

# Microrganismos oportunistas na boca de pacientes irradiados: avaliação de 12 meses pós-tratamento

Opportunistic microorganisms in the mouth of irradiated patients: evaluation 12 months after treatment

Microorganismos oportunistas en la boca de los pacientes irradiados: evaluación de 12 meses después del tratamiento

Fátima Regina Nunes de **SOUZA**<sup>1</sup>;  
Livia Buzati **MECA**<sup>1</sup>;  
Adriana de Sales Cunha **CORREIA**<sup>1</sup>;  
Christiane Marie **SCHWEITZER**<sup>2</sup>;  
Ana Cláudia **OKAMOTO**<sup>1</sup>;  
Elerson **GAETTI JARDIM JÚNIOR**<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Faculdade de Odontologia, UNESP Univ. Estadual Paulista 16015-050, Araçatuba-SP, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Matemática, Faculdade de Engenharia, UNESP Univ. Universidade Estadual Paulista 15385-000, Ilha Solteira-SP, Brasil

## Resumo

O presente estudo avaliou a ocorrência de microrganismos oportunistas da família Enterobacteriaceae e dos gêneros *Enterococcus* e *Staphylococcus* na microbiota bucal de pacientes oncológicos submetidos a radioterapia de cabeça e pescoço. Inicialmente, 50 pacientes foram avaliados imediatamente antes do tratamento radioterápico, 15-22 dias após o início do tratamento, imediatamente após o final da radioterapia, 30 dias após o tratamento, 6 e 12 meses após a conclusão da terapia, quando também realizava-se a coleta de biofilme, mucosas e saliva para avaliação microbiológica. Para a última avaliação, 12 meses após a radioterapia, apenas 28 pacientes puderam ser contatados e avaliados e 15 forneceram espécimes clínicos para avaliação microbiológica. A ocorrência dos patógenos oportunistas foi determinada por amplificação do ácido desoxirribonucleico pela reação em cadeia da polimerase utilizando-se de iniciadores e condições específicas para cada microrganismo. Os dados foram submetidos aos testes de Qui-quadrado, Mann-Whitney e exato de Fisher. As diferenças na distribuição dos diferentes microrganismos foram avaliadas através de análise de variância de medidas repetidas para dados categóricos. Os pacientes irradiados desenvolvem severa mucosite, dermatite, disfagia, disgeusia, xerostomia e, em menor extensão, candidose. Observou-se um aumento significativo na prevalência dos microrganismos estudados, destacando-se os microrganismos entéricos. Os resultados sugeriram que a colonização bucal por microrganismos oportunistas foi frequente e estável ao longo do tempo, mas sem uma nítida correlação com a saúde bucal e intensidade do tratamento radioterápico.

**Descritores:** Radioterapia; Neoplasias de Cabeça e Pescoço; Infecções Oportunistas.

## Abstract

This study evaluated the occurrence of opportunistic microorganisms of the family *Enterobacteriaceae* and genera *Enterococcus* and *Staphylococcus* in the oral microbiota of patients undergoing radiation therapy for treatment of head and neck cancer. Initially 50 patients were evaluated immediately before radiotherapy, 15-22 days after the beginning of treatment, immediately after radiotherapy completion, 30 days, 6 and 12 months after radiation treatment. Clinical specimens of dental biofilm, mucous membranes and saliva were collected for microbiological evaluation. In last clinical assessment, 12 months after therapy, only 28 patients were contacted and evaluated and just 15 provided clinical samples for microbiological evaluation. The occurrence of opportunistic pathogens was carried out through deoxyribonucleic acid amplification by mean of polymerase chain reaction using primers and conditions specific to each microorganism. Data were submitted to statistical analysis by mean of Chi-square test, Mann-Whitney and Fisher's exact. The differences in the distribution of different microorganisms were evaluated by analysis of variance with repeated measures for categorical data. The irradiated patients soon after the onset of radiotherapy develop severe mucositis, dermatitis, dysphagia, dysgeusia, xerostomia, and to a lesser extent, candidosis. There was a significant increase in the prevalence of microorganisms studied, particularly enteric microorganisms. The results suggested that oral colonization by opportunistic organisms was common and stable over time, but without a clear correlation with the oral health and intensity of radiation.

**Descriptors:** Radiotherapy; Head and Neck Neoplasms; Opportunistic Infections.

## Resumen

Este estudio evaluó la frecuencia de los microrganismos oportunistas de la familia *Enterobacteriaceae* y géneros *Enterococcus* y *Staphylococcus* en la microbiota oral de pacientes con cáncer sometidos a radioterapia de cabeza y cuello. Inicialmente 50 pacientes fueron evaluados inmediatamente antes de la radioterapia, 15-22 días después del comienzo del tratamiento, inmediatamente después de la finalización del tratamiento, 30 días, 6 y 12 meses después de la radioterapia, mientras que también se realiza la recogida biofilme, raspado mucosa y la saliva para la evaluación microbiológica. Para la última evaluación clínica, 12 meses después de la finalización de la radioterapia, sólo 28 pacientes fueron contactados y 15 proporcionaron muestras clínicas para la evaluación microbiológica. La frecuencia de los patógenos oportunistas se evaluó por amplificación del ácido desoxirribonucleico pela reacción en cadena da la polimerasa PCR usando cebadores y condiciones específicas para cada microrganismo. Los datos fueron sometidos a la prueba de Chi-cuadrado, Mann-Whitney y Fisher. Las diferencias en la distribución de diferentes microrganismos se ensayaron usando análisis de medidas repetidas de la varianza para los datos categóricos. Los pacientes irradiados poco después del inicio del tratamiento radioterápico desarrollan severa mucosite, dermatitis, disfagia, disgeusia, xerostomía y, en menor medida, candidiasis. Hubo un aumento significativo en la prevalencia de los microrganismos estudiados, destacando los microrganismos entéricos. Los resultados sugieren que la colonización oral mediante organismos oportunistas era común y estable en el tiempo, pero sin una clara correlación con la intensidad de la radioterapia y salud oral.

**Descritores:** Radioterapia; Neoplasias de Cabeza y Cuello; Infecciones Oportunistas.

## INTRODUÇÃO

O emprego da radioterapia (RT) no tratamento do câncer de cabeça e pescoço permite melhora pronunciada da sobrevivência dos pacientes, mas, em função dos seus diversos efeitos colaterais, pode afetar a qualidade de vida dos envolvidos, alterando a evolução do tratamento e a aderência do paciente ao mesmo<sup>1</sup>. Muitos fatores podem afetar a incidência e a intensidade dessas reações, como a dose/frequência da RT, susceptibilidade individual, local irradiado, idade e condições clínicas do paciente, além dos tratamentos associados, como a cirurgia e a quimioterapia<sup>2,3</sup>. Entre os irradiados observa-se que a xerostomia e a mucosite são quase universais, variando apenas quanto à sua severidade e recuperação pós-tratamento<sup>4</sup>, constituindo a principal causa de reclamações e desconforto dos pacientes irradiados.

A redução da produção de saliva acaba sendo responsável pela sensação de “boca seca” e, em parte, pela ardência bucal, potencializando a agressão aos tecidos moles e prejudicando sobremaneira a fonação, mastigação e deglutição, além de propiciar condições favoráveis para o acúmulo de biofilme e do agravamento de quadros infecciosos e inflamatórios bucais. Em termos quantitativos, a xerostomia é uma realidade universal quando o tecido glandular recebe mais de 5000 cGy de radiação<sup>2</sup> e geralmente atinge mais de 90% dos pacientes nas primeiras semanas após o início da RT, exacerbando o quadro de mucosite<sup>2</sup>.

A mucosite é uma das mais prevalentes e sérias reações adversas da RT<sup>5</sup>, causando extremo desconforto e comprometendo a aceitação, continuidade e intensificação do tratamento radioterápico. Essa condição pode criar áreas ulceradas, além de dificultar a nutrição e facilitar a implantação de processos infecciosos secundários, locais ou sistêmicos<sup>5</sup>, causados geralmente por microrganismos oportunistas, como leveduras e bastonetes Gram-negativos<sup>6</sup>, que exacerbam a inflamação.

Em pacientes imunocomprometidos, como aqueles que também recebem quimioterapia, as lesões ulceradas que se desenvolvem na terceira fase da mucosite bucal, como consequência de danos diretos ao tecido epitelial e trauma podem constituir porta de entrada para patógenos oportunistas e contribuem para o desenvolvimento de sepse<sup>5,7</sup>, sendo que a colonização microbiana aumenta a expressão de citosinas pró-inflamatórias, exacerbando os danos teciduais os efeitos bucais da mucosite<sup>7</sup>. Esse processo infeccioso ainda mostra-se marcado pela presença de dor e sensação de queimação, além requerer imediato tratamento durante a radioterapia e no período imediatamente posterior<sup>8</sup>. Entre os principais fatores que corroboram para o desenvolvimento de infecções

secundárias, durante e após a radioterapia, destacam-se os efeitos da radiação sobre as glândulas salivares, criando condições favoráveis para a implantação e proliferação de microrganismos bucais e microrganismos exógenos, como os gêneros *Acinetobacter*, *Neisseria*, *Enterobacter*, *Escherichia*, e *Klebsiella*<sup>9,10</sup>. Esses patógenos Gram-negativos, bem como os cocos dos gêneros *Enterococcus* e *Staphylococcus*, ainda são frequentemente envolvidos em infecções graves, por vezes refratárias ao tratamento com antimicrobianos, além de quadros septicêmicos<sup>10,11</sup>.

A despeito da importância desses agentes infecciosos e a possibilidade de disseminação sistêmica nos irradiados, pouco se conhece sobre a sua ocorrência nos meses seguintes à conclusão da RT. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar a presença de microrganismos da família *Enterobacteriaceae* e dos gêneros *Enterococcus* e *Staphylococcus* na microbiota bucal de pacientes oncológicos irradiados para o tratamento do câncer de cabeça e pescoço 6 e 12 meses após a conclusão da radioterapia.

## MATERIAL E MÉTODO

### ○ Caracterização da População estudada

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Proc. FOA 2007-01559) e foi realizado com um grupo de pacientes oncológicos que receberam e concluíram a radioterapia de cabeça e pescoço, como descrito previamente<sup>10</sup>. Inicialmente, os pacientes autorizaram a participação na pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

De um total de 113 pacientes que iniciou a RT, apenas 50 concluíram o tratamento e permitiram o levantamento de dados. Em relação ao estudo de Gaetti-Jardim Jr et al.<sup>10</sup> (2011), que realizaram o acompanhamento dos pacientes até 30 dias após a conclusão da RT, 18 indivíduos que receberam acompanhamento inicial (até 30 dias de pós-operatório) não deram continuidade à avaliação de 6 e 12 meses, de forma que seus dados foram eliminados da análise e igual número de novos pacientes foi avaliado desde o início, respeitando-se todos os critérios de inclusão e exclusão descritos naquele estudo, que também apresenta os aspectos sociais, econômicos, demográficos e odontológicos dos pacientes.

Entre os pacientes, 42 eram portadores de carcinoma espinocelular, 5 albergavam neoplasias malignas indiferenciadas, além de três casos de carcinoma basoescamoso. Quatorze pacientes eram do gênero feminino e 36 do gênero masculino, com idade variando de 18 a 78 anos (média de 51,3 ± 10,8 anos). A maioria dos pacientes se declarou branca ou parda,

mas dois se declararam negros e dois pacientes eram imigrantes de asiática.

Apenas 36% dos pacientes seguiram a orientação dos centros de radioterapia e procuraram tratamento odontológico previamente à realização da RT, de forma que apenas 16% dos pacientes mostravam-se livres de cáries no início do tratamento radioterápico. No que concerne às modalidades terapêuticas, 40% receberam procedimentos cirúrgicos associados à RT, 6% fizeram uso de quimioterapia, 8% receberam as três modalidades terapêuticas e 46% receberam apenas a RT como tratamento. Os pacientes que participaram do estudo receberam RT e/ou acompanhamento junto às Unidades de Radioterapia de São José do Rio Preto ou do ABC, bem como pacientes que receberam acompanhamento clínico no Centro de Oncologia Bucal, FOA-UNESP, recebendo de 5040 a 7020 cGy de radiação, fracionados em doses de 180 cGy, através de acelerador linear.

#### ○ Exames clínicos e coleta de espécimes para análise microbiológica

A descrição da avaliação socioeconômica e médica, bem como os exames clínicos realizados constam de artigo previamente publicado<sup>10</sup>. Resumidamente, após aplicação de questionários pertinentes, fazia-se a avaliação clínica para determinação da ocorrência e severidade da mucosite, bem como a avaliação periodontal utilizando-se os critérios do PSR e determinação do índice CPOD. A determinação das condições de higiene bucal foram avaliadas e interpretadas segundo Sampaio et al.<sup>12</sup> (2004). Ao final da avaliação, todos os pacientes receberam orientações sobre técnicas de escovação, uso de fio dental e higiene de dispositivos protéticos.

Amostras de saliva, biofilme subgingival, supragingival e mucosas foram obtidas imediatamente antes da RT (estágio 1), entre 15 e 22 dias após o início da RT (estágio 2), imediatamente após a conclusão da RT (estágio 3), 30 dias após a RT (estágio 4), 6 meses após a RT (estágio 5) e, para os pacientes ainda contatáveis, 12 meses após a conclusão do tratamento radioterápico.

#### ○ Detecção dos microrganismos alvo por PCR

O DNA das amostras clínicas nos criotubos com água Milli Q foi extraído através do “kit” QIAamp DNA (QIAGEN, Hilden, Alemanha). A concentração do DNA bacteriano foi determinada, para cada amostra, em espectrofotômetro (Beckman, Modelo DU-640), com leitura da absorbância ( $A_{260\text{ nm}}$ ). A presença do gênero *Enterococcus* sp., *E. faecalis*, *E. faecium*, gênero *Staphylococcus* sp. e da família *Enterobacteriaceae* foi realizada através de PCR, empregando-se, para tanto, iniciadores e condições de amplificação específicas<sup>13</sup>.

A amplificação do DNA foi realizada em volumes de 25  $\mu$ l, contendo 2,5  $\mu$ l de 10 X tampão PCR, 1,25  $\mu$ l

de  $MgCl_2$  (50 mM), 2,0  $\mu$ l de dNTP (10 mM), 0,25  $\mu$ l de *Taq* DNA polimerase (0,5 U), 1,0  $\mu$ l de cada iniciador (0,4  $\mu$ M), 7  $\mu$ l de água ultrapura Milli-Q esterilizada e 10  $\mu$ l de DNA (ng). A amplificação era realizada em aparelho de PCR (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2400) programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); de 30 a 36 ciclos de 94°C (30 s. a 1 min.), temperatura de anelamento de cada iniciador por um tempo que variou de 30s. a 2 min., 72°C (1 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA em amplificação. Os produtos da amplificação pelo PCR eram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (0,5  $\mu$ g/ml) e fotografados sobre transiluminador de luz ultravioleta, com câmara Kodak (Electrophoresis Documentation and Analyses System 120). Como padrão de peso molecular utilizaram-se os marcadores 1Kb DNA ladder e 50bp DNA ladder (Gibco, SP).

#### ○ Análise Estatística

As variáveis que apresentavam três ou mais categorias foram submetidas a teste de Qui-quadrado, enquanto aquelas com duas categorias foram submetidas ao teste de Mann-Whitney e teste exato de Fisher. As diferenças na distribuição dos diferentes microrganismos foram avaliadas através de análise de variância de medidas repetidas para dados categóricos (ANOVAmr), segundo Brunner e Langer<sup>14</sup>.

## RESULTADOS

Os pacientes apresentavam condições bastante variáveis de higiene bucal, sendo que 18% apresentaram uma higiene satisfatória, enquanto 36% higiene regular, 46% condições precárias de higiene. Sendo que entre os 23 pacientes com higiene precária, 17 eram usuários de próteses totais. As condições de higiene bucal mostraram uma significativa deterioração durante e imediatamente após a radioterapia, evidenciado pelo maior acúmulo de biofilme visível (teste de Qui-quadrado,  $p=0,042$ ).

A ocorrência de mucosite, dermatite, xerostomia, disgeusia, disfagia e, em menor grau, candidose foram bastante comuns nos pacientes irradiados e a frequência dessas alterações se manteve bastante elevada mesmo 6 meses e um ano após a conclusão da RT. Logo após o final da RT, 90% dos pacientes apresentavam mucosite, sendo que 58% mostravam mucosite grau III ou IV, enquanto que 6 meses após nenhum paciente apresentou mucosite severa e, embora 56% ainda apresentassem sinais e sintomas dessa enfermidade, todos eram portadores dessa condição em um grau leve ou moderado. Esse quadro não sofreu alterações significativas aos 12 meses após a conclusão da RT, desde que 46,4% ainda apresentavam sinais de mucosite, mesmo que leves ou moderados. Resultados semelhantes foram observados

com a xerostomia, dermatite e disgeusia, onde 94%, 86% e 88% dos pacientes reclamavam dessas condições logo após a RT, respectivamente, e 57,1%, 14,3% e 21,4% dos mesmos ainda se referiam a essas condições com um ano da conclusão da RT. Observou-se nítida correlação entre a ocorrência severidade da mucosite e xerostomia, principalmente após um ano da conclusão da RT (teste de Mann-Whitney,  $p=0,002$ ).

A ocorrência de mucosite, dermatite, disgeusia e xerostomia não mostrou correlação com gênero (teste exato de Fisher,  $p = 0,578$  a  $p = 1,0$ ), presença de cárie em cavitação, (teste Qui-quadrado,  $p = 0,139$  a  $p = 0,822$ ), condição periodontal (teste Qui-quadrado,  $p = 0,205$  a  $p = 0,940$ ), dosagem de radiação utilizada (teste exato de Fisher com  $p = 0,171$  a  $p = 0,63$ ), educação formal (teste Qui-quadrado,  $p = 0,087$  a  $p = 0,435$ ), quantidade consumida de álcool (teste exato de Fisher com  $p = 0,213$  a  $p = 0,85$ ), tempo de dependência do consumo dessas bebidas (teste de Mann-Whitney,  $p = 0,316$  a  $p = 0,886$ ). A prevalência de mucosite não mostrou correlação com os níveis de higiene bucal da população estudada, mas observou-se que todos os pacientes que desenvolveram mucosite grau III e IV apresentavam condições precárias de higiene dental (teste de Qui-quadrado,  $p < 0,001$ ).

Os resultados microbiológicos envolvendo o biofilme sub e supragengival foram semelhantes, de forma que os resultados apresentados na Tabela 1 fazem menção ao biofilme como um todo. Verificou-se, através do teste exato de Fisher (variando de  $p=0,089$  a  $p=0,735$ ), que nenhum microrganismo detectado mostrou-se associado ao aparecimento específico de xerostomia, disgeusia, disfagia e mucosite. Entretanto, após o início da RT o primeiro grupo microbiano cuja prevalência se elevou foram os membros da família *Enterobacteriaceae*, nas primeiras 2-3 semanas de tratamento (ANOVA<sub>mr</sub>,  $p = 0,036$ ) e na conclusão da RT (ANOVA<sub>mr</sub>,  $p = 0,012$ ), mantendo-se frequentes no biofilme sub e supragengival, saliva e mucosa dos irradiados 12 meses após a RT.

A ocorrência dos cocos Gram-positivos não se elevou no início da RT, mas *E. faecalis* mostrou-se mais prevalente ao final da RT (ANOVA<sub>mr</sub>,  $p = 0,023$ ), mantendo-se em patamares elevados de ocorrência um ano após a conclusão do tratamento radioterápico. Resultados semelhantes foram obtidos para os gêneros *Enterococcus* e *Staphylococcus*. *E. faecium* não teve sua ocorrência significativamente modificada pela RT (ANOVA<sub>mr</sub>,  $p > 0,05$ ). A presença de membros da família *Enterobacteriaceae* e *E. faecalis* mostrou-se relacionada com as condições de higiene bucal, predominando entre os pacientes com higiene precária. Após 12 meses de avaliação, observou-se que apenas os pacientes colonizados por

*Enterococcus* spp. e/ou bastonetes Gram-negativos da família *Enterobacteriaceae* mostravam-se portadores de mucosite grau II ou III (ANOVA<sub>mr</sub>,  $p = 0,02$ )(Tabela 2).

**Tabela 1.** Ocorrência de microrganismos oportunistas em diferentes sítios e ambientes na boca de pacientes com câncer de cabeça e pescoço ao longo do tempo

Tempo de avaliação	Microrganismo	Amostra N(%)		
		Biofilme*	Saliva**	Mucosa**
Antes da RT	Fam. <i>Enterobacteriaceae</i>	7 (25,0)	5 (10,0)	5 (10,0)
	<i>E. faecalis</i>	7 (25,0)	5 (10,0)	5 (10,0)
	<i>E. faecium</i>	1 (3,6)	1 (2,0)	0 (0,0)
	Gên. <i>Enterococcus</i>	10 (35,7)	7 (14,0)	6 (12,0)
	Gên. <i>Staphylococcus</i>	9 (32,1)	6 (12,0)	5 (10,0)
15-22 dias RT	Fam. <i>Enterobacteriaceae</i>	11 (39,3)	12 (24,0)	11 (22,0)
	<i>E. faecalis</i>	6 (21,4)	6 (12,0)	6 (12,0)
	<i>E. faecium</i>	1 (3,6)	2 (4,0)	0 (0,0)
	Gên. <i>Enterococcus</i>	8 (28,6)	8 (16,0)	7 (14,0)
	Gên. <i>Staphylococcus</i>	8 (28,6)	11 (22,0)	7 (14,0)
Após RT	Fam. <i>Enterobacteriaceae</i>	18 (64,3)	36 (72,0)	27 (54,0)
	<i>E. faecalis</i>	16 (57,1)	16 (32,0)	11 (22,0)
	<i>E. faecium</i>	3 (10,7)	5 (10,0)	6 (12,0)
	Gên. <i>Enterococcus</i>	16 (57,1)	16 (32,0)	16 (32,0)
	Gên. <i>Staphylococcus</i>	13 (46,4)	16 (32,0)	17 (34,0)
30 d. após RT	Fam. <i>Enterobacteriaceae</i>	19 (67,8)	29 (58,0)	30 (60,0)
	<i>E. faecalis</i>	13 (46,4)	17 (34,0)	19 (38,0)
	<i>E. faecium</i>	5 (17,9)	6 (12,0)	7 (14,0)
	Gên. <i>Enterococcus</i>	13 (46,4)	20 (40,0)	21 (42,0)
	Gên. <i>Staphylococcus</i>	13 (46,4)	15 (30,0)	13 (26,0)

\*Biofilme subgengival e supragengival. N= 28  
\*\*N= 50

**Tabela 2.** Ocorrência de microrganismos oportunistas em diferentes sítios e ambientes na boca de pacientes com câncer de cabeça e pescoço ao longo do tempo

Tempo de avaliação	Microrganismo	Amostra N(%)		
		Biofilme*	Saliva**	Mucosa**
6 meses após RT	Fam. <i>Enterobacteriaceae</i>	23 (82,1)	37 (74,0)	38 (76,0)
	<i>E. faecalis</i>	14 (50,0)	12 (24,0)	13 (26,0)
	<i>E. faecium</i>	10 (35,7)	7 (14,0)	9 (18,0)
	Gên. <i>Enterococcus</i>	15 (53,6)	17 (34,0)	20 (40,0)
	Gên. <i>Staphylococcus</i>	11 (39,3)	18 (36,0)	11 (22,0)
1 ano após RT	Fam. <i>Enterobacteriaceae</i>	8 (80,0)	7 (46,7)	11 (73,3)
	<i>E. faecalis</i>	5 (50,0)	2 (13,3)	3 (20,0)
	<i>E. faecium</i>	1 (10,0)	0 (0,0)	1 (6,7)
	Gên. <i>Enterococcus</i>	5 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	Gên. <i>Staphylococcus</i>	4 (40,0)	5 (33,3)	4 (26,7)

\*Amostras de acompanhamento de 1 ano após a RT N=10

\*\*Amostras de acompanhamento de 1 ano após a RT N=15

## DISCUSSÃO

Como previamente descrito<sup>10</sup>, mesmo com a adição de pacientes e substituição daqueles que não puderam concluir o acompanhamento clínico de 6 e 12 meses após a RT, o perfil demográfico e social dos

pacientes examinados pouco mudou, assemelhando-se ao perfil descrito por Al-Nawas & Grotz<sup>15</sup>. Modesta instrução formal mostrou-se frequente. O hábito de fumar ou consumir bebidas alcoólicas foi quase universal, sendo este um dos fatores extrínsecos mais relacionados com a etiologia do câncer de boca, na condição de agente iniciador pela presença de agentes carcinogênicos. Apenas uma minoria dos pacientes seguiu a orientação dos centros de radioterapia e conseguiram tratamento odontológico previamente à realização da RT.

A ocorrência de xerostomia, eliminando ou reduzindo os diferentes elementos da defesa inespecífica e específica presentes na saliva, pode representar um fator de extrema importância para o desenvolvimento ou o agravamento da cárie dental, bem como para agravar os casos de mucosite ligados ao uso de próteses totais<sup>16</sup>. Dessa forma, o tratamento odontológico prévio à radioterapia é indicado para adequação do meio bucal e eliminação de focos de infecção ativos e identificação/remoção de possíveis fatores de risco para complicações durante o tratamento, como por exemplo, dentes com infecções endodônticas ou periodontais passíveis de exacerbação<sup>16,17</sup>.

As principais complicações orais observadas ao longo da RT foram xerostomia, disgeusia, candidose, disfagia e mucosites, sendo que a frequência de desenvolvimento dessas condições poderia ter sido significativamente reduzida com o tratamento odontológico prévio<sup>18</sup>. Essa realidade se apresenta em toda a sua extensão quando se verifica que 27,4% dos 113 pacientes inicialmente selecionados não concluíram o tratamento em função da severidade das seqüelas bucais do tratamento radioterápico instituído.

Os principais sinais e sintomas da mucosite puderam ser observados na quase totalidade dos pacientes e, embora seu desenvolvimento seja relacionado com a dose e fracionamento da terapia por irradiação, no presente estudo não foram observadas diferenças significativas de severidade e prevalência da mucosite em relação à intensidade da RT empregada. Esse fenômeno possivelmente está relacionado ao fato de que o eritema da mucosa surge aproximadamente após 2500 cGy, enquanto que as dosagens utilizadas foram sempre bastante superiores a essa.

Os resultados evidenciaram um aumento na frequência de detecção dos principais microrganismos oportunistas estudados, como os enterococos e membros da família *Enterobacteriaceae*, nos irradiados. Entretanto, Almståhl et al.<sup>19</sup> mostraram que esses microrganismos estão em baixas proporções na microbiota, falhando em detectá-los nas amostras de biofilme e observando-os raramente nas amostras oriundas das mucosas. Essas diferenças podem estar

ligadas às características das populações irradiadas, brasileiros e suecos, bem como os métodos de detecção utilizados, uma vez que a ocorrência de microrganismos entéricos no biofilme bucal em brasileiros é uma realidade já conhecida<sup>10,13,20</sup>.

No estudo de Almståhl et al.<sup>19</sup> as condições de saúde dos pacientes previamente à realização da RT, eram bastante satisfatórias, em comparação com os dados dos pacientes aqui abordados e como previamente discutido<sup>10</sup>, o que também pode ter interferido nos resultados apresentados. Pôde-se observar, no estudo longitudinal, que os pacientes mostravam uma colonização estável, não transitória, onde tais microrganismos passaram a fazer parte da microbiota bucal, tanto dos biofilmes dentais quanto das mucosas, que influenciam a presença dos mesmos na saliva.

A despeito dessas modificações na ocorrência dos patógenos alvo, não são conhecidos os fatores exatos capazes de produzir o fenômeno, tampouco as inter-relações entre esses microrganismos e os membros da microbiota autóctone da cavidade bucal. Várias fontes externas para esses microrganismos entéricos tenham sido sugeridas, como a água ou alimentos contaminados<sup>21</sup>, possivelmente a própria microbiota entérica e cutânea dos pacientes pode ter criado condições para a colonização da cavidade bucal. Essa exacerbação da colonização por microrganismos exógenos adquire grande relevância clínica, uma que tais agentes representam reservatórios de genes de resistência a numerosos antimicrobianos e estão profundamente associados com infecções oportunistas<sup>13,20</sup>.

Leung et al.<sup>9</sup> sugeriram que essa colonização bucal por microrganismos da família *Enterobacteriaceae* e do gênero *Enterococcus* pode ser transitória, mas os dados do presente estudo vão em direção oposta, mantendo uma colonização estável ao longo do tempo, com exceção de *E. faecium*, raramente observado nas amostras clínicas.

Almståhl et al.<sup>22</sup> evidenciaram que os cuidados odontológicos e o aprimoramento da higiene dos pacientes podem prevenir uma modificação significativa da microbiota bucal, reduzindo o risco de danos maiores aos tecidos bucais. Esse fato torna-se mais relevante quando se verifica que muitos pacientes não puderam concluir o tratamento radioterápico devido a problemas de ordem essencialmente odontológica e para os quais existem medidas preventivas capazes de reduzir o desconforto e a destruição tecidual decorrente da mucosite e da xerostomia<sup>23</sup>.

Inicialmente, aventou-se a hipótese de que a condições precárias de higiene bucal, comuns nos pacientes estudados<sup>10</sup>, pudessem constituir o principal elemento que condicionava a transmissão dos

microrganismos estudados, o que poderia ser potencializado pelo uso de próteses, além da ocorrência de mucosite e xerostomia, que deteriorariam as já precárias condições bucais. O papel desses fatores isoladamente sugeria que a presença dos microrganismos nos pacientes seria transitória. Entretanto, os microrganismos alvo estiveram presentes, em parcela significativa dos pacientes, ao longo do tempo de avaliação, tendo aumentado com a RT e se mantido em patamares elevados mesmo 12 meses após a conclusão do tratamento, diferentemente do que revelam estudos onde as condições iniciais de saúde bucal eram melhores<sup>19,24</sup>.

Um aspecto que sugere a estabilidade da colonização bucal por microrganismos entéricos é o aumento da diversidade de espécies microbianas cultivadas nos pacientes irradiados, mesmo 30 dias após a conclusão da RT<sup>10</sup>, mas no presente ensaio não foi possível confirmar a identidade dos membros da família *Enterobacteriaceae* detectados por PCR. Porém, observou-se que os pacientes que apresentaram esses bastonetes no momento da conclusão da RT continuaram mostrando a presença dos mesmos em pelo menos algum espécime clínico coletado no período de 6 ou 12 meses após o tratamento radioterápico.

A manutenção da xerostomia e mucosite pronunciadas ao longo de todo o período de avaliação pode vir a contribuir para a estabilidade da colonização por esses patógenos, particularmente os Gram-negativos da família *Enterobacteriaceae*, que poderiam colaborar também para a manutenção do quadro inflamatório na mucosite, em função da sua capacidade ulcerogênica e de induzir a liberação de mediadores pró-inflamatórios<sup>20,25,26</sup>. Essas lesões são de grande relevância uma vez que podem constituir portas de disseminação microbiana para esses agentes, por vezes ligados a quadros de sepse generalizada<sup>11</sup>.

Desde que a ocorrência de xerostomia e mucosite foram quase universais entre os pacientes estudados, não foi possível correlacionar a presença de microrganismos específicos e a severidade e frequência dessas condições clínicas nos períodos de imediatamente posteriores à conclusão do tratamento radioterápico, tampouco após 30 dias<sup>10</sup>, enquanto Vidal-Casariago et al.<sup>24</sup> sugeriram que estafilococos e membros da família *Enterobacteriaceae*, como *E. coli*, poderiam estar envolvidos na mucosite severa nesses pacientes. Os dados relativos ao período de 6 e 12 meses dão suporte a essa abordagem e reforçam o papel do controle do biofilme e do atendimento odontológico prévio e ao longo do tratamento junto aos centros de oncologia como forma de acompanhar e minimizar as modificações radio-induzidas.

Sabe-se que a presença de espécies da família *Enterobacteriaceae*, enterococos e estafilococos constitui uma característica frequente em pacientes oncológicos<sup>27</sup> e essa característica pode ter contribuído para a estabilidade da colonização durante e após a RT. Como a microbiota bucal apresenta íntima correlação com a fisiologia bucal, sua modificação pode ter efeitos significativos sobre a qualidade de vida do paciente, podendo afetar as condições inflamatórias no aparelho estomatognático.

## CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo suportam o conceito de que pelo menos entre os pacientes avaliados, a colonização bucal por microrganismos oportunistas é frequente e estável ao longo do tempo, mas não mostra correlação nítida com a condição inflamatória dos tecidos bucais e, tampouco, com a presença de dentes e condição dos tecidos periodontais nos irradiados.

## REFERÊNCIAS

1. Bhide SA, Newbold KL, Harrington KJ, Nutting CM. Clinical evaluation of intensity-modulated radiotherapy for head and neck cancers. *Brit J Radiol.* 2012;85:487-94.
2. Randall K, Stevens J, Yepes JF, Randall ME, Kudrimoti M, Feddock J, et al. Analysis of factors influencing the development of xerostomia during intensity-modulated radiotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013;115:772-9.
3. Pinna R, Campus G, Cumbo E, Mura I, Milia E. Xerostomia induced by radiotherapy: an overview of the physiopathology, clinical evidence, and management of the oral damage. *Ther Clin Risk Manag.* 2015;11:171-88.
4. Paterson C, Caldwell B, Porteous S, Mclean A, Messow CM, Thomson M. Radiotherapy-induced xerostomia, pre-clinical promise of LMS-611. *Support Care Cancer* 2015. Doi 10.1007/s00520-015-2823-5.
5. Lalla RV, Saunders DP, Peterson DE. Chemotherapy or radiation-induced oral mucositis. *Dent Clin N Am* 2014;58:341-9.
6. Jham BC, França EC, Oliveira RR, Santos VR, Kowalski LP, Freire ARS. Candida oral colonization and infection in Brazilian patients undergoing head and neck radiotherapy: a pilot study. *Oral Surg Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 03:355-8.
7. Barasch A, Peterson DE. Risk factors for ulcerative oral mucositis in cancer patients: unanswered questions. *Oral Oncol.* 2003;39:91-100.
8. Al-Dasooqi N, Sonis ST, Bowen JM, Bateman E, Blijlevens N, Gibson RJ, et al. Emerging evidence

- on the pathobiology of mucositis. *Support Care Cancer* 2013;21:2075-83.
9. Leung WK, Jin LJ, Yam WC, Samaranayake LP. Oral colonization of aerobic and facultative anaerobic Gram-negative rods and cocci in irradiated, dentate, xerostomic individuals. *Oral Microbiol Immunol*. 2001;16:1-9.
  10. Gaetti-Jardim Jr E, Ciesielski FIN, Sousa FRN, Nwaokorie F, Schweitzer CM, Avila-Campos MJ. Occurrence of yeasts, pseudomonads and enteric bacteria in the oral cavity of patients undergoing head and neck radiotherapy. *Braz J Microbiol*. 2011;42:1047-55.
  11. Vanhoecke B, De Ryck T, Stringer A, Van de Wiele T, Keefe D. Microbiota and their role in the pathogenesis of oral mucositis. *Oral Dis*. 2015;21:17-30.
  12. Sampaio EF, César FN, Martins MGA. Perfil odontológico dos pacientes portadores de necessidades especiais atendidos no Instituto de previdência do estado do Ceará. *RBPS* 2004;17:127-34.
  13. Gaetti-Jardim Jr E, Fardin AC, Gaetti-Jardim EC, Castro A. L.; Schweitzer, C. M. Microbiota associated with chronic osteomyelitis of the jaws. *Braz J Microbiol*. 2010;41:1056-64.
  14. Brunner E, Langer F. Nonparametric analysis of ordered categorical data in designs with longitudinal observations and small sample sizes. *Biomet J*. 2000;42:663-75.
  15. Al-Nawas B, Grotz KA. Prospective study of the long change of the oral flora after radiation therapy. *Support Care Cancer* 2006;14:291-6.
  16. Rubira CMF, Devides NJ, Ûbeda LT, Bortolucci Jr AG, Lauris JR, Rubira-Bullen IR, et al. Evaluation of some oral postradiotherapy sequelae in patients treated for head and neck tumors. *Braz Oral Res*. 2007;21:272-7.
  17. Chambers MS, Garden AS, Kies MS, Martin JW. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer: pathogenesis, impact on quality of life, and management. *Head Neck Surg*. 2004;26:796-807.
  18. Sennhenn-Kirchner S, Freund F, Grundmann S, Martin A, Borg-von Zepelin M, Christiansen H, et al. Dental therapy before and after radiotherapy - an evaluation on patients with head and neck malignancies. *Clin Oral Invest*. 2009;13:157-64.
  19. Almståhl A, Wikström M, Fagerberg-Mohlin B. Microflora in oral ecosystems and salivary secretion rates - A 3-year follow-up after radiation therapy to the head and neck region. *Arch Oral Biol*. 2015;60:1187-95.
  20. Gonçalves MO, Coutinho-Filho WP, Pimenta FP, Pereira GA, Pereira JAA, Mattos-Guaraldi AL, et al. Periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species. *Lett Appl Microbiol*. 2007;44:488-94.
  21. Slots J, Rams TE, Feik D, Taveras HD, Gillespie GM. Subgingival microflora of advanced periodontitis in the Dominican Republic. *J Periodontol*. 1991;62:543-7.
  22. Almståhl A, Wikström M, Groenink J. Lactoferrin, amylase and mucin MUCB and their relation to the oral microflora in hyposalivation of different origins. *Oral Microbiol Immunol*. 2001;16:345-52.
  23. Ramirez-Amador V, Silverman Jr S, 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*. 1997;84:49-53.
  24. Vidal-Casariago A, Fernández-Natal I, Calleja-Fernández A, Parras-Padilla T, Cano-Rodríguez I, Prieto-Alonso B, et al. Nutritional, microbiological, and therapeutic factors related to mucositis in head and neck cancer patients: a cohort study. *Nutr Hosp*. 2015;32:1208-13.
  25. Sonis ST. Mucositis: the impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. *Oral Oncol*. 2009;45:1015-20.
  26. Kubota K, Kobayashi W, Sakaki H, Nakagawa H, Kon T, Mimura M, et al. Professional oral health care reduces oral mucositis pain in patients treated by superselective intra-arterial chemotherapy concurrent with radiotherapy for oral cancer. *Support Care Cancer* 2015;23:3323-9.
  27. Nagy KN, Sonkodi I, Szöke I, Nagy E, Newman HN. The microflora associated with human oral carcinomas. *Oral Oncol*. 1998;34:304-8.

## CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

**Elerson Gaetti Jardim Júnior**  
egaettij@foa.unesp.br

**Submetido em** 14/08/2015  
**Aceito em** 27/08/2015