banho maria durante 3 horas. Em seguida uma gota da suspensão foi colocada na lâmina e recoberta por lamínula e foi levada para visualização ao microscópio óptico para pesquisa de tubo germinativo característico de *Candida albicans*.

3.6.2.3. Teste de assimilação de fonte de carbono e nitrogênio (auxanograma)

Foi preparado uma suspensão de leveduras (cultura de 24 horas) em tubo de ensaio 15x125mm com 5,0 ml de água destilada esterilizada e 50ul de extrato de levedura a 10% com turvação correspondente ao padrão 2 da escala de McFarland. Em seguida foi transferido 1,5ml da suspensão para cada tubo de ensaio contendo o meio C (isento de fontes de carbono), fundido e mantido a aproximadamente 50°C. A seguir o meio foi homogeneizado e vertido em placa de Petri esterilizada e após a solidificação, alíquotas de aproximadamente 2,0mg de carboidratos foram depositados em pontos eqüidistantes tendo como referência uma marcação externa na placa.

Foram utilizados os seguintes carboidratos: glicose (Analítica), maltose (Analítica), sacarose (União), lactose (Oxoid[®]), celobiose (Difco), rafinose (Difco), ramnose (Merck), trealose (Difco) e melibiose (Sigma[®]).

Para assimilação das fontes de nitrogênio, 1,0ml da suspensão foi transferida para tubo de ensaio 15x125mm contendo 18ml do meio N (isento de fontes de nitrogênio) que foi previamente fundido e mantido à aproximadamente 50° C. O meio foi homogeneizado e transferido para placa de Petri esterilizada e após a solidificação foram depositados alíquotas de 2,0mg das substâncias nitrogenadas peptona (Biobrás) e nitrato de potássio (J. T. Baker) em pontos eqüidistantes tendo como referência uma marcação externa na placa.

As placas foram incubadas a 30°C por 48 a 72 horas, após esse período foi realizado a leitura sendo considerado positivo quando houve formação de um halo de crescimento ao redor do ponto de aplicação do carboidrato ou da fonte de nitrogênio e negativa na ausência deste halo.

3.6.2.4. Teste de fermentação de carboidratos (zimograma)

A levedura foi inoculada em tubos de ensaio de 12x125mm contendo o respectivo carboidrato (glicose, maltose, sacarose, lactose) e o tubo de Durham em posição invertida para captação do gás. A incubação foi a 37°C durante 30 dias, com

leituras diárias. O teste foi considerado positivo quando reteve bolhas de gás no tubo de Durhan.

Figura 5 - Visão panorâmica dos tubos preparados para teste de fermentação de carboidratos

3.6.2.5. Crescimento a 37°C e 42°C

Este teste é realizado para diferenciação de *C. albicans* de *C. dubliniensis*. Foi preparado uma suspensão de leveduras em solução salina a 0,85% esterilizada com turbidez no padrão 2 da escala de McFarland. As alíquotas de 5,0ul foram depositadas na placa contendo ágar Sabourand dextrose. Cada placa continha 7 inóculos de diferentes cepas e foram incubadas a 37°C e 42°C por 48 horas.

3.7. Determinação da Diluição Inibitória Máxima (DIM) aos antissépticos bucais sobre as cepas isoladas da saliva

Na determinação da Diluição Inibitória Máxima (DIM) feita *in vitro* foram testados os seguintes antissépticos bucais frente às leveduras isoladas: Periogard® (gluconato de clorhexidine 0,12%), Cepacol® Cool Ice (Sanofi – Aventis Farmacêutica LTDA) e Clorhexidina a 0,12% (Anthyllis – Farmácia de Manipulação – Barretos – SP).

O método utilizado para a DIM foi a diluição em ágar realizada em duplicata. Foram utilizados tubos de ensaio de 20X200mm para as diluições de 1:5 até 1:640, os tubos controle C e C' foram preparados com 2,0 ml de água destilada.

Para a diluição de 1:5 foram adicionados 4 ml do antisséptico e 16 ml de ágar Sabouraud dextrose fundido a cerca de 50° C nos tubos 1 e 1', para a diluição de 1:10 foram adicionados 2 ml do antisséptico e 18 ml do ágar Sabouraud dextrose nos tubos 2 e 2'.

A diluição dupla seriada foi realizada a partir da diluição de 1:20, nos tubos de número 3 até 8 foram adicionados 4 ml de água destilada esterilizada. No tubo 3 foi adicionado 4 ml de antisséptico e depois de sua homogeneização foram distribuídos 2 ml com auxílio de pipeta para o tubo 3' e 4ml para o tubo 4 (diluição de 1:40). No tubo 4, também depois de sua homogeneização, foram distribuídos mais 2ml para o tubo 4' e 4ml para o tubo 5 (diluição 1:80) e assim até chegarmos aos tubos 8 e 8' (diluição 1:640).

Após esse processo, 18 ml de ágar Sabouraud dextrose foi adicionado em todos os tubos e estas diluições serão vertidas em placas de Petri (20 x 100 mm) até sua solidificação.

Foram utilizados para a suspensão do inóculo 14 cepas de 24 horas mantidas em ágar Sabouraud dextrose, sendo duas cepas os controles C e C'. As suspensões dos inóculos das leveduras foram realizadas em solução salina a 0,85% até obtenção de turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland.

Após a solidificação dos meios de cultura foram realizadas as semeaduras dos inóculos de leveduras para o inoculador multipontual de Steers (Steers et al., 1959).

O Steers é um inoculador multipontual que consiste de duas placas metálicas, uma com 25 poços onde foram transferidos 100ul dos inóculos das leveduras e outra com 25 agulhas metálicas onde através destas foram semeadas as superfícies dos meios contidos em placas de Petri contendo as diferentes diluições.

As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. A leitura foi realizada observando o crescimento desde a primeira até a última diluição incluindo o controle, foi considerada como Diluição Inibitória Máxima (DIMax) a maior diluição que ocasionou inibição completa do desenvolvimento microbiano.

Figura 6 - Fluxograma da DIM

3.8. Determinação do perfil de sensibilidade aos antifúngicos (Concentração Inibitória Mínima -CIM)

Os antifúngicos utilizados foram a anfotericina B e o fluconazol e as normas para a realização do teste foram de acordo com o fabricante.

As fitas Etest® (AB Biodisk – Solna, Suécia) apresentam, em sua extensão, marcações das suas concentrações progressivas de antibióticos em unidades de medida de µg/ml, permitindo o conhecimento da menor concentração de antibiótico que é capaz de inibir o crescimento de um determinado microrganismo, por meio da formação de zona de inibição na intersecção com a fita (Figura 7).

Figura 7 - Fita Etest® (AB Biodisk Suíça)

Os valores dos tamanhos dos halos obtidos, expressos em mm, foram anotados em fichas-controle e comparados com a padronização adotada para o fluconazol e anfotericina B. Cabe explicar que para a anfotericina os valores ainda não estão definidos. Utilizou-se Ellis (2002) descrito na Tabela 1 e sugeridos pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2008).

Tabela 1 - Interpretação da sensibilidade *in vitro* de *Candida* spp..

Antifúngico	S (µg/mL)	S-DD(µg/mL)	R(µg/mL)
Fluconazol	≤ 8	16 – 32	≥ 64
Anfotericina B	≤ 2	-	≥ 4

Legenda: S – sensível, S-DD - sensibilidade dose-dependente e R - resistente.

O resultado da interpretação numérica permitiu a categorização da susceptibilidade das leveduras aos antifúngicos em sensível (S), resistente (R) e sensibilidade dose-dependente (S-DD).

3.8.1. Preparação do inóculo

Para a realização do teste foram utilizadas culturas jovens de 24 horas em meio ágar Sabouraud dextrose. A suspensão do inóculo foi preparada em tubo esterilizado contendo solução salina estéril a (0,85%) até obtenção de turvação equivalente a 0,5 a escala de McFarland.

O meio de cultura utilizado foi o RPMI – 1640 (INLAB – Alamar Tecno – Científica Ltda), com glutamina, sem bicarbonato de sódio, suplementado com 20 g/L de glicose e tamponado com tampão MOPS a 0,165 mol/l em pH 7,0, foi esterilizado por filtração pois este meio não pode ser autoclavado devido a termossensibilidade de seus componentes.

O meio RPMI – 1640 foi vertido em placa de Petri estéril (20x100mm) e logo após foi vertido o meio ágar para sua solidificação. Após a solidificação do meio a suspensão do inóculo foi depositada até cobrir toda sua superfície e com auxílio de pipeta foi retirado todo o excesso do fluido.

Após a superfície do meio estar totalmente seca, foram depositadas as fitas Etest uma de cada lado em posições contrárias, uma contendo o antifúngico fluconazol e a outra a anfotericina B, as escalas de valores de concentração inibitória mínima (MIC) foram mantidas para cima e uma vez estas fitas aplicadas não se pode mais removê-las pois o agente antifúngico é absorvido ao meio instantaneamente.

3.8.2 Incubação e identificação

As placas foram incubadas invertidas em estufa à temperatura de 37° C por 48 horas. Após o período de incubação as leituras das CIM das fitas Etest foram feitas através da elipse de inibição ao lado da fita que faz intersecção com os valores de CIM em µg/ml.

3.9. Procedimentos Éticos em Pesquisa

O estudo apresentado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres Humanos do hospital em estudo (Processo n . 179/2008 - anexo B).

3.10. Análise estatística dos dados

Foi realizada a codificação apropriada de cada uma das variáveis em um dicionário de dados indicando a definição operacional e o nível de mensuração. Em seguida, foi elaborado um banco de dados do Microsoft Excel –X mediante dupla digitação. Para a análise dos dados utilizou-se o programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences-15.0), considerando cada *Candida* spp.. foi submetida a ação de três antissépticos bucais. Os valores originais da DIM foram submetidos a uma transformação logarítmica com a finalidade de se reduzir a variabilidade deste indicador. Assim, realizou-se testes não paramétricos de McNemar para as variáveis qualitativas dicotômicas. E, o teste Wilcoxon para as variáveis ordinais, considerando em ambos os casos um nível de significância de $\alpha = 0.05$.

4. Resultados e Discussão

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na apresentação dos resultados relacionados a prevalência *Candida* spp. na saliva de pacientes oncológicos, bem como, na determinação da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais e antifúngicos, utilizamo-nos de tabelas, quadros e figuras. Assim, o estudo envolveu 34 pacientes sendo que, 9 (26,5%) estavam hospitalizados na hematologia e 25 (73,5%) em atendimento ambulatorial.

4.1. Caracterização clínica

Na tabela 2 tem-se a descrição dos participantes segundo variáveis clínicas.

Tabela 2 - Caracterização clínica dos pacientes atendidos em um hospital oncológico. Ribeirão Preto - SP, 2009.

Variáveis	n	%
Gênero		
Feminino	7	20,6
Masculino	27	79,4
Faixa etária		
14 I—I 29	4	11,8
30 I—I 59	14	64,7
60 I—I 86	8	23,5
Tipo de câncer		
Onco-hematológicas	13	38,2
Cabeça e pescoço	20	58,8
Primário oculto*	1	2,9
Terapêutica		
QT	5	14,7
RT	12	35,3
QT/RT	11	32,4
Pós-QT	6	17,6
Mucosite		
Sim	19	55,9
não	15	44,1
Total	34	100,0

*O câncer primário oculto é definido pelo diagnóstico anatomopatológico no qual anamnese, exame físico, radiografia de tórax, tomografia de abdome total são incapazes de determinar o foco primário da neoplasia.

No estudo observou-se que a maior frequência foi a neoplasia de cabeça e pescoço entre os homens. Segundo as estatísticas, cerca de 5 a 10% das neoplasias estão localizados na região da cabeça e pescoço envolvendo nariz, boca, garganta, faringe, glândulas salivares e tireóides (CURADO, 2006).

Em relação a neoplasia de boca é documentado que cerca de 95% dos casos aparecem após os 40 anos de idade, predominantemente no sexo masculino (SANNOMIYA et al., 2003). Entre as causas tem-se, principalmente, o cigarro e bebidas alcoólicas. Cabe mencionar que em geral os homens são os maiores consumidores. Já a população feminina, que embora tenha aderido, nos últimos anos, ao tabagismo e ao uso de bebidas, é menos atingida, pois de uma maneira geral são mais cuidadosas com a higiene e a saúde (CURADO, 2006).

Em termos de tratamento, observou-se no estudo que radioterapia foi mais utilizada e, nesse sentido é oportuno destacar que, essa terapêutica considerada padrão para os carcinomas de pequenas células inoperáveis é a única opção terapêutica para os casos com pior prognóstico.

A radioterapia é uma das modalidades terapêuticas mais empregadas no tratamento de neoplasias de cabeça e pescoço, isoladamente ou associada a cirurgia e/ou quimioterapia (BLOZIS; ROBINSON, 1968). Embora, os benefícios da radiação na região tumbucal sejam evidentes, efeitos colaterais em campos cervicofaciais irradiados incluem alterações em superfície mucosa, ossos, glândulas salivares e dentes (GARG; MALO, 1997; WHITMYER; ESPOSITO; THREZHALMY, 1997). O tratamento devido a sua toxicidade limita sua indicação. Além disso, indivíduos com doença avançada, com comprometimento importante do estado geral, normalmente não suportam esquemas agressivos de tratamento. Assim, os tratamentos são indicados com base em fatores clínicos, laboratoriais, histopatológicos e, provavelmente, genéticos, que indicarão o prognóstico do paciente.

Um dos efeitos adversos da RT é a mucosite, quadro complexo que inclui em sua evolução a odinofagia, disfagia, infecção por microrganismos oportunistas e a xerostomia. Os primeiros sintomas são observados na terceira ou quarta semana de tratamento (DIB et al., 2000; EPSTEIN, 1999; SONIS et al., 2000). A mucosite se caracteriza como uma reação tóxica inflamatória que afeta o trato digestório da boca ao ânus e pode ocorrer por agentes quimioterápicos ou radiação ionizante. Na cavidade bucal esta toxicidade sobre as células epiteliais normalmente apresentam

um alto “turn-over” (síntese do novo tecido e degradação do velho) e levam à descamação em função do atrito presente na boca (DIB et al., 1994). A cavidade bucal é altamente susceptível direta ou indiretamente aos efeitos tóxicos da RT e QT e a mucosite é a complicação bucal que mais frequente (BELAZI, 2004).

Com a continuidade do tratamento radioterápico o quadro pode vir a ser mais severo dependendo das doses de radiação e da resposta individual de cada paciente. A exposição do tecido conjuntivo e a colonização oportunista deste por fungos do tipo *Candida albicans* causam aumento da sintomatologia (WHITMYER et al., 1997). Há queixas de dor intensa, dificuldade para se alimentar, realizar higiene bucal e falar o que implica na interrupção do tratamento até a recuperação do processo inflamatório (ALBUQUERQUE; CAMARGO, 2007).

Os fatores de risco para o desenvolvimento da mucosite incluem a área irradiada, preexistência de doença dentária, higiene bucal precária, baixa produção de saliva, função imune comprometida e focos de infecção local (DUNCAN; GRANT, 2003; STONE; FLIEDNER; SMIET, 2005;).

Os efeitos iniciais do tratamento antineoplásico na cavidade bucal ocorrem nas células do epitélio que sofrem rápida proliferação e o grau de comprometimento depende de uma série de fatores relacionados ao paciente, ao tumor e ao tratamento. Portanto, o tratamento nos pacientes oncológicos provoca distúrbios que ocorrem na cavidade bucal levando a ulcerações, alterações ósseas, hemorragias, infecções, disfunções nas glândulas salivares e patologias dentárias. Os efeitos adversos são classificados em agudos e tardios, sendo que os agudos aparecem durante o tratamento e os tardios meses ou anos após o tratamento (PAIVA et al., 2005). A mucosite é o efeito agudo de maior frequência e o maior fator dose-limitante para a RT (ALBUQUERQUE; CAMARGO, 2007).

Paiva et al. (2005) em um estudo retrospectivo avaliou as complicações orais de pacientes oncológicos em tratamento antineoplásico, no qual dos 69 pacientes participantes, 39 desenvolveram uma ou mais complicações agudas, dentre elas xerostomia, disgeusia, mucosite, candidíase bucal pseudomembranosa, herpes simples e trismo. Outros 21 pacientes desenvolveram complicações tardias como xerostomia, candidíase, disgeusia, trismo, herpes e cárie de radiação. Nove pacientes apresentaram complicações agudas e tardias. E concluíram a necessidade de protocolos de cuidados orais especiais visando a prevenção ou

controle dessas complicações como uma medida para melhorar a qualidade de vida desses pacientes.

Lopes et al. (1998) avaliaram a redução da gravidade da mucosite bucal com o uso do laser de baixa potência com comprimento de onda de 685 nm em pacientes de cabeça e pescoço em RT. Os autores concluíram que o uso de laser em associação com RT diminuiu a gravidade da mucosite bucal e da dor.

Com relação ao laser, a MASCC/ISOO (*Multinational Association of Supportive Care in Cancer*) recomenda sua utilização em pacientes com mucosite severa associada à dor devido à altas doses de QT e/ou RT. Apesar da efetividade do laser em RT na mucosite severa, ainda são necessários mais estudos (KWONG, 2004).

Neste estudo a ocorrência de mucosite foi considerada alta uma vez que 55,9% dos participantes apresentaram esse agravo. Na literatura é destacado que a mucosite normalmente é transitória e os pacientes recuperam-se, espontaneamente, no primeiro mês após encerramento do tratamento. Entre as manifestações da mucosite a ulceração é a mais importante, constituindo-se em porta de entrada para infecções bacterianas e determinando, em alguns casos, a suspensão do tratamento radioterápico. A associação da radioterapia com quimioterápicos produz um efeito sinérgico, potencializando a severidade das alterações inflamatórias da mucosa bucal.

Adiciona-se que o fluxo salivar durante e após o tratamento com RT diminui drasticamente e, conseqüentemente altera significativamente a viscosidade. Entre a primeira e a segunda semana de tratamento ocorre xerostomia, que é um dos primeiros sintomas causados pela RT, relatado por August et al. (1996). Esses resultados indicam que o dano da radioterapia às glândulas salivares produz uma perda severa no fluxo salivar. A xerostomia resultante da incapacidade de produzir saliva é progressiva e persistente durante a RT, sendo o dano ao tecido salivar irreversível e na maioria dos casos leva o paciente a tornar-se permanentemente xerostômico (GOODMAN et al., 1992).

Segundo Dreizen et al. (1976) e Carl (1977) a saliva e fluxo salivar sofrem alterações conforme a evolução do tratamento das neoplasias pela radioterapia e/ou quimioterapia, pois estes destroem ou danificam severamente as glândulas salivares, provocando atrofia, degeneração e fibrose dos tecidos. Ainda, não está totalmente estabelecido se o dano ao tecido glandular é causado por efeitos diretos

da radiação sobre as células secretoras e os ductos, ou se é secundário à lesão das delicadas estruturas vasculares, com conseqüente aumento da permeabilidade vascular, edema intersticial e infiltrações de células inflamatórias (WHITMAYER, 1997).

Albuquerque e Camargo (2007) em uma revisão sistemática da literatura sobre mucosite em RT, observaram que os principais agentes e/ou medidas de prevenção para a mucosite são o uso de gluconato de clorexidina a 0,12%, combinação de antifúngicos e antibióticos, higiene bucal frequente, glutamina, GM-CSF, benzidamida, complexos vitamínicos, sucrafalto e amifostina e, ainda em termos de tratamento há indicação além dos já mencionados, uso de analgésico, anestésicos e anti-inflamatórios (soluções para bochecho e sistêmicos) e suplementos vitamínicos (vitamina C, B, E e betacaroteno).

Vários estudos ainda sugerem o tratamento com utilização de gel à base de benzocaína e higiene bucal após as refeições. Para a mucosite associada à candidíase é recomendada irrigação bucal com água bicarbonatada solução salina a 0,9%, no entanto quando persistirem os sintomas da mucosite é recomendado nistatina quatro vezes ao dia por sete dias mucosite (CLARKSON; WORTHINGTON; EDEN, 2005; INGRACI et al., 2004; WRIGHT et al., 2003; RAGGHIANTI et al., 2002; SCULLY; EPSTEIN; SONIS, 2004).

O tratamento da mucosite por radiação é essencialmente paliativo, com o intuito de aliviar os sinais e os sintomas dolorosos, proporcionando uma melhor qualidade de vida para o paciente oncológico e evitando a interrupção da terapia (DIB et al., 2000; EPSTEIN et al., 2001).

A MASCC/ISOO não recomenda para o tratamento da mucosite bucal camomila, clindamicina, citocinas ou fatores de crescimento como G-CSF, GM-CSF, imunoglobulinas, drogas anti-inflamatórias não-esteróides, PVP-Iodine, prostaglandina E2 e análogos, inibidores de prostaglandina, nitrato de prata, alginato de sódio e esteróides devido a falta de evidências científicas (ALBUQUERQUE; CAMARGO, 2007).

As intervenções para a prevenção e tratamento da mucosite bucal em RT tem sido o foco de muitos estudos nos últimos dez anos, muitos agentes podem interferir diretamente na alteração da exposição da mucosa à irradiação, na proteção das células da mucosa e na redução da resposta inflamatória ao tratamento ((ALBUQUERQUE; CAMARGO, 2007). O gluconato de clorexidina a 0,12% é

recomendado no tratamento da mucosite bucal na RT em muitos estudos (STONE; FLIEDNER; SMIET, 2005; KWONG, 2004; VELEZ; TAMARA; MINTZ, 2004).

4.2. Prevalência de *Candida* spp. na saliva

Do total de 34 pacientes, identificou-se *Candida* spp. na saliva de nove (26,5%), entretanto, em duas amostras de saliva isolou-se mais de uma cepa. Assim, totalizou-se 12 cepas distintas em nove pacientes sendo que a *C. albicans* foi a mais frequente (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição dos pacientes segundo as espécies de *Candida* Ribeirão Preto – SP, 2009.

Espécie de <i>Candida</i>	n	%
<i>C. albicans</i>		
Sim	7	20,6
Não	27	79,4
<i>C. tropicalis</i>		
Sim	2	5,9
Não	32	94,1
<i>C. glabrata</i>		
Sim	3	8,8
Não	31	91,2
Total	34	100,0

No gênero *Candida* existem cerca de 200 diferentes espécies, sendo que apenas 17 têm importância clínica. Entre as espécies de maior relevância clínica podemos destacar: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* e *C. krusei*. O aumento de infecções por espécies não-*albicans* ocorreu em diversos serviços de saúde no mundo todo, incluindo o Brasil (COLOMBO; GUIMARAES, 2003).

O microrganismo mais estudado e combatido associado às mucosites em pacientes submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço é a *Candida albicans*. A candidíase pode afetar indivíduos imunocompetentes, mas é frequente em pacientes imunossuprimidos (EPSTEIN, SCHUBERT, 1999; MCCARTHY, 1998). Em geral, a *C. albicans* ocorre de 30 a 50% da população sem prejuízo ao hospedeiro ou com manifestação de infecção. Dependendo do estado imunológico do paciente, da microbiota bucal e da resistência do microrganismo, a candidíase apresenta-se das seguintes formas clínicas: pseudomembranosa eritematosa, atrofia papilar central, queilite angular, multifocal crônica, estomatite por dentadura, hiperplásica, mucocutânea e síndrome candidíase-endócrina (NEVILLE et al., 2001).

A *Candida albicans* pode ser encontrada na mucosa jugal, gengiva, palato (duro e mole), bolsas periodontais e lesões refratárias. Estas leveduras podem causar infecções orais oportunistas, caso não sejam tratadas podem se generalizar e/ou disseminar provocando fungemia (FARIAS et al., 2003).

A infecção por *Candida* é caracterizada pela presença de placas branco-cremosas na língua e na mucosa bucal, que geralmente levam a uma superfície desnuda, dolorida e ulcerada quando raspada. Em pacientes oncológicos quando relacionado a mucosite, produz um desconforto que leva à depleção do estado nutricional como resultado da diminuição da ingestão de alimentos líquidos ou sólidos (DOMENGE: LEFEBVRE, 2002). Além disso, é comum a disseminação da infecção para o esôfago em pacientes imunocomprometidos e a candidíase pode aumentar o risco para a mucosite bucal severa (GONÇALVES, 2001).

A candidíase bucal merece atenção no sentido de reduzir as taxas de infecções, acelerar o diagnóstico e instituir a terapêutica correta. Para a adoção destas medidas é imprescindível o conhecimento da epidemiologia desta micose, bem como dos fatores predisponentes do hospedeiro (AVRELLA; GOULART, 2008). A incidência de *Candida* spp. na cavidade bucal e as razões para o estabelecimento da candidíase são decorrentes de vários fatores como queda de imunidade do hospedeiro, desordens endócrinas, lesões em mucosas, higiene bucal deficiente, tratamento prolongado com antibióticos e corticosteróides (RAMIREZ-AMADOR, 1997). Com a perda da integridade da mucosa, está estabelecido uma porta de entrada para infecções secundárias, principalmente colonização por microrganismos do gênero *Candida* (FARIAS et al., 2003; INGRACI-DE LUCIA et al., 2004).

Um dos fatores predisponentes para o aumento de colonização por *C.albicans* também é a hipossalivação, que ocorre nos pacientes submetidos a RT de cabeça e pescoço (EPSTEIN; FREILICH; LE, 1993; RAMIREZ-AMADOR et al., 1997; SCULLY; EPSTEIN, 1996; SHAFER, 1985; SILVERMAN, 1998; TARTARO; ITRO; GRISALIA, 1996).

Ramirez-Amador et al. (1997) mostraram alta positividade para *C. albicans* durante a RT e no término do tratamento (85% e 68%, respectivamente).

A diversificação entre espécies de *Candida* durante e após a realização da RT foi constatada por diferentes pesquisadores (COLEMAN et al., 1998; DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSIE, 2003). Mesmo após a RT, com a continuidade da xerostomia, a quantificação de espécies de *Candida* pode ser alta (BUDTZ-JORGENSEN, 1974).

No nosso estudo, *C. albicans* (20,6%) também foi a espécie mais prevalente, seguida por *C. glabrata* (8,8%) e *C. tropicalis* (5,9%) (Figura 8).

Figura 8 - Visão panorâmica de *Candida* spp isoladas da saliva: A - *C. tropicalis* (azul); B - *C. albicans* (verde); *C. glabrata* (rosa).

Belazi et al. (2004) mostraram que depois de aproximadamente duas semanas de tratamento radioterápico, o número espécies de *Candida* aumenta e quando a candidíase bucal está associada à mucosite, causam um desconforto para o paciente, e muitas vezes necessita interromper o tratamento.

De acordo com os resultados da Tabela 4 é possível inferir que a presença de *Candida* spp. aumenta a ocorrência de mucosite em 66,7%., ou seja, o teste do X^2

(qui-quadrado) sinalizou a associação entre mucosite e *Candida* spp. com $p=0,44$. A razão de prevalência entre as duas variáveis foi $RP=1,28$.

Tabela 4. Distribuição dos pacientes oncológicos segundo a presença de *Candida* spp. e de mucosite. Ribeirão Preto – SP, 2009.

<i>Candida</i> spp..	Mucosite				RP	IC	RC	IC	p
	Sim		Não						
	n	%	n	%					
Sim	6	66,7	3	33,3	1,28	0,70-2,32	1,84	0,37-9,07	0,44
Não	13	52,0	12	48,0					

Legenda: RP – Razão de prevalência, IC – intervalo de confiança, RC - Razão de chance

Do ponto de vista clínico, é difícil ou quase impossível diferenciar mucosite infectada de não infectada e geralmente esses dois tipos de alterações resultam na diminuição da espessura da mucosa, formação de pseudomembranas, vermelhidão e ulcerações (Figura 9) (RABER-DURLACHER et al., 2000).

Figura 9 - Aspectos clínicos da candidíase pseudomembranosa (A) e da mucosite (B). Fonte: Almeida et al., 2004.

Nicolau-Galitis (2000) avaliou em 61 pacientes a presença de candidíase bucal pseudomembranosa com a mucosite em pacientes oncológicos de cabeça e pescoço, durante RT e com GM-CSF (fator de estimulação de macrófagos) para tratamento da mucosite bucal. Deste total 46 apresentaram mucosite e 31 infecções por *Candida* spp., e 17 tiveram mucosite com candidíase, induzidas pela irradiação.

O autor concluiu que a candidíase pseudomembranosa é importante infecção durante a RT e a diferenciação desta com mucosite, é complexa e dificultada em determinados casos clínicos.

Assim, em muitos estudos, a candidíase bucal e a mucosite aparecem descritas separadamente, sendo que ambas estão relacionadas à irradiação e a diferenciação destas não apresenta dificuldades, sendo necessário monitoramento laboratorial e diagnóstico clínico durante RT (NICOLATOU-GALITIS, 2000).

A inflamação da mucosa relacionada à candidíase começa sobreposta a mucosite, o que deve agravar a injúria mucosa relacionada a radiação (NICOLAU-GALITIS, 2006).

A prevenção e controle para candidíase são realizados através da utilização de antifúngicos locais ou sistêmicos (COSTA.; BIRMAN; ALVES, 1999; FINLAY.; RICHARDSON.; ROBERTSON, 1996; KOC; AKTAS, 2003).

A nistatina, antifúngico poliênico de estrutura complexa, liga-se à membrana fúngica interferindo em suas funções de transporte e permeabilidade. A especificidade desta droga aos fungos deve-se ao fato de sua maior afeição por ergosterol (esterol da membrana do fungo), em detrimento dos esteróis. Utilizada em infecções do trato digestório, por via bucal, a nistatina não é absorvida pelo mesmo, sendo necessária sua administração várias vezes por dia, pois apenas seu contato com o fungo assegura a sua ação (RANG, 1997). Nas candidíases orais associadas à RT de cabeça e pescoço utiliza-se a suspensão bucal, 100.000 unidades por ml, 4 vezes ao dia ou mais. Deve-se orientar a permanência do líquido por alguns minutos na boca e depois degluti-la, tendo em vista que a infecção, por vezes, atinge a orofaringe. A orientação de higiene contribui com a diminuição na contagem dos microrganismos e melhora a ação do fármaco. Em casos raros de infecção sistêmica aparentemente o fluconazol, é mais eficaz que o cetoconazol e menos tóxico a células hepáticas (BUDTZ-JORGENSEN et al., 1990).

4.2.1. Unidades formadoras de colônias por mililitro de saliva (UFC/mL)

A partir da contagem de UFC/mL de saliva dos pacientes, evidenciou-se que as contagens de *C. albicans* variaram em 480 UFC/mL a 64.000 UFC/mL. Para a

espécie *C. glabrata* os resultados foram de 60 UFC/mL para a cultura em que esta levedura apareceu isolada e 720 a 18.000 UFC/mL em culturas com mais outras espécies. Na espécie *C. tropicalis*, 240 UFC/mL em cultura isolada desta levedura e 18.000 UFC/ml em cultura mista.

As figuras abaixo mostram culturas de *C. albicans* de saliva *innatura* e diluídas a 10^{-3} em meio de cultura CHORMagarTM Candida, sendo que após a contagem os resultados foram expressos em UFC/mL.

Figura 10 - Visão panorâmica de *C. albicans* de saliva *innatura* (A); *C. albicans* na diluição da saliva a 10^{-1} (B), *C. albicans* na diluição da saliva a 10^{-2} (C) e *C. albicans* a diluição da saliva a 10^{-3}

A tabela 5 mostra os valores de UFC/mL para as espécies de *Candida*.

Tabela 5. *Candida* spp. em unidades formadoras de colônias por mililitro de saliva (UFC/mL). Ribeirão Preto (SP), 2009.

<i>Candida</i> spp.	UFC/mL
C1	26400
C2	7600
C3	64000
C4	480
C5	2000
C6*	720
C7*	18000
C8	240
C9	60

Legenda: C1 I—I C5 - *C. albicans*, C6*- *C.albicans* e *C.glabrata*, C7*- *C.albicans*, *C. glabrata* e *C.tropicalis*, C8 – *C. tropicalis* e C9 – *C.glabrata*.

É importante a avaliação quantitativa da carga microbiana, pois existe relação entre quantidade de colônias e a incidência de infecções, sejam elas locais ou sistêmicas (FANELLO et al.,2006). Com base na literatura, essa quantificação envolve os seguintes critérios: 50 UFC/ml (baixo índice de colonização –baixo risco de infecção); 51 – 500 UFC/ml (elevado índice de colonização – moderado risco de infecção); 501 UFC/ml (índice de colonização muito elevado – alto risco de infecção) (FANELLO et al.,2006; WHITE et al.,2004). Diante do exposto verificou-se que no nosso estudo, nenhum dos pacientes apresentou baixo índice de colonização (50 UFC/mL), sendo que quatro estavam colonizados (51-500 UFC/mL) e, cinco com alto risco para infecção (501 UFC/mL).

Nas últimas décadas, a associação entre valores de UFC/mL de *Candida* e algumas patologias da cavidade bucal tem sido investigada. O agente etiológico *Candida* é usualmente encontrado na maioria das formas de candidiases, assim é oportuno ressaltar que a prevalência de *Candida albicans* e de todas as espécies deste gênero como microrganismos que em pequeno número, compõem o trato digestório e regiões mucocutâneas normais e alteradas do ser humano. Alterações na microbiota bucal ocorrem em pacientes xerostômicos e o aumento na proporção de *Streptococcus* e *Lactobacillus*, assim como acidificação do pH da saliva foi observado em pacientes submetidos à radioterapia (COSTA, 2000).

Spolidorio et al. (2001) constataram que 91% dos pacientes eram infectados por *Candida sp.* antes de serem submetidos ao tratamento por radioterapia; porém, após o tratamento, os valores de UFC/mL de *Candida sp.* e *Streptococcus* do grupo *mutans* aumentaram. Estes dados coincidem com os resultados obtidos por Brown et al. (1993), os quais observaram aumento na quantidade de *Streptococcus mutans*, espécies de *Lactobacillus*, *Candida* (principalmente *C. albicans*) e *Staphylococcus*, e decréscimo no número de *Streptococcus sanguis*, espécies de *Neisseria* e *Fusobacterium*, em pacientes submetidos à radioterapia, sugerindo que as infecções por leveduras e bactérias, comumente se desenvolvem durante o tratamento radioterápico devido a xerostomia e queda de imunidade (ALEXANDER; BOYCE.; BABCOCK, 1990).

Os dados obtidos individualmente em relação às UFC/mL de *Candida sp.* parecem estar de acordo com Goodman et al. (1992), os quais relatam o aumento na contagem destes microrganismos, podendo persistir por vários meses, propiciando maior suscetibilidade à candidíase, devendo-se assim, realizar tratamento com antifúngicos tópicos ou sistêmicos, em função da gravidade da infecção, o que foi realizado com os pacientes deste estudo. Isso explicaria o aumento desses microrganismos, mesmo que não estatisticamente significativo entre os períodos durante/após tratamento, detectado em nossos resultados.

Do ponto de vista clínico, algumas considerações devem ser feitas antes do início do tratamento, ou seja, medidas profiláticas prévias à radioterapia poderiam beneficiar os pacientes submetidos aos tratamentos neoplásicos, como também minimizar o efeito da xerostomia. Além disso, pode ser utilizada a saliva artificial e orientação aumentar a hidratação, como observado por (ROSSIE et al., 1987).

Para a identificação das espécies de *Candida*, foram realizadas provas bioquímicas, de acordo com a metodologia clássica de Sidrim e Rocha (2004), com a realização das seguintes provas: formação do tubo germinativo em soro humano, estudo da micromorfologia em ágar fubá acrescido de tween – 80, assimilação de diferentes fontes de carbono e nitrogênio, fermentação de carboidratos e crescimento a 37°C e 42°C .

Na micromorfologia em ágar fubá, através do microscópio óptico foi possível avaliar as estruturas das leveduras, sendo que nas *C. albicans* observou-se a presença de pseudohifas longas e blastoconídeos em cachos. Não foi verificado a presença de clamidoconídeos nas leveduras isoladas. Observou-se ausência de

pseudohifas na *C. glabrata* diferentemente da *C. tropicalis* que visualizou-se pseudohifas finas, curtas, ou longas.

No teste de fermentação de carboidratos, as leveduras de *C. albicans* foram positivas para a formação de gás retido no tubo de Durhan nos açúcares glicose e maltose. Nas leveduras de *C. tropicalis* foi retido gás nos açúcares glicose, maltose e sacarose e nas leveduras de *C. glabrata* ficou retido gás somente na glicose. Na prova do auxanograma, na assimilação das fontes de carbono, todas leveduras de *C. albicans* assimilaram os açúcares glicose, maltose, sacarose e celobiose, nas leveduras de *C. glabrata* a assimilação foi de glicose e trealose e nas leveduras de *C. tropicalis* a assimilação foi dos açúcares glicose, maltose sacarose e trealose, sendo que em uma delas foi assimilado a celobiose, o que pode vir a acontecer pois a assimilação desse açúcar é variável (Quadro 3).

Quadro 3 – Provas bioquímicas para identificação de leveduras, Zimograma (fermentação de carboidratos) e Auxanograma (assimilação de carboidratos).

	Fermentação				Assimilação								
	Zimograma				Auxanograma								
Leveduras	G	M	S	L	G	Ma	S	L	C	Raf	Ram	T	Me
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-

Legenda: G – glicose, MA – maltose, S – sacarose, L – lactose, C – celobiose, Raf – rafinose, Ram – ramnose, T – trealose e M – melibiose.

Na assimilação das fontes de nitrogênio, todas as leveduras assimilaram a peptona. Na formação do tubo germinativo em soro humano, característico de *C. albicans*, todas as sete colônias que apresentaram coloração verde no meio CHROMagar™ Candida tiveram a formação do tubo germinativo (Quadro 4).

Quadro 4 - Provas bioquímicas para identificação de leveduras, Auxanograma (assimilação de nitrogênio) e Tubo germinativo.

Leveduras	Peptona	Nitrato de Potássio	Tubo germinativo
<i>C.albicans</i>	+	-	+
<i>C.albicans</i>	+	-	+
<i>C.albicans</i>	+	-	+
<i>C.albicans</i>	+	-	+
<i>C.albicans</i>	+	-	+
<i>C.albicans</i>	+	-	+
<i>C.albicans</i>	+	-	+
<i>C.glabrata</i>	+	-	-
<i>C.glabrata</i>	+	-	-
<i>C.glabrata</i>	+	-	-
<i>C.tropicalis</i>	+	-	-
<i>C.tropicalis</i>	+	-	-

No crescimento a 37° C e 42° C, as sete leveduras de *C. albicans* cresceram nas duas temperaturas o que é característico dessa levedura e o que a diferencia da *C. dubliniensis* que cresce somente a 37° C.

4.3. Diluição Inibitória Máxima (DIM) de antissépticos bucais sobre cepas de *Candida* spp. isoladas na saliva de pacientes oncológicos

A Tabela 6 apresenta os resultados de DIM para cada produto antisséptico. As diluições testadas na triagem dos produtos antissépticos bucais foram de 1:5 até 1:640. Os três produtos analisados tiveram resultados de DIM distintos, sendo que o Cepacol Cool Ice® teve melhor ação inibitória em comparação aos demais produtos.

Tabela 6 - Diluição Inibitória Máxima de antissépticos frente a cepas de *Candida* spp. isolados de saliva de pacientes de um hospital oncológico. Ribeirão Preto – SP, 2009.

Cepas	DIM		
	Clorexidina	Periogard®	Cepacol Cool Ice®
C1	1:20	1:20	1:20
C2	1:20	1:40	1:40
C3	1:10	1:20	1:20
C4	1:10	1:20	1:20
C5	1:10	1:20	1:20
C6	1:20	1:20	1:40
C7	1:10	1:20	1:40
C8	1:20	1:20	1:80
C9	1:80	1:20	1:80
C10	1:40	1:40	1:160
C11	1:40	1:40	1:160
C12	1:40	1:40	1:160

Legenda: C1 | —| C7 – *C.albicans*, C8 | —| C9 – *C.tropicalis*, C10 | —| 12 – *C.glabrata*

Comparando os resultados, é possível verificar que o Cepacol Cool Ice® foi o único que exibiu diluição inibitória de 1:160 sobre cepas de *C.glabrata* e intervalo de 1:20 a 1:80 sobre as outras cepas. Em relação ao Periogard® a diluição inibitória oscilou entre 1:20 a 1:80. O antisséptico Clorexidina apresentou o pior resultado em termos de DIM, sendo que a diluição inibitória foi de 1:10 sobre quatro cepas de *Candida* spp.

O digluconato de clorexidina (CHX) é uma guanida que tem efeito antiplaca, pois tem uma capacidade de absorção aos dentes e as superfícies mucosas superior a outros agentes químicos antimicrobianos (DORO et al., 2005). A CHX, é usada desde 1950, em diferentes concentrações como antisséptico bucal, gel, pasta de dente, chicletes (LEONARDO et al., 1999).

A clorexidina tem um largo espectro de atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos, com um efeito prolongado pela absorção de estruturas orais depois da sua utilização, que é o efeito da substantividade (CHANDU et al., 2002). A substantividade mede o tempo de contato

de uma substância e um substrato em um determinado tempo. Nas infecções dentais, este efeito é de extrema importância, pois o agente antimicrobiano necessita de um tempo para inibir o microrganismo e eliminá-lo (BASCONES; MUDARRA; PEREA, 2002).

Vários estudos confirmam sua atividade residual, pois adere à superfície dentinária e pode ser encontrada após 48 horas de instrumentação (LEONARDO et al., 1999).

Outra propriedade importante nas substâncias químicas é a tensão superficial, onde quanto menor for a tensão, maior será a penetração da substância no interior dos túbulos. Fato este que favorece o contato desta com os microrganismos, resultando em modificações que levarão à morte das bactérias (LEONARDO et al., 1999). Tasman et al. (2000) comparando a CHX com outras substâncias químicas observaram que a CHX apresentou menor tensão superficial.

O mecanismo de ação da CHX é devido a sua capacidade de unir-se a membrana celular bacteriana, em baixas concentrações, tendo um aumento da permeabilidade e filtração de componentes intracelulares. Como exemplo, tem-se o potássio com efeito bacteriostático. Em altas concentrações apresenta efeito bactericida produzindo a precipitação do citoplasma e morte celular das bactérias (BASCONES; MUDARRA; PEREA, 2002). A CHX 0,12% é recomendada no tratamento da mucosite bucal na RT em muitos estudos (KWONG, 2004; STONE; FLIEDNER; SMIET, 2005; VELEZ; TAMARA; MINTZ, 2004).

Estudos *in vitro* têm mostrado a atividade da CHX contra *C. albicans* (HAMERS et al., 1996; HIOM et al., 1992). No entanto, as informações são limitadas quanto à susceptibilidade de espécies de *Candida* não *albicans*, como a *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, que apareceram como importantes patógenos em pacientes imunocomprometidos (HEIMDHAL; NORD, 1990; PFALLER, 1993; SULLIVAN et al., 1993).

Azevedo et al. (1999) determinaram a Diluição Inibitória Máxima (DIM) através de estudo com Periogard e Própolis frente às cepas de leveduras isoladas de cavidades orais de pacientes, com e sem lesões. Foram avaliados 50 indivíduos, de ambos os sexos e faixa etária média de 42,5 anos, na Clínica de Semiologia da FORP - USP. Nessa pesquisa, a espécie prevalente das amostras foi a *C. albicans* (48% das amostras de saliva, 28% em língua normal, 14,3% em língua fissurada, e 67,8% das amostras das lesões). O maior número de cepas inibidas foi alcançado

com uma diluição de Própolis de 1:20 e com uma diluição de Periogard de 1:160. Com relação à *C. albicans*, a DIM variou de 1:100 a 1:160 para o Periogard, e 1:20 a 1:40 para o Própolis.

Estes autores consideram que os efeitos *in vitro* não podem ser diretamente comparados com efeitos *in vivo*, pois os resultados indicam que leveduras de diferentes espécies do gênero *Candida* puderam ser inibidas pela aplicação dos produtos comerciais Periogard e Própolis com propósito terapêutico e/ou preventivo contra candidíase bucal.

Os pacientes em uso de CHX podem apresentar alguns efeitos colaterais, como alteração do paladar após algumas horas, pigmentação dos dentes e sensibilidade bucal (DORO et al., 2005). Na prevenção e tratamento das complicações induzidas pela quimioterapia, a CHX tem uma ação antimicrobiana e agente profilático contra mucosites e candidíases (COSTA et al., 2003).

Leveduras e bactérias entéricas tem sido ser relativamente susceptíveis a CHX e são inibidas geralmente numa concentração entre 1 e 20µg/ml (ADDY, 1981; FERRETTI et al., 1990; GIULIANA et al., 1997; ROBERTS; ADDY, 1981).

A literatura mostra a eficácia da CHX contra *C. albicans* (FERRETTI et al., 1990; GIULIANA et al., 1997; MACNEILL et al., 1997; SEN; SAFAVI; SPANGBERG, 1999). Mas, recentes pesquisas têm ampliado para outras leveduras emergentes (GIULIANA et al., 1997; GIULIANA et al., 1999; HIOM et al., 1992; PIZZO; GIULIANA, 1998).

Meiller et al. (2001) avaliaram *in vitro*, a eficácia de dos produtos Listerine, Listerine controle de tártaro, Peridex e CHX a 0,2% contra 24 espécies de *Candida* e verificaram que todos antimicrobianos foram efetivos no teste com um biofilme artificial. O Listerine mostrou a maior eficácia contra a população de biofilme artificial que os outros agentes testados.

Epstein et al. (1992) observaram que após intensa quimioterapia, 30% dos pacientes apresentaram *Candida* na cavidade bucal. Com o uso dos enxaguatórios, a *Candida* foi identificada em 35% dos pacientes que usaram CHX, 21% naqueles que usaram CHX associada a nistatina, 37% nos que usaram nistatina, e 28% naqueles que usaram a solução salina. Culturas sanguíneas positivas para infecção foram vistas em 26% dos pacientes; destes, seis morreram com candidíase sistêmica devido à prévia colonização bucal e orofaríngea. Os resultados deste estudo não demonstraram nenhum efeito profilático da nistatina na colonização

bucal por *Candida*, mas de complicações do seu uso como gosto ruim, náuseas e vômitos. Com relação à CHX, os pacientes tiveram uma boa aceitação do enxágüe, mas não houve redução significativa das ulcerações e das mucosites orais. Dessa forma, a combinação de agentes tópicos e sistêmicos, requer estudos futuros para determinar o protocolo mais efetivo na redução de colonização por *Candida* e na prevenção de candidíase orofaríngea.

Ainda o autor relata que estudos bacteriológicos quantitativos mostram uma redução de 85% a 90% no número total de aeróbios e anaeróbios imediatamente após o início da terapia com CHX. Também, foi comprovada a sua efetividade *in vitro* na supressão de *Candida* spp.

Candido et al. (1996), concluíram que a CHX é mais efetiva do que outros produtos, no que diz respeito à inibição de *C.albicans*. O estudo determinou a CIM do Cepacol, Malvona e Periogard, frente a 30 cepas de *C.albicans*. O Periogard (clorexidina) inibiu 100% das cepas a uma concentração de 6.4µg/ml (DIM de 1:200), o Cepacol inibiu 100% a uma concentração de 25.6µg/ml (DIM de 1:20), a Malvona inibiu 96% das cepas a uma concentração de 12.8µg/ml e inibição completa somente foi alcançada na concentração de 25.6µg/ml (DIM de 1:200).

Chandra et al. (2001) representaram um reservatório para micróbios bucais em biofilmes de dentadura. O objetivo do estudo foi comparar a suscetibilidade antifúngica da *C.albicans* frente à CHX e nistatina. Os resultados mostraram 50% de redução da atividade metabólica (RAM) de *C.albicans* desenvolvida em biofilmes às concentrações de 16µg/ml para nistatina e 128µg/ml para CHX; e 50% de RAM de *C.albicans* em meio de cultura às concentrações de 1.0µg/ml para nistatina e 4.0µg/ml para CHX. Esses resultados sugerem que a *C.albicans* desenvolvida em associação nos biofilmes são mais resistentes à ação desses produtos do que a *C.albicans* desenvolvida isoladamente em meios de cultura.

Silva et. al. (2005) analisaram a efetividade dos bochechos com CHX sobre *Candida* spp. na cavidade bucal de indivíduos saudáveis, em 70 participantes, cujas coletas de saliva foram antes e após 24 horas do bochecho. *Candida* spp. foi encontrada em 29 pacientes sendo a mais comum *C.albicans* (75%), seguida por *C. glabrata* (6,5%), *C.tropicalis* (3,12%) e *Candida* spp. (15,62%). Os autores concluíram que a CHX reduziu a quantidade de *Candida* spp. na cavidade bucal de indivíduos saudáveis.

Labbate, Lenh e Porto (2003) avaliaram o efeito da CHX na mucosite induzida por RT em pacientes com neoplasias de cabeça e pescoço, participaram do estudo 21 pacientes em dois grupos, 11 no grupo placebo fazendo dois bochechos diários com água destilada e 10 no grupo medicação com bochechos diários de CHX. Os pacientes foram avaliados semanalmente com exame de inspeção local para detecção de alterações na mucosa bucal e preenchimento de questionário sobre os aspectos como dor, apetite, paladar e hábitos alimentares. Concluíram que apesar da CHX não impedir a ocorrência de mucosite diminui a severidade do quadro clínico, pois os pacientes que utilizaram a medicação apresentaram quadros menos severos e com graduações menores de mucosite.

Vários estudos têm pesquisado a eficácia de CHX em pacientes com neoplasias de cabeça e pescoço e TMO, em QT. Estudos demonstram que a CHX reduz a formação de placa e a frequência de bactérias e fungos como *Candida* spp., mas outras pesquisas interrogam sobre a redução de infecção e de severidade da mucosite (BARKER, 1999).

Foot et al. (1994), em estudo de avaliação da eficácia da CHX na mucosite induzida por radioterapia, concluíram que ao contrário do presumido inicialmente, esta droga não seria indicada devido ao desconforto e alteração de paladar, resultante do seu uso. Segundo Fardal et al (1986) a eliminação da CHX ocorre gradualmente, 24 horas após a sua aplicação.

Giuliana e colaboradores (1998) verificaram a atividade *in vitro* dos agentes antimicrobianos digluconato de clorexidina (CHX), cloreto de cetilpiridínio (CPC), hexetidina (HE) em 17 espécies de *Candida* isoladas da cavidade bucal de 17 pacientes HIV. Todos os antimicrobianos mostraram atividade antifúngica contra todos organismos testados. Porém, o CPC mostrou a maior atividade em relação à CHX e HE.

As limitações da CHX pode ser consequente à sua inativação na saliva e redução nos efeitos contra bactérias gram negativas, como também poderia ter um importante papel no desenvolvimento da mucosite. Dentre esses ainda há outros efeitos adversos como a demora na cicatrização, aumento do ressecamento na mucosa bucal e quando há alto conteúdo de álcool pode lesar os tecidos (FONSECA, 1999).

Em síntese, os autores enfatizam que prevenir e tratar mucosite inclui higiene bucal rigorosa, consistindo de escovação após cada refeição por meio de escova

dental macia e dentífrico, enxaguando a boca a cada duas horas, com peróxido de hidrogênio ou solução salina alcalina. Os pacientes deveriam ser orientados para evitar o uso de substâncias irritantes ou abrasivas, como pastas dentais comerciais e enxaguantes, tabaco, álcool, bebidas ou comidas extremamente quentes, frias ou condimentadas. Quando há desconforto, a anestesia tópica pode ser utilizada (LOPRINZI; GASTINEAU; FOOTE, 1995). Vitamina E, camomila e pentoxifilina foram propostos para a prevenção da mucosite bucal induzida por quimioterapia, no entanto, nenhum estudo foi definitivamente avaliado (LOPRINZI; GASTINEAU; FOOTE, 1995).

As intervenções para a prevenção e tratamento da mucosite bucal em RT tem sido o foco de muitos estudos nos últimos dez anos, muitos agentes podem interferir diretamente na alteração da exposição da mucosa à irradiação, na proteção das células da mucosa e na redução da resposta inflamatória ao tratamento (ALBUQUERQUE; CAMARGO, 2007).

A CHX a 0,12% pode ser um excelente antimicrobiano durante o tratamento de infecções mucosas e na quimioterapia mielossupressora e, é eficaz na prevenção dessas infecções. Uma preocupação que tem sido levantada são os bacilos Gram-negativos ou emergentes em pacientes que tem usado CHX por longo período de tempo (EPSTEIN et al., 1996; FERRETTI et al., 1987; FERRETTI et al., 1990;).

Para a redução de infecções bucais que aparecem durante QT e RT, a CHX a 0,12% tem sido usada, mas os resultados são conflitantes em relação à profilaxia antifúngica (EPSTEIN et al., 1992; FERRETTI et al., 1990; THURMOND et al., 1991). Seria necessário nos pacientes com candidíase bucal uma alternativa antifúngica com menos efeitos colaterais, particularmente nos imunocomprometidos, que recebem agentes antifúngicos tópicos por longo período de tempo (GIULIANA et al., 1998).

A higiene bucal é uma estratégia de prevenção que reduz o desenvolvimento de microrganismos e, também de mucosite severa, permitindo a eliminação de fatores de infecção (CLARKSON; WORTHINGTON; EDEN, 2005; INGRACI et al., 2004; RAGGHianti et al., 2002).

4.4. Perfil de sensibilidade de *Candida* spp. à antifúngicos

As Tabelas 7 e 8 mostram os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), identificados para o fluconazol e anfotericina B, por meio das fitas Etest®.

Tabela 7 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre cepas de *Candida* spp.. isoladas na saliva de pacientes oncológicos. Ribeirão Preto – SP, 2009.

Cepas	CIM µg/ml	
	Fluconazol	Anfotericina B
C1	0,25	0,125
C2	1	0,19
C3	0,25	0,25
C4	0,38	0,25
C5	0,25	0,25
C6	0,125	0,5
C7	0,125	0,38
C8	0,38	0,25
C9	0,75	0,38
C10	12	0,64
C11	6	0,5
C12	12	0,5

Legenda: C1 | —| C7 – *C.albicans*, C8 | —| C9 – *C.tropicalis*, C10 | —| 12 – *C.glabrata*

Tabela 8 - Perfil de sensibilidade sobre as cepas de *Candida* spp. Ribeirão – SP, 2009.

Cepas	Fluconazol	Anfotericina B
C1	S	S
C2	S	S
C3	S	S
C4	S	S
C5	S	S
C6	S	S
C7	S	S
C8	S	S
C9	S	S
C10	S-DD	S
C11	S	S
C12	S-DD	S

Legenda: S-DD – sensibilidade dose dependente ,S – sensível

C1 | —| C7 – *C.albicans*, C8 | —| 9 – *C.tropicalis*, C10 | —| 12 – *C.glabrata*

Na tabela 8 tem-se o perfil de sensibilidade aos antifúngicos, com *C. glabrata* apresentando sensibilidade dose dependente (S-DD) ao fluconazol de acordo com as normas do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2008).

Figuras 11 - Perfil de sensibilidade de *Candida glabrata* ao fluconazol e anfotericina B.

As figuras acima mostram as fitas Etest® com os antifúngicos fluconazol e anfotericina B, sendo que no fluconazol *C. glabrata* da saliva de pacientes diferentes, apresentaram a mesma Concentração Inibitória Mínima de 12 µg/ml.

Com relação à sensibilidade, em nosso estudo todas as cepas foram sensíveis a anfotericina B, duas cepas apresentaram sensibilidade dose-dependente para o antifúngico fluconazol. Essas cepas são de *Candida glabrata*, que é uma espécie que geralmente apresenta uma resistência intermediária.

O uso profilático de fluconazol pode levar a uma resistência de espécies de *Candida* spp. como *C. glabrata* e *C. krusei* (HEIMDAHL, 1999). Kcrmerly (1999) em seu estudo sobre candidemias com espécies albicans e não albicans, verificou que todos os pacientes com *C. glabrata* e *C. krusei* só apresentaram após o fluconazol ter sido introduzido. O generalizado uso de fluconazol tem contribuído para o aumento de infecções orofaríngeas com essas espécies (BARCHIESI et al., 1993; TUMBARELLO et al., 1997).

Stijn e Vanderwoude (2004) relataram que todas as espécies de *Candida* spp. são sensíveis a anfotericina B e que as espécies não albicans são menos susceptíveis ao fluconazol, e podendo necessitar de doses mais altas.

Estes autores ressaltam que espécies como *C. krusei* são quase sempre resistentes ao fluconazol e que *C. glabrata* podem ser resistentes ou apresentar resistência intermediária, que é denominada como sensibilidade dose dependente, isto é, a dose de fluconazol precisa ser aumentada para ser efetiva.

Tabela 9 - Uso profilático de fluconazol e presença ou não de mucosite. Ribeirão Preto – SP, 2009.

Fluconazol	Mucosite				RP	IC	RC	IC	p
	Sim		Não						
	n	%	n	%					
Sim	1	25,0	3	75,0	0,41	0,07-2,33	0,22	0,02-2,39	0,29
Não	18	60,0	12	40,0					

Legenda: RP – Razão de prevalência, IC – intervalo de confiança, RC – razão de chance

Observa-se na Tabela 9, que 75% dos pacientes não apresentaram mucosite com o uso do fluconazol. Embora esse antifúngico tenha sido avaliado em um número pequeno de pacientes, este parece prevenir o aparecimento da mucosite com $p=0,299$.

Nicolau-Galitis (2006) verificou os efeitos do fluconazol profilático em pacientes oncológicos de cabeça e pescoço em RT onde, dos 63 pacientes oncológicos, 34 receberam fluconazol durante a RT e foram comparados com 29 pacientes que somente fizeram RT. Depois de completar a RT houve uma redução de 40,7% de prevalência de *Candida* no grupo tratado com fluconazol. A severidade da mucosite foi avaliada depois da prevenção da candidíase pelo fluconazol que foi benéfico na incidência de mucosite grau 3 e 4. O autor defende a hipótese de que a candidíase desempenha um importante papel na severidade da mucosite por radiação.

Cerca de 50% das infecções orais em pacientes com leucemias agudas são por fungos, principalmente *C. albicans*. As infecções fúngicas em pacientes que passam por TMO são comuns, mesmo depois da neutropenia ter sido resolvida (EPSTEIN et al, 1996).

Nos pacientes com neutropenia, devido ao risco de morbidade e mortalidade, emprega-se como profilaxia agentes antifúngicos como o fluconazol.

O fluconazol é bem distribuído no corpo e secretado na saliva com efeito local e causando redução de espécies de *Candida* para as células epiteliais bucais (EPSTEIN et al, 1996).

Belazi et al. (2004) avaliou 39 pacientes com neoplasias de cabeça e pescoço em tratamento de RT, tratados com fluconazol e os que apresentaram resistência com itraconazol, e em todos houve aumento das lesões e inflamações orais na segunda e terceira semana de RT. A presença de mucosite sem candidíase foi encontrada em apenas nove pacientes após a segunda semana de RT e candidíase bucal concomitantemente com mucosite graus 2 e 4 foi diagnosticada em 30 pacientes. A administração de antifúngico é frequentemente pré-requisito para completar a RT e testes são indicados para detectar resistência aos antifúngicos no gerenciamento da infecção.

Lefebvre e Domenge (2002) realizaram um estudo randomizado comparando a eficácia do fluconazol com a anfotericina B (ambos por suspensões orais) em pacientes com câncer sofrendo de mucosite e passando por RT e QT. Esses autores

verificaram que ambos produziram sucesso clínico nos pacientes oncológicos apresentando *Candida* spp. e mucosite, mas que em termos de erradicar a *Candida* spp. a suspensão bucal de fluconazol produziu maior cura do que a anfotericina B, com maior aceitação pelos pacientes com mucosite. Ainda, concluíram que o fluconazol é mais eficiente na terapêutica da mucosite nos pacientes oncológicos.

O tratamento das infecções causadas por *Candida* spp. está limitado a um número pequeno de agentes antifúngicos, o que inclui poliênicos como nistatina e anfotericina B; azólicos, entre eles o cetoconazol, itraconazol e fluconazol; e derivados azólicos recentes, como o voriconazol e o posaconazol (QUINDÓZ, 2002; SIDRIM; MOREIRA, 1999; URIZAR, 2002).

Leveduras resistentes aos poliênicos têm sido relatadas por diversos autores, notadamente em pacientes submetidos à quimioterapia antineoplásica. Neste caso, diversos estudos, relacionados à bioquímica e à genética das leveduras comprovam, que determinadas drogas utilizadas na terapêutica do câncer, são responsáveis por mutações que originam a resistência a poliênicos.

5. Conclusão

5. CONCLUSÕES

Tendo em vista o objetivo deste estudo de avaliar a prevalência de *Candida* spp. em pacientes oncológicos com e sem mucosite, foi possível concluir-se que:

- dos 34 pacientes oncológicos, eram 27 masculinos (79,4%), na faixa etária de 14 a 86 anos de idade, e a maioria estava em tratamento antineoplásico;
- em nove (26,5%) pacientes oncológicos isolou-se um total de 12 cepas de *Candida* spp. e a mucosite foi presente com um percentual de 66,7%. nos pacientes colonizados por *Candida* spp.;
- das espécies envolvidas a mais frequente foi *C. albicans* com percentual de 20,6%, seguida por *C. glabrata* com 8,8% e *C. tropicalis* com 5,9%;
- com relação a Diluição Inibitória Máxima (DIM), as diluições testadas na triagem dos antissépticos foram de 1:5 até 1:640;
- o Cepacol Cool Ice® teve resultado de DIM de 1:160 sobre (8,8%) *C. glabrata* e intervalo de 1:20 a 1:80 nas outras cepas; a DIM do Periogard® ficou de 1:20 a 1:80 nas cepas avaliadas; enquanto que a Clorexidina a 0,12% obteve o pior resultado com diluição inibitória de 1:10 sobre 4 (11,8%) cepas de *Candida* spp.,
- todas as cepas foram sensíveis a anfotericina B; e duas cepas de *C. glabrata* (5,9%) apresentaram sensibilidade dose dependente ao fluconazol a Concentração Inibitória Mínima (CIM).

Acreditamos que os resultados desse estudo possam contribuir em mais uma evidência na manutenção da saúde bucal de paciente oncológico com e sem mucosite, especialmente aqueles em tratamento antineoplásico colonizado ou infectado por *Candida* spp. na cavidade bucal. Assim, este estudo além de contribuir no processo de aprendizagem, também, possibilitou a identificação de questionamentos acerca das medidas de prevenção e controle da microbiota bucal no agravamento clínico desses pacientes.

É possível especular que a presença de *Candida* spp. na saliva, em níveis elevados é preocupante possuindo vários fatores de risco intervenientes complexos, entretanto, é necessário estar atento aos primeiros sinais de alterações clínicas. Diante da realidade apresentada ficou notório que atuar em saúde bucal na área

oncológica se faz necessário, entre outros atributos, desenvolver a capacidade de avaliação que permita identificar precocemente as situações problemas e, conseqüentemente determinar a efetividade da intervenção. Cabe enfatizar a atuação da enfermagem na manutenção da saúde bucal do paciente hospitalizado.

Por outro lado, embora não seja o foco analisar aspectos institucionais do cuidado em saúde, uma vez que, a instituição do estudo é considerada referência no atendimento integral dos pacientes oncológicos, não se pode ficar alheio a situação dos hospitais brasileiros que cujos recursos disponíveis são escassos e às vezes impróprios, impossibilitando a manutenção da saúde bucal e dificultando o controle de infecções. A maioria dos estudos sobre saúde bucal do paciente oncológico destaca que a odontologia na prática interdisciplinar é recente no Brasil, havendo poucos profissionais atuando nesse setor, em contradição com muitos outros países. Entretanto, em virtude do crescimento da associação da microbiota bucal com diversas doenças sistêmicas observou-se concomitante aumento de interesse pela chamada “odontologia hospitalar”.

No computo geral a situação inspira preocupação e suscita a realização de estudos adicionais no sentido de implementar um protocolo de higienização bucal direcionado aos pacientes oncológicos com mucosite.

6. Referências

6. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, S. L. I; CAMARGO, C. T. Prevenção e tratamento da mucosite oral induzida por radioterapia: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 2, p. 195-209, 2007.

ALEXANDER, J. W.; BOYCE, S. T.; BABCOCK, G. F. The process of microbial translocation. **Annals of Surgery**, v. 212, p. 496-510, 1990.

ALMEIDA, F. C. S., CAZAL, C.; DURAZZO, M. D.; FERRA, A. R.; SILVA, D. P. Radioterapia em cabeça e pescoço: efeitos colaterais agudos e crônicos bucais. **RBPO**, v. 3, 2004.

ANDERS, J. C. et al. **Aspectos de enfermagem, nutrição fisioterapia e serviço social no transplante de medula óssea**. In: SIMPÓSIO DE MEDULA ÓSSEA – Parte 2, cap. XIII, Ribeirão Preto: FMRP, 2000, v. 33, p. 463-85, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ODONTOLOGIA PREVENTIVA (ABOPREV). **Promoção de saúde bucal**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, p. 131-40, 2001.

AUGUST, M.; WANG, J.; PLANTE, D. ET AL. Complications associated with therapeutic neck radiation. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 54, n. 12, p. 1409-1415, Dec. 1996.

AVRELLA, D.; GOULART, S. L. Isolamento de *Candida* spp. da mucosa oral de pacientes submetidos ao tratamento quimioterápico. **RBAC**, v. 40, n. 3, p. 205-7, 2008.

AZEVEDO *et al.* *Candida* sp in the Oral Cavity with and without lesions: Maximal Inhibitory Dilution of Propolis and Periogard. **Revista de Microbiologia**. p. 335- 40. 1999.

BANERJEE, S. N.; EMORI, T. G.; CULVER, D. H.; GAYNES, R. P.; JARVIS, W. R.; HORAN, T.; EDWARDS, J.R.; TOLSON, J.; HENDERSON, T.; MARTONE, W. J. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980-1989. **American Journal of Medicine**, v. 91, p. 86-9, 1991.

BARCHIESI, F.; MORBIDUCCI, V.; ANCARANI, F.; SCALISE, G. Emergence of oropharyngeal candidiasis caused by non-albicans species of *Cândida* in HIV-infected patients. **Eur. J. Epidemiol.**, v. 9, p. 455-6, 1993.

BASCONES, A. M.; MUDARRA, S. M.; PEREA, E. P. Antissépticos em el tratamiento de la enfermedad periodontales. *Avances en Periodoncia e Implantologia Oral*, v.14, p. 1-16, 2002.

BARKER, G. J. Current practices in the oral management of the patient undergoing chemotherapy or boné marrow transplantation. **Support Care Cancer**, v. 7, p. 17-20, 1999.

BELAZI, M.; VELEGRAKI, A.; KOUSSIDOU-EREMONDI, T.; ANDREADIS, D.; HINI, S.; ARSENIS, G.; ELIOPOULOU, C.; DESTOUNI, E.; ANTONIADES, D. Oral *Candida* isolates in patients undergoing radiotherapy for head and neck câncer: prevalence, azole susceptibility profiles and response to antifungal treatment. **Oral Microbiology Immunology**, v. 19, p. 347-51, 2004.

BLIJLEVENS, N. M. A.; DONNELLY, J. P.; PAUW, B. D. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequence of intensive treatment for hematological malignancy: an overview. **Bone mar. transp.**, v. 25, p. 1269-78, 2000.

BLOZIS, G. G.; ROBINSON, J. E. Oral tissues changes caused by radiation therapy and their management. **Dent Clin North Am**, p. 643-56, 1968.

BROW, L. R.; DREIZEN, S.; HANDLER, S. et al. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. **J. Dent. Res.**, v. 54, n. 4, p. 740-50, July/Aug. 1975.

BUDTZ- JÖRGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy and prophylaxis of oral yeast infeccion. **Acta Odontol Scand**, v. 41, p. 33-44, 1990.

CANDIDO et al. Determinação da concentração inibitória mínima de Cepacol, Malvona e Periogard, ante a *Candida albicans* isoladas da cavidade bucal. **Revista de Odontologia UNESP**. São Paulo, p.79-84, 1996

CHANDRA et al. Antifungal Resistance of Candidal Biofilms Formed on Denture Acrylic *in vitro*. **Journal of Dentistry Rest.**, p. 903- 8, 2001.

CARL, W. Oral complications of local and systemic cancer treatment. **Curr Opin Oncol**, v. 7, p. 320-324, 1995.

CHANDU, A.; STULBER, C.; BRIDGEMAN, A. M.; SMITH, A. C. H. Maintenance of mouth hygiene in patients with oral cancer in the immediate post-operative period. **Australian Dental Journal**, v. 47, p. 170-173.

CHENG, F. K. K.; CHANG, M. A.; YUEN, M. P. Prevention of oral mucositis in paediatric patients treated with chemotherapy: a randomized crossover trial comparing two protocols of oral care. **European Journal of Cancer**, v. 40, p. 1208-16, 2004.

CLARKSON, J. E, WORTHINGTON, H. V, ÉDEN OB. **Prevention of oral mucositis or oral candidiasis for patients with câncer receiving chemotherapy (excluding head and neck câncer)**. Cochrane Database Syst Ver. 2000; 2: CD000978.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for Detrmining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents: approved quideline**. Wayne, USA, 2008.

COLEMAN, D. C.; RINALDI, M. G.; HAYNES, K. A.; REX, J. H.; SUMMERBELL, R. C.; ANAISSIE, E. J.; LI, A.; SULLIVAN, D. J. Importance of *Candida* species other than *Candida albicans* as opportunistic pathogens. **Medical Mycology**, v. 36, p. 156-65, 1998. Supplement 1.

COLOMBO, A. L.; NUCCI, M.; SALOMÃO, R.; BRANCHINI, M. L.; RICHTMANN, R.; DEROSI, A.; WEY, S. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, p. 281-6, 1999.

COLOMBO, A. L. **Contribuições para o entendimento da epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. e para sua abordagem terapêutica**. Tese para obtenção do título de livre-docência apresentada a Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2003.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Soc Bras Med Trop.**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

COSTA, E. M. M. et al. Evalution oral preventive protocol in children with acute lymphoblastic leukemia. **Pesqui Odontol Bras**, v. 17, p. 147-150, 2003.

COSTA, S. F.; MARINHO, I.; ARAÚJO, E. A.; MANRIQUE, A. E.; MEDEIROS, E. A. S.; LEVIN, A. S. Nosocomial fungaemia: a 2-year prospective study. **Journal of Hospital Infection.**, v. 45, p. 69-72, 2000.

COSTA, L. J.; BIRMAN, E. G.; ALVES, S. H. et al. Antifungal susceptibility os *Candida albicans* isolated from oral mucosa of patients with câncer. **Rev Odontol Univ. São Paulo**, v. 13, n. 3, p. 219-23, 1999.

COSTERNON, J. M; STEWART, P.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infection. **Science**, v. 11, n. 3, p. 163-9, 1999.

CURADO, M. P. Epidemiologia e fatores de risco para o câncer de cabeça e pescoço. In: Parise O, Kowalski LP, Lehn C. Câncer de cabeça e pescoço: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Âmbito Editores; 2006, p.07-10.

DIB, L. L.; CURI, M. M.; PRECIOSO, V. C.; ESTEVES, A. R. F.; SOUZA, A. M. Atuação odontológica na prevenção de complicações orais em crianças submetidas à quimioterapia. **Âmbito hospitalar**, v. 64, p. 79-84, 1994.

DIB, L. L.; GONÇALVES, R. C. C.; KOWALSKI, L. P.; SALVAJORI, J. V. Abordagem multidisciplinar das complicações orais da radioterapia. **Rev. Assoc. Paul. de Cir. Dent.**, v. 54, n. 5, p. 391-6, 2000.

DIEKEMA, D. J.; PFALLER, M. A.; JONES, R. N. Age-related trends in pathogen frequency and antimicrobial susceptibility of bloodstream isolates in North America. SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-2000. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 20, p. 412-18, 2002.

DIGNANI, M. C.; SOLOMKIN, J. S.; ANAISSIE, E. *Candida*. In: Anaissie E, McGinnis MR, Pfaller MA (eds). **Medical Mycology**. 1. ed. Filadélfia: Churchill Livingstone, p. 195-239, 2003.

DREIZEN, S. A.; BROWN, L. R.; HANDLER, S. et al. Radiation-induced xerostomia in cancer patients. **Cancer**, v. 38, n. 1, p. 273-278, Jan. 1976.

DORO, M. G.; FIALHO M. L.; LOSEKANN, M.; PFEIFF, N. D. Aperfeiçoamento do conhecimento técnico necessário em situações de risco à vida do paciente e levantamento das condições de saúde bucal de pacientes hospitalizados. **Revista da Abeno**, v. 6, n.1, p. 49-53, 2005.

DUNCAN, M.; GRANT, G. Oral and intestinal mucositis: causes and possible treatments. **Aliment Pharmacol Ther.**, v.18, n.9, p. 853-90, 2003.

ELLIS, D. Amphotericin B: spectrum and resistance. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.49, suppl. 1, p. 7-10, 2002.

EPSTEIN et al. Efficacy of chlorhexidine and nystatin rinses in prevention of oral complications in leukemia and bone marrow transplantation. **Oral Surg. Oral Med Oral Pathol.**, p.682- 8, 1992.

EPSTEIN, J. B.; FREILICH, M. M.; LE, N. D. Risk factors for oropharyngeal candidiasis in patients who receive radiation therapy for malignant conditions of the head and neck. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 76, p.167-74, 1993.

EPSTEIN, J. B.; RANSIER, A.; LUNN, R.; CHIN, E.; JACOBSON, J. J.; REECE, D. Prophylaxis of candidiasis in patients with leukemia and bone marrow transplants. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 81, p. 291-296, 1996.

EPSTEIN, J. B.; SCHUBERT, M. M. Oral mucositis in myelo-suppressive cancer therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 88, p. 273-7, 1999.

EPSTEIN, J. B.; ROBERTSON, M.; EMERTON, S.; et al. Quality of life and oral function in patients treated with radiation therapy for head and neck cancer. **Head & Neck**, v. 23, n. 5, p. 389-98, 2001.

FANELLO, S. et al. Predictive value of oral colonization by Candida yeasts for the onset of a nosocomial infection in elderly hospitalized patients. **J Med Microbiol**, v. 55, p. 223-8, 2006.

FARDAL, O.; TURNBULL, R. S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 112, p. 863-9, 1986.

FARIAS, N. C., BUFFON, M. M., CINI, R. Avaliação In Vitro da Ação Antifúngica do Digluconato de Clorexidina e Nistatina no Controle do Crescimento de Cândida albicans. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 2, p. 83-8, 2003.

FERRETI, G.A.,RAYBOULD, T. P.; BROWN, A.T.; MACDONALD, J. S.; GREENWOOD, M; MARUYAMA, Y et al. LILLITCH, T.T, ASH, R.C. Chlorhexidine prophylaxis for chemotherapy – and radiotherapy – induced stomatitis: a randomized double-blind trial. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 69, p. 331-338, 1990.

FERRETI, G.A.; HANSEN, I. A.; WHITTENBURG, K.; BROWN, A.T.; LILLITCH, T.T, ASH, R.C. Therapeutic use of chlorhexidine in bone marrow transplant patients: case studies. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 63, p. 683-687, 1987.

FINLAY, P. M.; RICHARDSON, M. D.; ROBERTSON, A. G. A comparative study of the efficacy of fluconazole and amphotericin B in the treatment of oropharyngeal candidosis in patients undergoing radiotherapy for head and neck tumours. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v.34, p. 23-25, 1996.

FOOTE, R. L. et al. Randomized trial of a chlorhexidine mouthwash for alleviation of radiation-induced mucositis. **J. Clin. Oncol.**, v. 12, p. 2630-3, 1994.

GARG, A. K.; MALO, M. Manifestations and treatment of xerostomia and associated oral effects secondary to head and neck radiation therapy. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 128, p. 1128-33, 1997.

GIULIANA, G., PIZZO, G., MILICI, M.E.; MUSOTTO, G.; GIANGRECO, R. In vitro antifungal properties of mouthrises containing antimicrobial agents. **J Periodontol**, v.68, p.729-733, 1997.

GIULIANA, G., PIZZO, G., MILICI, M.E.; GIANGRECO, R. In vitro activities of antimicrobial agents against *Candida* species. **Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 87, p. 44-49, 1999.

GODOY, P.; TIRABOSCHI, I. N.; SEVERO, L. C.; BUSTAMANTE, B.; CALVO, B.; DA MATTA, D. A.; COLOMBO, A. L. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. bloodstream isolates from Latin American hospitals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 401-405, 2003.

GOLDANI, L. Z.; MARIO, P. S. *Candida tropicalis* fungemia in a tertiary care hospital. **Journal of Infection**, v. 46, p. 150-160, 2003.

GONÇALVES, R. C. C. **Estudo de fatores de risco, prevenção e controle da mucosite oral radioinduzida**. São Paulo, 2001 (Tese de Doutorado). São Paulo: Fundação Anônio Prudente; 2001.

GOODMAN, J. L.; WINSTON, D. J.; GREENFIELD, R. A. et al. A controlled trial of fluconazole to prevent fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation. **N. Engl. J. Med.**, v. 326, n. 13, p. 845-51, Mar. 1992.

GORDÓN-NÚÑEZ MA, PEREIRA PL, SOUZA BL, OLIVEIRA PT, FERNANDES. Evaluación clínica de la salud oral de niños com neoplasias malignas. **Avances em Odontoestomatologia**, v. 21, n.3, p. 1-14, 2005.

GRAP, M. J.; MUNRO, C. L.; ASHTIANI, B.; BRYANT, S. Oral care interventions in critical care: frequency and documentation. **Am. J. Crit. Care**, v.12, p.113-18, 2003.

HAZEN, K. C. New and emerging yeast pathogens. **Clinical Microbiology Review**, v. 8, p. 462-478, 1995.

HEIMDHAL, A.; NORD, C. E. Oral yeast infections in immunocompromised and seriously diseased patients. **Acta Odontol Scand.**, v. 48, p. 77-84, 1990.

HIOM, S. J., FURR, J.R., RUSSELL, A. D., DICKINSON, J. R. Effects of chlorhexedine diacetate on candida albicans, Candida glabrata and Saccharomyces cerevisiae. **J Appl Bacteriol**, v. 72, p. 335-340, 1992.

HUGHES, W. T.; ARMSTRONG, D.; BODEY, G. P.; BOW, E. J.; BROWN, A. E.; CALANDRA, T.; FELD, R.; PIZZO, P. A.; ROLSTON, K. V.; SHENEP, J. L.; YOUNG, L. S. 2002 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. **Clinical Infectious Diseases**, v 34, p. 730-751, 2002.

INGRACI, M. B. L.; LOPES, F. C.; PADOVANI, J. A.; BRANCHINI, O. S.; NONATO, E. R. Protocolo de abordagem terapêutica para mucosite radioinduzida. **Rev Bras Patol Oral**, v. 3, n. 4, p. 208-10, 2004.

INGRACI-DE LUCIA, M. B. L.; LOPES, F. C.; PADOVANI, J. A.; BRANCHINI, O. S.; NONATO, E. R. Protocolo de abordagem terapêutica para mucosite radioinduzida. **Rev Bras Patol Oral**, v. 3, n. 4, p. 208-10, 2004.

IWEN, P. C.; KELLY, D. M.; REED, E. C.; HINRICHS, S. H. Invasive infection due to Candida krusei in immunocompromised patients not treated with fluconazole. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, p. 342-47, 1995.

JHAM, B. C.; FREIRE, A. S. R. Complicações bucais da radioterapia em cabeça e pescoço. **Rer. Bras. Otorrinolaringol**, v.72, p. 704-708, 2006.

KAM, L. W.; LIN, J. D. Management of systemic candidal infections in the intensive care unit. **American Journal of Health Systemic Pharmaceutical**, v. 59, p. 33-41, 2002.

KOC, M.; AKTAS, E. Prophylatic treatment of mycotic mucositis in radiotherapy of patients with head and neck cancers. **Jpn. J. Clin. Oncol.**, v. 33, n. 2, p. 57-60, 2003.

KOLENBRANDER, P. E.; LONDON, J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherente. **J. Bacterial.**, v. 175, p. 3247-52, 1993.

KRCMERY, V.; BARNES, A. J. Non-albicans *Candida* spp.. causing fungemia: pathogenicity and antifungal resistance. **Journal of Hospital Infection**, v. 50, p. 243-60, 2002.

KRCMERY, V.; MRAZOVA, M. J. R.; KUNOVA, A.; GREY, E.; MARDIAK, J.; JURGA, L.; SABO, A.; SUFLIARSKY, J.; SEVCIKOVA, L.; SORKOVSKA, D.; WEST, D.; TRUPL, J.; NOVOTNY, J.; MATEICKA, F. Nosocomial candidaemias due to species other than *Candida albicans* in cancer patients. **Support Care Cancer**, v.7, p. 428-31, 1999.

LABBATE, R.; LENH, C. N.; DENARDIN, O. V. P. Efeito da clorexidina na mucosite induzida por radioterapia em câncer de cabeça e pescoço. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 69, p. 1-6, 2003.

LARSON, L. Skin hygiene and infection prevention: more of the same or different approaches? **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, p. 1287-94, 1999.

LEFEVBRE, J.; DOMENGE, C. A comparative study of the efficacy and safety of fluconazole oral suspension and amphotericin B oral suspension in cancer patients with mucositis. **Oral Oncology**, v.38, p. 337-42, 2002.

LEONARDO, M. R.; FILHO, T.; SILVA, L. A. B.; FILHO, N.; BONIFÁCIO, K. C.; ITO, I. Y. In vivo antimicrobial activity of 2,0% chlrexidine used as a root canal irrigating solution. **J Endod**, v. 27, n. 7, p. 452-55, 2001.

LEVY, I. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, p. 1086-8, 1998.

LOPES, C. O. et. al. Prevenção da xerostomia e da mucosite oral induzidas por radioterapia com uso do laser de baixa potência. **Radiol. Bras.**, v.39, n.2, p.131-6, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_serial&lng=pt&pid=0100-3984&nrm=iso>. Acesso em: 24 Jan. 2009.

LOPRINZI, C. L.; GASTINEAU, D. A.; FOOTE, R. L.; Oral Complications. In: ABELOFF, M.D., ARMITAGE, JO; LICKER, AS et al. **Clinical Oncology**, New York: Churchill Livingstone,. p. 741-9, 1995.

MARTINS, A. C. M. M.; CAÇADOR, N. P.; GAETI, W. P. Complicações bucais da quimioterapia antineoplásica. **Acta Scientiarum**, v.24, p. 663-70, 2002.

MACNEILL, S., RINDLER, E., WALKER, A.; BROWN, A. R., COBB, C. M. Effects of tetracycline hydrochloride and chlorhexidine gluconate on *Candida albicans*. **Clin Periodontol**, v.8, p. 753-760, 1997.

MCCARTHY, G. M.; AWDE, J. D.; GHANDI, H. et al. Risk factors associated with mucositis in cancer patients receiving 5- fluorouracil. **Oral Oncol.**, v. 34, n. 6, p. 484-90, 1998.

MCNEILL, H. E. Biting back at poor oral hygiene. **Int. Crit. Care Nurs.**, v.16, p. 367-72, 2000.

MEILLER, T. F., KELLEY, J. I.; JABRA-RIZK, M. A. DEPAOLA, L. G.; BAQUI, A. A. M. A-,FALKLER, W. A. In vitro studies of the efficacy of antimicrobials against fungi. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, p. 663-670, 2001.

MERZ, W. G. *Candida lusitanae*: frequency of recovery, colonization, infection and amphotericin B resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 20, p. 1194-5, 1984.

NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M. **Oral & Maxillofacial Pathology**. 3. ed. Saunders, 2001.

NICOLATOU-GALITIS, O.; DARDOUFAS, K.; MARKOULATOS, P.; SOTIROPOULOU-LONTOU, A.; KYPRIANOU, K. G.; PISSAKAS, G.; SKARLEAS, C.; KOULOULIAS, V.; PAPANICOLAOU, V.; LEGAKIS, J. N.; VELEGRAKI, A. Oral pseudomembranous candidiasis, herpes simplex virus-1 infection, and oral mucositis in head and neck cancer patients receiving radiotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) mouthwash. **Journal Oral Pathology Medicine**, v. 30, p. 471-80, 2001.

NICOLATOU-GALITIS, O.; VELEGRAKI, A.; SOTIROPOULOU-LONTOU, A.; DARDOUFAS, K.; KOULOULIAS, V.; KYPRIANOU, K.; KOLITSIS, G.; SKARLEAS, C.; PISSAKAS, G.; PAPANICOLAOU, S. V.; KOUVARIS, J. Effect of fluconazole antifungal prophylaxis on oral mucositis in head and neck cancer patients receiving radiotherapy. **Support Care Cancer**, v. 14, p. 44-51, 2006.

OKUDA, M.; KANEKO, Y.; ICHINOHE, T.; ISHIHARA, K.; OKUDA, K. Reduction of potencial respiratory pathogens by oral htgienic treatment in patients undergoing endotracheal anesthesia. **J. Anest.** , v. 17, p.84-91, 2003.

PAIVA, M. D. E. B.; MORAES, J. J. C.; DEBIASE, R. C. C. G.; BATISTA, O. M.; HONODA, M. C. T. M. Estudo retrospectivo das complicações orais decorrentes da terapia antineoplásica em pacientes do hospital Napoleão Louraano – PB. **Odontologia Clin Cientif**, v. 6, p. 51-55, 2007.

PELZ, R. K.; HENDRIX, C. W.; SWOBODA, S. M.; DIENER-WEST, M.; MERZ, W. G.; HAMMOND, J.; LIPSETT, P. A. Double-blind placebo-controlled trial of fluconazole to prevent candidal infections in critically ill surgical patients. **Annals of Surgery**, v. 233, p. 542-48, 2001.

PEREIRA, A. C. **Odontologia em saúde coletiva: planejando ações e promovendo saúde**. Porto Alegre: Art Med, 2003, p. 440.

PFALLER M. A., JONES R. N., MESSER S. A., EDMOND M. B., WENZEL R. P. National surveillance of nosocomial bloodstream infection due to *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE program. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, p. 327-32, 1998

PFALLER, M. A. et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, p. 3254-9, 2001.

PITTEN, A.F.; KIEFER, T.; BUTH, C.; DOELKEN, G.; KRAMER, A. Do câncer patients with chemotherapy-induced leukopenia benefit from antiseptic chlorhexidine-based oral rinse? A double-blind, block-randomized, controlled study. **Journal of Hospital Infection**, v. 53, p. 283-91, 2003.

PIZZO, G.; GIULIANA G. antifungal activity of chlorhexidine containing mouthrises. An in vitro study. **Minerva Stomatol**, v.47, p. 665-671, 1998.

POTERA, C. Forging a let between biofilms and disease. **Scien.**, v. 283, p. 1837-39, 1999.

POTTER, A. P.; PERRY, A. G. **Fundamentos de enfermagem**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

QUINDÓS, G. Las micosis en el amanecer del Siglo XXI. **Rev. Iber. Micol.**, v.19, p.1-4, 2002.

RAGGHIANTI, M. S.; GREGHI, S. L. A.; CAPELOZZA, A. L. A.; RESENDE, D. B. R. Tratamento radioterápico: estratégias de atendimento clínico. **Salusvita**, v. 21, pt. 2, p. 87-96, 2002.

RAMIREZ-AMADOR, V.; SILVERMAN, S. JR.; MAYER, P.; TYLER, M.; QUIVEY, J. Candidal colonization and oral candidiasis in patients undergoing oral and pharyngeal radiation therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 84, p. 149-53, 1997.

REX, J. H; SOBEL, J. D. Prophylactic antifungal therapy in the intensive care unit. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, p. 1191-1200, 2001.

REX, J.H; WALSH, T.J; SOBEL, J.D; FILLER, S.G; PAPPAS, P.G; DISMUKES, W.E; EDWARDS, J.E. Practice guidelines for treatment of candidiasis. **Clinical Infectious Diseases**, v.30, p. 662-78, 2000.

ROBERTS, W. R.; ADDY, M. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetyl pyridinium chloride and hexedine: relevance to mode of action. **J Clin Periodontol**, v. 8, p. 295-310, 1981.

ROSSIE, K. M. et al. Influence of radiation therapy on oral *Candida albicans* colonization: a quantitative assessment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 64, p.698-701, 1987.

SAADEH, C.E. Chemotherapy and radiotherapy-induced oral mucositis: review of preventive strategies and treatment. **Pharmacotherapy**, v. 25, n.4, p. 540-54, 2005.

SAFRAN, D.B; DAWSON, E. The effect of empiric and prophylactic treatment with fluconazole on yeast isolates in a surgical trauma intensive care unit. **Archives of Surgery**, v.132, p. 1184-8, 1997.

SANGLARD, D; ODDS, F.C. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. **Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p. 73-85, 2002.

SANNOMIYA, E. K.; MEDICI, F. E.; MORAES, L. C.; CASTILHO, J. C. M.; FURUKAWA, S. Avaliação dos Resultados dos Tratamentos Radioterápico e Quimioterápico em Pacientes Portadores de Carcinoma Espinocelular na Cavidade Bucal. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.32, n.2, p. 119-24, 2003.

SCULLY, C.; EPSTEIN, J. B. Oral health care for the cancer patient. **Eur. J. Cancer B. Oral Oncol.**, v. 32, p. 281-92, 1996.

SEN, B.H.; SAFAVI, K. E., SPANGBERG, L. S. Antifungal effects of sodium hypochlorito and chlorhexedine in root canals. **J Endod**, v.25, p. 235-238, 1999.

SHAFFER, W. G. Lesões físicas e químicas da cavidade bucal. **Patologia bucal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, p. 486-548 ,1985.

SIDRIM, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos Clínicos Laboratoriais da Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

SIDRIM, J. J. C; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SILVA, C. R.G., MEIRA, A.C.M.; JUNQUEIRA, J.C.; JORGE, A. O. C. Efeitos de bochechos com clorexidina na qualidade de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal **Rev Odontol Univ Cid São Paulo**, v. 17, p. 127-133, 2005.

SILVERMAN, S. Condições do desenvolvimento da mucosa. *In*: SILVERMAN, S.; EVERSOLE.; L. R.; TRUELOVE.; E..L.**Fundamentos de medicina oral**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 250-7, 2004.

SILVERMAN, S, JR. Diagnosis and management of leukoplakia and premalignant lesions. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am**, v. 10, p. 13-3, 1998.

SIVAKUMAR, V. G.; SHANKAR, P.; NALINA, K.; MENON, T. Use of CHROMagar inthe differentiation of common species of *Candida*. **Mycopathologia**, v. 167, p.47-49, 2009.

SONIS, S.T. Mucositis as a biological process: a new hypotisis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. **Oral Oncology**, v. 34, p. 39-43, 1998.

SONIS, S. T. The pathobiology of mucositis. **Nat Rev Cancer**, v. 4, p. 277-84, 2004.

SPOLIDORIO, D. M. P.; SPOLIDORIO, L. C.; BARBEIRO, R. H.; HÖFLING, J. F.; BERNARDO, W. L. C.; PAVAN, S. Quantitative evaluation of *Streptococcus mutans* and *Candida sp* and salivary factors in the oral cavity of patients submitted to radiotherapy. **Pesqui Odontol Bras**, v. 15, n. 4, p. 354-358, out./dez. 2001.

STEERS, E.; LOLTEZ, E. L.; GRAVES, V. S. An inoculo replicating apparatus for continue testing of bacterial susceptibility to antibiotics. **Antibiotics and chemotherapy**, v. 9, p. 307-11, 1959.

STIFF, P.J. Quality of life assesment of mucositis in câncer patients – STIFF, P.J. – Cytokines for the new millenium – Disneyland Resort Conference Center – **ANAHEIM**, Califórnia, 2000.

STIJN, B.; VANDERWOUDE, K. Managemente of invasive candidiasis in critically III patients. **Drugs**, v. 64, p. 2159-75, 2004.

STONE, R.; FLIDNER, M. C.; SMIET, A. C. M. Management of oral mucositis in patients with cancer. **Eur J Oncol Nurs.**, v. 9, p. 524-32, 2005.

SULLIVAN, D.; COLEMAN, D. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, p. 329-34, 1998.
SILVERMAN, S. JR. Diagnosis and management of leukoplakia and premalignant lesions. **Oral Maxillofac Surg Clin. North. Am.**, v. 10, p.13-23, 1998.

TARTARO, G. P.; ITRO, A.; GRISOLIA, G. Oral candidiasis following radiotherapy for neoplasms of oromaxillofacial area. **Minerva Stomatol**, v. 45, p. 451-4, 1996.

TASMAN, F.; CEHRELI, Z. C.; OGAN, C.; ETIKAN, I. Surface tension of root canal irrigations with chlorexidine. **J Endod**, v. 26, p. 586-87, 2000.

TUMBARELLO, M.; TACCONELLI, E.; CALDAROLA, G.; MORACE, G.; CAUDA, R.; ORTONA, L. Fluconazole resistant oral candidiasis in HIV-infected patients. **Oral Dis.**, v. 3, p.110-12, 1997. Supplement 1.

URIZAR, J. M. A. Candidiasis orales. **Rev. Iber. Micol.**, v.19, p.17-21, 2002

VANNICE, S. Mucosite. In: GATES, R.A., FINK, R.M. Segredos em enfermagem oncológica. Respostas necessárias ao dia a dia. Porto Alegre: Artmed, 2009.

WEY, S.B. Imunocomprometidos e AIDS/ SIDA. In: RODRIGUE, E.A.C.; MENDONÇA, J.S.; AMARANTE, J.M.B.; ALVES FILHO, M.B.; GRIBAUM, R.S.; RICHTMANN, R. Infecções hospitalares prevenção e controle. São Paulo: Sarvier, 1997.

WEY, S. B.; COLOMBO, A.L. Fungal infections of catheters. In: Seifert H, Jansen B, Farr BM (eds). **Catheter Related Infections**. 1. ed. New York: Marcel Decker, p. 139-56, 1997.

WHITMYER, C. C.; ESPOSITO, S. J.; TEREZHALMY, G. T. Radiotherapy for head and neck neoplasm. **Gen. Den.**, v. 45, p. 363-70, 1997.

WHITE, L. P.; WILLIAMS, D. W.; KURIYAMA, T.; SAMAD, A. S, LEWIS, M. A, O.; BARNES, R. A. Detection of *Candida* in concentrated oral rinse cultures by real-time PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 5, p. 2101-7, may. 2004.

WINGARD, J. R. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, p. 115-25, 1995.

WOLFF, L.; WEITZEL, M. H.; ZORNOW, R. A.; ZSOHAR, H. Fundamentals of nursing. 7 th.ed. Philadelphia: Lippincott, 1983.

Anexo

ANEXO A

Comitê de Ética em Pesquisa CEP

Para: **Vanessa Castro de Souza e Silva**

De: **Renato José Affonso Junior**

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Data: 13/10/2008

Projeto de Pesquisa: **179/2008**

Prezado (a) Senhor (a),

Vimos, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou e **aprovou sem restrições**, o Projeto intitulado “*Avaliação da microbiota da saliva de pacientes oncohematológico antes e após uso de antissépticos bucais*” tendo como pesquisador(a) Vanessa Castro de Souza e Silva, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, em reunião ocorrida na data de 09/10/2008.

Solicitamos que sejam encaminhados os relatórios parciais e finais, bem como envie-nos possíveis emendas e novos termos de consentimento livre e esclarecido, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo para que possamos fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,

Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
Hospital de Câncer de Barretos

Appendice

Apêndice A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Gostaria de convidá-lo a participar do estudo "***Candida* spp. na saliva de pacientes oncohematológicos com e sem mucosite: perfil de sensibilidade a antifúngicos e ação a antissépticos bucais**". Neste estudo, caso concorde em participar será avaliado a presença ou não de fungos (*Candida* spp.), quantificar, identificar a sua espécie, determinar o seu perfil de sensibilidade aos antifúngicos e a ação a antissépticos bucais. Também será realizada avaliação da condição da boca destes pacientes com a finalidade de identificar a presença ou não de mucosite por meio da visualização da lesão em tecidos moles da boca. O (a) Sr (a) será esclarecido sobre a pesquisa em qualquer momento que desejar. O (a) Sr (a) é livre para recusar a participar, ou retirar o seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua autorização é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo irão tratar a identidade dos participantes com padrões profissionais de sigilo. O resultado da pesquisa ficará a disposição dos participantes e permanecerão confidenciais. O nome do paciente ou o material analisado que indique o participante não será divulgado em nenhuma publicação. Uma cópia deste consentimento ficará em posse do responsável e outra do pesquisador. A participação no estudo não acarretará em custos e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

Declaração do paciente

Eu(_____),fui informado (a/o) do estudo, objetivos, justificativa e importância de maneira clara e detalhada, sei que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, bem como solicitar esclarecimento a mestrande Vanessa Castro pelo telefone (17-3321-6600), fui certificado de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que todos os gastos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Recebi uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Barretos,____de____de 2009.

Assinatura do paciente

Pesquisadora Vanessa Castro de Souza e Silva

Declaração do responsável

Eu(_____), autorizo (a/o) paciente _____ a participar deste estudo, fui informado dos objetivos, justificativa e importância de maneira clara e detalhada, sei que posso retirar o consentimento a qualquer momento, bem como solicitar esclarecimento a mestrande Vanessa Castro pelo telefone (17-3321-6600), fui certificado de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que todos os gastos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Recebi uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Barretos, ____ de _____ de 2009.

Assinatura do responsável

Pesquisadora Vanessa Castro de Souza e Silva

Contato fone (17- 3321-6600) ramal 6925 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa ramal 6894.