

COLONIZAÇÃO DA MUCOSA ORAL POR LEVEDURAS, EM PACIENTES ONCOLÓGICOS, ENCAMINHADOS PARA QUIMIOTERAPIA EM MARINGÁ - PR¹

Ernesto Guilherme Kemmelmeier *

Mari Elen Ferreira **

Luiz Carlos Stefano Filho ***

Terezinha Inez Estivalet Svidzinski ****

RESUMO

A quimioterapia antineoplásica é um recurso terapêutico utilizado, a cada ano, por mais de 10 milhões de pessoas em todo o mundo. Entre suas complicações, destacam-se a mucosite e a neutropenia que predis põem estes pacientes a infecções oportunistas. A colonização prévia da boca por leveduras do gênero *Candida* está associada ao risco aumentado de infecções tanto localizadas como sistêmicas, estas últimas com elevado índice de mortalidade (30 a 40%). Este estudo, de caráter quantitativo e descritivo, teve como objetivo investigar a microbiota de leveduras da boca de pacientes portadores de câncer, por meio de cultura quantitativa, contagem e identificação de colônias, no início da quimioterapia, no Hospital do Câncer de Maringá. Dos 26 pacientes examinados, 20 (77%) apresentaram leveduras, 18 estavam colonizados por uma única espécie e dois por duas espécies diferentes. Dos 22 isolados obtidos, 16 (73%) eram *Candida albicans*. Os resultados quantitativos revelaram que 61,5% dos pacientes estavam significativamente colonizados, previamente ao tratamento quimioterápico. Essa constatação desperta a atenção no sentido de se estabelecer cuidados visando evitar o desenvolvimento do processo infeccioso, tendo em conta a potencialização dos riscos após o início da quimioterapia.

Palavras-chave: Interleucina-3. Boca. Quimioterapia.

INTRODUÇÃO

A cada ano, em todo o mundo, mais de 10 milhões de pessoas submetem-se à quimioterapia isolada ou combinada com radioterapia, para tratamento de câncer. Infelizmente, este tipo de terapia é freqüentemente complicado pelo dano tóxico provocado às mucosas, tanto da boca como do trato gastrointestinal, também conhecido como mucosite⁽¹⁾.

A mucosite caracterizada pela ulceração nas mucosas oro-esofagianas e gastrintestinais, resulta em dor, disfagia, diarreia e disfunção, dependendo do tecido afetado. A mucosite oral causa desconforto severo e prejudica a capacidade de o paciente comer, engolir e falar. Apesar do desconforto intenso da mucosite oral ser, freqüentemente, o sintoma mais óbvio e problemático apresentado pelos

pacientes submetidos à quimioterapia citotóxica, o dano à mucosa gastrointestinal é o que oferece maior risco à vida^(1,2).

A boca é o habitat de uma microbiota diversa, que inclui mais de 500 espécies identificadas, muitas destas potencialmente patogênicas. Em condições normais, é representada por microrganismos inofensivos que, em condições especiais, podem causar infecções dentárias de baixo grau, porém, nos pacientes imunocomprometidos, podem assumir papel patogênico, causando infecções severas, tanto localizadas como sistêmicas⁽³⁾.

Entre os microrganismos da microbiota bucal incluem-se fungos, com destaque para as leveduras do gênero *Candida*. De cerca de 350 espécies conhecidas, aproximadamente dez colonizam a cavidade oral. O índice reportado de colonização bucal por leveduras do gênero

¹ Financiado pela Fundação Araucária.

* Farmacêutico-Bioquímico. Mestrando do Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

** Enfermeira. Chefe do Setor de Quimioterapia do Hospital do Câncer de Maringá.

*** Acadêmico de Farmácia e Bioquímica da UEM. Bolsista PIBIC.

**** Farmacêutica-Bioquímica. Doutora do Departamento de Análises Clínicas da UEM.

Candida, em indivíduos saudáveis, varia de 35 a 80%, dependendo da população estudada e dos métodos de coleta das amostras⁽⁴⁾.

Têm sido identificados fatores de risco comuns aos pacientes que desenvolvem infecções fúngicas. Alguns destes fatores atuam primariamente, induzindo imunossupressão e outros, fornecendo uma rota de infecção. Entre os primeiros, pode ser citado o uso de corticosteróides, a quimioterapia, a desnutrição, a presença de malignidade, a neutropenia e, entre os segundos, as queimaduras, lesões ou cirurgias extensas e o uso dos mais diversos tipos de catéteres. A estes fatores acrescentam-se ainda, a colonização prévia de certas áreas do corpo por fungos e o uso de antibióticos de largo espectro, por tempo prolongado, que permite a proliferação dos fungos nestas áreas⁽⁵⁾. É importante a avaliação quantitativa da carga microbiana, pois existe relação entre sua intensidade e a incidência de infecções, sejam elas localizadas ou sistêmicas⁽¹⁰⁾.

A maioria das candidemias tem origem endógena. A levedura é adquirida por meio da colonização prévia da boca, trato gastrointestinal, vagina ou pele, que atuam como fonte dos microrganismos⁽⁵⁾. A infecção fúngica invasiva ocorre como resultado do aumento da biomassa do fungo patogênico. A infecção cresce em agressividade à medida que se espalha do local inicial de colonização, penetrando nas barreiras defensivas do hospedeiro danificando os tecidos e, eventualmente, assumindo caráter sistêmico⁽⁶⁾.

O método geralmente utilizado para diagnóstico da candidemia é a hemocultura, porém, como sua sensibilidade se situa entre 10 e 43%, quando comparada à necropsia, sempre que ocorre suspeita de infecção, costuma-se iniciar um tratamento empírico, para evitar maiores complicações⁽⁸⁾. Por outro lado, esta terapia pode ser desnecessariamente tóxica e cara e, ainda, contribuir para o desenvolvimento de cepas de fungos com resistência aumentada⁽⁵⁾.

Tanto a mucosite como a candidemia podem impor mudanças nos esquemas ideais de quimioterapia, como diminuição das doses, aumento do intervalo entre os ciclos ou mesmo sua interrupção, o que leva a uma redução de 20 a 30% na probabilidade de sucesso do tratamento^(2, 6).

Considerando os fatos e as evidências acima expostas, tem-se como objetivo estudar a microbiota de leveduras da cavidade oral de pacientes oncológicos, imediatamente antes de iniciarem tratamento quimioterápico. Espera-se que o conhecimento gerado possa contribuir para a instituição de cuidados que melhorem a segurança e a qualidade de vida destes pacientes.

METODOLOGIA

Este projeto foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (COPEP) da Universidade Estadual de Maringá, em 22/09/2006, (Parecer nº 254/2006).

Este estudo transversal, de caráter experimental, quantitativo e descritivo, foi realizado em 26 pacientes portadores de câncer, no início do tratamento quimioterápico, no Hospital do Câncer de Maringá (H. C. de Maringá). As amostras foram coletadas entre os dias cinco e 28 de março de 2007. Foram excluídos do estudo os menores de idade e os pacientes que estavam sendo submetidos concomitantemente à radioterapia. Não foram estabelecidas outras restrições quanto à idade, sexo, ou natureza da doença, para inclusão dos sujeitos nesta pesquisa.

Os pacientes foram convidados a participar deste estudo, receberam explicações a respeito da coleta e dos objetivos desta pesquisa e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Em seguida, foram submetidos à coleta de material da cavidade oral.

A coleta foi realizada no Setor de Quimioterapia do H. C. de Maringá, mediante bochecho com 10 ml de água potável esterilizada, durante um minuto. O líquido de lavagem foi recolhido em recipiente estéril. Após a coleta, as amostras foram levadas ao Laboratório de Micologia Médica do Laboratório de Ensino e Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá (LEPAC), onde foram realizadas as culturas.

Cada amostra foi centrifugada por 10 minutos, a 2000 x g, o sobrenadante foi removido e o sedimento foi resuspenso após completado para 1 ml, com solução salina tamponada. Uma porção (50 µl) deste concentrado foi inoculado em uma placa, contendo

Sabouraud dextrose ágar (Accumedia Manufactures Inc. Lansing, Michigan, USA), acrescido de antibióticos (cloranfenicol 200 µg/ml e gentamicina 100 µg/ml). Após incubação, por 48 horas a 35°C, as colônias suspeitas de leveduras foram contadas, e seu número expresso em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/ml) e repicadas para uma placa de CHROMAgar Candida® (Chromagar, Paris, França), a qual foi incubada por 48 h, a 35°C. As colônias, assim isoladas, foram identificadas mediante métodos clássicos consagrados na literatura, como a morfologia em laminocultivo em ágar fubá-Tween 80® e as provas bioquímicas de auxanograma e zimograma⁽⁹⁾.

Crítérios de interpretação

Foram valorizadas todas as espécies isoladas. Quanto à quantificação, foi adotado o seguinte critério, com base na literatura^(4, 10):

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.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição da população estudada, quanto ao sexo e à idade, está exposta na Figura 1.

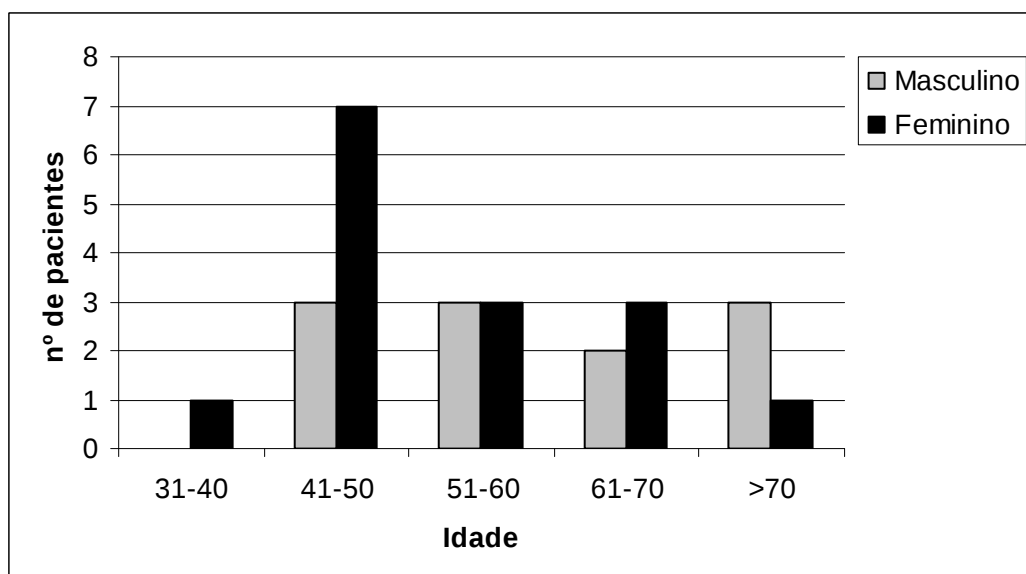


Figura 1. Frequência dos pacientes participantes do estudo, quanto ao sexo e faixa etária. Maringá-PR, 2007.

Na Tabela 1, estão descritos os tipos de câncer de que eram portadores os sujeitos da pesquisa, bem como sua frequência nesta população.

Quanto aos resultados das culturas, 20 pacientes (77%) apresentaram culturas positivas para leveduras pela metodologia utilizada. Como nenhum dos pacientes apresentava queixas de afecções bucais, a presença destas leveduras pode ser considerada como colonização. Dos pacientes com resultados positivos, 18 (69%) apresentaram-se colonizados por uma única espécie e dois, por duas espécies diferentes de leveduras. O índice de

colonização oral por leveduras do gênero *Candida* varia de 35 a 80% em indivíduos saudáveis⁽⁴⁾. Apesar de os pacientes em nosso estudo não ser considerados saudáveis, o índice de colonização encontrado está dentro desta ampla faixa de valores.

As infecções fúngicas invasivas, causadas por espécies do gênero *Cândida*, têm aumentado significativamente nas últimas décadas, ocupando o quarto lugar entre as mais frequentes causas de infecções da corrente sanguínea, nos Estados Unidos. A candidemia está associada não apenas a elevados índices de mortalidade (30 a 40%), mas também

aumenta o tempo de hospitalização e os custos do tratamento médico. Nos últimos anos, vem ocorrendo a mudança das espécies de *Candida* associadas à candidemia, *C. albicans* vem sendo

substituída por espécies não-albicans (CNA). Aproximadamente metade dos casos de candidemia reportados é agora atribuído à CNA⁽⁷⁾.

Tabela 1. Tipos de câncer e sua frequência, no grupo de pacientes estudados. Maringá-PR, 2007.

Tipo de câncer	nº de casos	%
mama	7	27,0
intestino*	4	15,4
pulmão	3	11,5
próstata	2	7,7
colo uterino	2	7,7
estômago	2	7,7
Ca laringe	2	7,7
ovário	1	4,4
esôfago	1	4,4
nariz	1	4,4
Mieloma Múltiplo	1	4,4
Total	26	100

*inclui 2 de cólon, 1 de reto e 1 de reto-sigmóide

Segundo Cheng et al⁽⁷⁾, os pacientes com candidemia costumam apresentar síndrome séptica aguda, indistinguível da bacteriemia, mas eles também podem exibir quadro clínico de curso arrastado, manifestado como febre de origem indeterminada. A apresentação clínica dos casos de septicemia causada por *C. albicans* e CNA, são indistinguíveis, contudo as CNA são menos suscetíveis aos antifúngicos azólicos, como o fluconazol, requerendo doses maiores para se obter cura clínica.

Na Tabela 2, estão relacionadas as espécies de leveduras encontradas em cada paciente, bem como suas respectivas contagens. Como pode ser observado, dos 22 isolados obtidos, 16 (73%) são *Candida albicans*. O predomínio desta espécie, em amostras provenientes da boca, é um fato já bem estabelecido na literatura, tanto em pacientes com doença (candidíase) da cavidade oral, como naqueles apenas colonizados^(4,10,11).

Com relação à intensidade da colonização, existem informações na literatura, correlacionando colonizações intensas com maior risco no desenvolvimento de infecções, tanto localizadas como sistêmicas, podendo esta ser usada como

marcador prognóstico de risco de infecção^(6,10). Pelos critérios adotados, 16 (61,5%) dos pacientes deste estudo apresentaram contagens superiores a 50 UFC/ml, podendo ser considerados significativamente colonizados e, portanto, com risco potencial de infecções por leveduras. É importante considerar que este risco se amplia a partir do início da quimioterapia e com eventuais procedimentos a que estes pacientes poderão ser submetidos.

Alguns autores sugerem o uso de culturas rotineiras, de vigilância, para avaliar o grau de colonização das mucosas por leveduras e a instituição de medidas de controle, para diminuir a possibilidade de infecções invasivas em pacientes especialmente suscetíveis, principalmente nas colonizações mais intensas^(5,10).

Entre as medidas de controle preconizadas, destacam-se os cuidados com a higiene bucal e o uso de antifúngicos tópicos, que geralmente são suficientes nas candidíases orais não-complicadas⁽¹⁴⁾. As mesmas medidas de higiene bucal são também preconizadas para diminuir a probabilidade de complicações orais na mucosite⁽¹²⁾.

Tabela 2. Espécies de leveduras isoladas e suas respectivas contagens de unidades formadoras de colônias por cada ml (UFC/ml) de lavado oral, por paciente. Seis pacientes tiveram culturas negativas (8,13, 21, 23, 25 e 26). Maringá-PR, 2007.

Paciente	Leveduras isoladas	UFC/ml
1	<i>Candida albicans</i>	464
2	<i>Candida glabrata</i>	88
3	<i>Candida albicans</i>	84
4	<i>Candida albicans</i>	incontáveis
5	<i>Candida albicans</i> + <i>Candida tropicalis</i>	incontáveis
6	<i>Candida albicans</i> + <i>Candida krusei</i>	incontáveis
7	<i>Candida albicans</i>	incontáveis
9	<i>Candida albicans</i>	2
10	<i>Candida albicans</i>	176
11	<i>Candida albicans</i>	186
12	Levedura ainda não identificada	8
14	<i>Candida glabrata</i>	6
15	<i>Candida albicans</i>	2
16	<i>Candida albicans</i>	392
17	<i>Candida albicans</i>	122
18	<i>Candida tropicalis</i>	incontáveis
19	<i>Candida albicans</i>	228
20	<i>Candida albicans</i>	170
22	<i>Candida albicans</i>	incontáveis
24	<i>Candida albicans</i>	230

Nossos resultados confirmam a relevância da inspeção cuidadosa da cavidade oral antes do início da quimioterapia e de sua repetição ao longo do tratamento⁽¹²⁾.

A terapia antifúngica tópica, em geral, usando a nistatina, que não é absorvida pelo trato gastrointestinal, é o tratamento de primeira linha, recomendado para as candidíases orais não-complicadas. Nos pacientes intolerantes ou refratários a este tratamento ou naqueles com alto risco de desenvolver infecções sistêmicas, costumam ser usados antifúngicos sistêmicos⁽¹⁴⁾. Nestes casos, existem evidências de que as drogas parcialmente absorvíveis (micronazol e clotrimazol) sejam mais benéficas do que as absorvíveis (fluconazol, itraconazol, cetoconazol)^(11, 13).

Como se pode inferir, existem evidências da relação clara entre a mucosite pós-quimioterapia e casos de candidemia nestes mesmos pacientes. Os fatores de risco entrelaçam-se e convergem. As

neoplasias, todas em si debilitantes, levam ao tratamento quimioterápico, que gera graus variáveis de neutropenia e outros agravos ao sistema imune e, ainda, efeitos colaterais como a mucosite, que além de abrir as defesas representadas pelas mucosas, causa, ainda, dificuldades para a alimentação dos pacientes. As infecções bacterianas secundárias obrigam à utilização de antibióticos de largo espectro, que perturbam o equilíbrio da flora normal, permitindo aumento da população de leveduras.

Finalmente, é importante ter em mente que o contato pessoal diário e intensivo por parte da equipe de enfermagem, com a adaptação pronta e adequada das medidas de apoio, durante a quimioterapia, reduzem significativamente o desconforto oral associado à mucosite e suas complicações, bem como a necessidade do uso de medicamentos⁽¹²⁾.

YEAST COLONIZATION OF ORAL MUCOSA IN ONCOLOGICAL PATIENTS REFERED TO CHEMOTHERAPY IN MARINGÁ – PR (BRAZIL)

ABSTRACT

Antineoplastic chemotherapy is a therapeutic resource used worldwide by more than 10 million people every year. Among its complications are mucositis and neutropenia, which predispose those patients to opportunistic infections. Previous colonization of the mouth by *Candida* genus yeasts is associated with an increased risk of both localized and systemic infections, the latter of which have a high mortality index (30 to 40%). This study, of quantitative and descriptive character, had as objective to investigate the mouth yeast microbiota of patients with cancer, through quantitative culture, colony count and identification, at the beginning of chemotherapy in the Cancer Hospital of Maringá. From 26 patients examined, 20 (77%) presented yeast; 18 were colonized by only one species and two by two different species. From the 22 isolates obtained, 16 (73%) were *Candida albicans*. The quantitative results showed that 61.5% of patients had been significantly colonized prior to chemotherapy. This finding calls attention to the importance in establishing means to avoid the development of the infectious process, having in mind the potential of risks after the start of chemotherapy.

Key words: Interleukin-3. *Candida*. Mouth. Drug therapy.

COLONIZACIÓN DE LA MUCOSA ORAL POR LEVADURAS EN PACIENTES ONCOLÓGICOS ENCAMINADOS A QUIMIOTERAPIA EN MARINGÁ – PR

RESUMEN

La quimioterapia antineoplásica es un recurso terapéutico utilizado, a cada año, por más de 10 millones de personas en todo el mundo. Entre sus complicaciones, se destacan la mucositis y la neutropenia que predispone a estos pacientes a las infecciones oportunistas. La colonización previa de la boca por levaduras del género *Candida* está asociada al riesgo aumentado de infecciones tanto localizadas, como sistémicas, estas últimas con elevado índice de mortalidad (30 a un 40%). Este estudio, de carácter cuantitativo, descriptivo, tuvo como objetivo estudiar la microbiota de levaduras de la boca de pacientes portadores de cáncer, a través de cultura cuantitativa, contar e identificar colonias, en el inicio de la quimioterapia, en el Hospital del Cáncer de Maringá. De los 26 pacientes examinados, 20 (un 77%) presentaron levaduras, 18 estaban colonizados por una única especie y dos por dos especies diferentes. De los 22 aislados obtenidos, 16 (un 73%) eran *Candida albicans*. Los resultados cuantitativos revelaron que un 61,5% de los pacientes se presentaban significativamente colonizados antes del tratamiento quimioterápico. Ese hallazgo llama la atención en el sentido de establecerse cuidados que pretenden evitar el desarrollo del proceso infeccioso, teniendo en cuenta potenciar los riesgos después del inicio de la quimioterapia.

Palabras Clave: Interleucina-3. *Candida*. Boca. Quimioterapia.

REFERÊNCIAS

1. Blijlevens NMA. Implications of treatment-induced mucosal barrier injury. *Curr Opin Oncol*. 2005;17:605-10.
2. Scully C, Sonis S, Diz PD. Oral Mucositis. *Oral Dis*. 2006;12:229-41.
3. Gordón-Núñez MA, Pinto LP. Candidíase e sua relação com a mucosite oral em pacientes oncológicos pediátricos. *Rev Bras Pat Oral*. 2003 abr/jun;2(2):4-9.
4. White LP, Williams, DW, Kuriyama T, Samad AS, Lewis MAO, Barnes RA. Detection of *Candida* in concentrated oral rinse cultures by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2004 May; 42(5):2101-7.
5. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev*. 1996 Oct; 9(4):499-511.
6. Magrys A, Koziol-Montewka M, Staroslawska E, Gabczynska B. The prognostic and diagnostic markers of invasive candidiasis in patients during chemotherapy. *Pol J Microbiol*. 2005;54(3):207-13.
7. Cheng MF, Yang YL, Yao TJ, Lin CY, Liu JS, Tang RB, et al. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species. *BMC Infect Dis* [periódico na Internet]. 2005. [acesso em 2006 jul. 20]; 5(22):1-5. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/5/22>
8. Ruiz EMF, Novales MGM, Santos FS, Huerta GS, Ponce HD. Fluorescência direta e imunofluorescência indireta em extensão leucocitária para el diagnóstico de candidemia en pacientes pediátricos: estudio comparativo. *Rev Iberoam Micol*. 2005; 22:102-4.
9. Larone HD. Medically important fungi: a guide to identification. 3ª ed. Washington, DC: ASM Press; 1995.

10. Fanello S, Bouchara JP, Sauteron M, Delbos V, Parot E, Marot-Leblond A, et al. Predictive value of oral colonization by *Candida* yeasts for the onset of a nosocomial infection in elderly hospitalized patients. *J Med Microbiol.* 2006;55:223-8.
11. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral *Candida*: clearance, colonization, or candidiasis? *J Dent Res.* 1995;74(5):1152-61
12. Köstler WJ, Hejna M, Wenzel C, Zielinski CC. Oral mucositis complicating chemotherapy and/or radiotherapy: options for prevention and treatment. *CA Cancer J Clin.* 2001;51:290-315.
13. Worthington HV, Clarkson JE. Prevention of oral mucositis and oral candidiasis for patients with cancer treated with chemotherapy: Cochrane systematic review. *J Dent Educ.* 2002 Aug;66(8):903-11.
14. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J.* 2002;78:455-9.

Endereço para correspondência: Ernesto Guilherme Kemmelmeier. Rua Alfredo Pujol, 205. Maringá – PR. CEP: 87015-250.. Email: ernesto_k@uol.com.br

Recebido: 30/09/2007

Aprovado: 30/03/2008