

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO
AMAZONAS – HEMOAM / MESTRADO EM HEMATOLOGIA

DETECÇÃO DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* E *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
NA MUCOSITE ORAL EM PACIENTES LEUCÊMICOS SUBMETIDOS AO
TRATAMENTO ANTINEOPLÁSICO

Ana Cláudia Nunes Duarte Goeritz

Ana Cláudia Nunes Duarte Goeritz

DETECÇÃO DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* E *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA MUCOSITE ORAL EM PACIENTES LEUCÊMICOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO ANTINEOPLÁSICO

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À HEMATOLOGIA, EM CONVÊNIO COM A FUNDAÇÃO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO AMAZONAS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM HEMATOLOGIA.

Orientador Prof. Dr. Daniel Saito

Co-orientador Prof. Dr. Erich Vinicius de Paula

Manaus, Amazonas
2017

Ficha Catalográfica

G597d Goeritz, Ana Cláudia Nunes Duarte.
Detecção de *Pseudomonas aeruginosa* e *staphylococcus aureus* na mucosite oral em pacientes leucêmicos submetidos ao tratamento antineoplásico . /Ana Cláudia Nunes Duarte Goeritz.
-- Manaus : Universidade do Estado do Amazonas, 2017.
xiv, 115 f. : il.
Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, em convênio com a Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, 2017.
Orientador: Prof. Dr. Daniel Saito
Co-orientador; Prof. Dr. Erich Vinicius de Paula
1. Tratamento antineoplásico 2 Mucosite oral . 3. Bacterias
4. PCR convencional I. Título

FOLHA DE JULGAMENTO



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS A HEMATOLOGIA - UEA/HEMOAM



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 09/2017

Aos vinte nove dias do mês de setembro do ano de 2017, às 9hs, realizou-se na sala de aula 10, bloco E, 1º andar – HEMOAM, sito Av. Constantino Nery, 4397 - Chapada. A Defesa de Mestrado do (a) aluno(a) **Ana Cláudia Nunes Duarte Goeritz**, sob o título “**Detectação de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* na Mucosite oral em Pacientes Leucêmicos submetidos ao tratamento Antineoplásico**”, em complemento aos critérios exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas a Hematologia, tendo como orientador(a) o Prof.(a) Dr.(a). **Daniel Saito**, segundo encaminhamento do prof. (a) Doutor(a) **Cristina Motta Ferreira**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Hematologia e de acordo com os registros constantes na Secretaria Geral da Universidade do Estado do Amazonas. A Banca julgadora foi composta pelos seguintes componentes: Prof(a) Dra(a) **Daniel Saito** (Presidente), Prof(a) Dra(a) **Cristina Motta Ferreira** (Membro Interno), Prof(a) Dra(a) **Marcelo Diniz Carvalho** (Membro Externo). Encerrando os trabalhos, os examinadores deram o parecer final sobre a defesa, tendo sido atribuído à (o) aluna (o) o conceito discriminado no parecer da referida Comissão.

A Dissertação foi considerada:

Aprovada

Não Aprovada

Prof. Dr. Daniel Saito (Presidente)

Profª. Dra. Cristina Motta Ferreira (Membro Interno)

Prof. Dr. Marcelo Diniz Carvalho (Membro Externo)

AGRADECIMENTOS

Deus primeiro... Obrigado por TUDO !!!

À minha querida família pelos valores, incentivo, apoio, força e encorajamento. Mãe, valeu pela força e dedicação, pode ter certeza que valeram a pena; Pai, você é muito especial !!!

Ao meu filho tão amado Pedro, minha fonte inspiradora e o melhor de mim, saiba que tudo isso é por você e pra você;...

Ao amigo Prof. Daniel Saito por ter me aceitado como orientanda e pelos ensinamentos e lição de vida que sempre passou, por ter confiado em minha pessoa e me ajudado a não desistir. Além disso, disponibilidade do material necessário para realização deste estudo.

Ao Prof. Erich Vinicius de Paula pelo espelho que sempre foi, pela orientação e confiança depositada em todos os momentos.

Aos professores e colegas das turmas de graduação, especialização e pós-graduação... os bons me ensinaram o que devo ser e os ruins o que não fazer...

Ao querido Prof. Ruffino Netto pela oportunidade e encaminhamento...

Ao amigo Anderson do Nascimento Barbosa pela convivência, apoio, paciência, dedicação, aprendizado e divertimento. Pela viabilidade do seu tempo sempre, pois sem você não conseguiria!

Prof. Nelson Fraiji, por ter acreditado em mim e pelo exemplo de caráter, conduta pessoal e profissional.

A todos os profissionais do Hospital Hemoam que, direta ou indiretamente, participaram da realização desse trabalho e me ajudaram da melhor forma possível, em especial as enfermeiras Ana Luísa, Luiza, a Dra. Cíntia Xerez e a Wilmara.

A Universidade do Estado do Amazonas, a qual devo todo meu conhecimento acadêmico, profissional e científico, pela oportunidade concedida.

Muito obrigada!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Convivendo alguns momentos com os corajosos pacientes com leucemia do Hospital HEMOAM, antes e durante da realização da quimioterapia, senti no silêncio das suas dores, no olhar triste, mas determinado de cada criança, a esperança no tratamento a que se submetem. Um tratamento difícil e cheio de efeitos colaterais., mas que proporciona a melhora. Isto me tocou profundamente, me fez uma pessoa melhor e é a eles, pequenos heróis, que dedico este trabalho, na esperança de amenizar tal sofrimento, sensibilizando a todos os profissionais envolvidos, no sentido de melhorar as condições de internação e qualidade de vida para alcançar resultados mais efetivos.

EPÍGRAFE

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)

RESUMO

As doenças neoplásicas são uma importante realidade em nossa sociedade, apresentando uma alta incidência no Brasil e no mundo. A leucemia linfocítica aguda se apresenta como o câncer mais comum em crianças e é caracterizada pela produção elevada e desordenada de leucócitos imaturos na medula óssea. As complicações orais decorrentes da terapia quimioterápica utilizada no tratamento da leucemia ocorrem com frequência significativa. A mucosite é um exemplo destas, e caracteriza-se como uma irritação da mucosa oral, sendo a manifestação mais comum de estomatotoxicidade direta, apresentando-se como condição ulcerativa difusa da mucosa bucal não-ceratinizada. O objetivo deste trabalho foi detectar a possível associação entre as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e o desenvolvimento da mucosite oral em pacientes em tratamento antineoplásico, utilizando-se a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Para tanto, foram avaliados 46 pacientes com diagnóstico de Leucemia Linfocítica Aguda (LLA), os quais encontravam-se em tratamento no HEMOAM na cidade de Manaus. Utilizou-se um questionário criado especialmente para este trabalho, com o objetivo de facilitar o levantamento de dados como idade, sexo, sintomatologia e condição bucal. Foi realizada coleta de saliva por swab estéril antes do início da quimioterapia e 14 dias após a realização do tratamento. Durante a terapia adotada, náuseas, vômitos e febre foram as manifestações gerais mais relatadas. Dos 46 pacientes atendidos, 19 (41,3%) desenvolveram algum grau de mucosite. A aplicação da PCR demonstrou a presença de *P. aeruginosa* e *S. aureus* em todas as fases do tratamento, sendo que *S. aureus* esteve presente em 79% dos pacientes portadores de mucosite. A análise estatística dos resultados possibilitou constatar-se que *P. aeruginosa* está associada a níveis mais baixos de hemoglobina pós-quimioterapia, enquanto que *S. aureus* está associada ao desenvolvimento de mucosite, náusea, febre, dieta e intervenção odontológica prévia. Conquanto essa bactéria mostrou-se diretamente vinculada a sinais e sintomas específicos na mucosite, estudos posteriores devem ser conduzidos para se estabelecer a relação causa-efeito nessa doença. Diante dos resultados, sugere-se que a mielossupressão induzida pela quimioterapia promove alteração significativa do microambiente oral, favorecendo o desenvolvimento da mucosite a proliferação de espécies potencialmente patogênicas, em especial, *Staphylococcus aureus*.

Palavras – chave: Leucemia; Mucosite Oral; *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*; PCR.

ABSTRACT

Neoplastic diseases are an important reality in modern society, displaying high incidence in Brazil and over the world. Acute lymphocytic leukemia is the most common cancer in children, and is characterized by the elevated and disordered production of immature leukocytes in the bone marrow. The oral complications resulting from the therapy used to treat leukemia occur quite frequently. Mucositis is one such example, and is characterized by irritation of the oral mucosa, being the most common manifestation of direct stomatotoxicity, and presenting diffuse ulceration of the non-keratinized buccal mucosa. The objective of this study was to detect the possible association between *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* and the development of oral mucositis in patients receiving antineoplastic treatment by use of the PCR technique. To this end, 46 Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) patients who were being treated at HEMOAM in the city of Manaus were interviewed and examined. A questionnaire created specially for this study was used, in order to facilitate the collection of data including age, sex, clinical features, and oral health condition. Saliva was collected by sterile swab before the start of chemotherapy, and 14 days after the treatment. During chemotherapy, nausea, vomiting and fever were the most commonly reported manifestations, besides mucositis and gingival bleeding. Conventional PCR revealed the presence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in all treatment phases, and that *S. aureus* was present in 79% of mucositis subjects. Based on the statistical analysis, the presence of *P. aeruginosa* was positively related with lower haemoglobin levels after chemotherapy, while *S. aureus* was intimately associated with mucositis, nausea, fever, diet type, and previous dental intervention. Whilst this bacteria has shown positive association with many clinical parameters, additional studies must be performed to assess its potential pathogenic role in oral mucositis. In view of the results, it can be suggested that myelosuppression induced by chemotherapy favors the development of oral mucositis and the proliferation of potential pathogenic species, especially *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Leukemia; Oral Mucositis ; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus*; PCR.

RESUMO LEIGO

O câncer é uma doença que acomete milhares de pessoas no mundo, independentemente de idade, sexo e raça. Leucemia é uma doença maligna dos leucócitos (glóbulos brancos), um tipo de câncer cuja principal característica é o acúmulo de células jovens (blásticas) anormais na medula óssea, as quais substituem as células sanguíneas normais. A palavra "leucemia" vem dos termos gregos *leukos* = "branco" + *haima* = "sangue". A leucemia linfocítica aguda é a neoplasia maligna que mais afeta crianças. O tratamento do câncer geralmente leva a certas complicações bucais tais como mucosite (feridas na boca), sangramento gengival, boca seca, entre outros, além de levar a efeitos colaterais no corpo todo. Uma vez que a composição microbiana da cavidade oral é altamente complexa, vários microrganismos podem estar associados às alterações orais durante o tratamento do câncer. Dentre essas bactérias, podemos citar *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, as quais podem colonizar as lesões ulcerativas presentes na mucosite, exacerbando sua gravidade e sintomatologia, podendo levar à uma maior dificuldade no tratamento. O papel das bactérias na mucosite induzida pelo tratamento antineoplásico ainda não está bem definido na literatura. Nesse contexto, métodos moleculares de detecção microbiana podem trazer contribuições importantes para o conhecimento. Ademais, sabe-se que o tratamento preventivo da mucosite oral auxilia na prevenção de infecções secundárias, além de oferecer maior conforto ao paciente. Assim, o presente trabalho buscou identificar as bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa* em pacientes leucêmicos submetidos ao tratamento antineoplásico. Os resultados obtidos demonstraram que, dentre os pacientes submetidos ao tratamento antineoplásico quimioterápico, uma parcela importante desenvolveu mucosite (41,3%). Com relação à presença bacteriana, *P. aeruginosa* apresentou correlação com níveis mais baixos de hemoglobina, enquanto que *S. aureus* apresentou estreita associação com o desenvolvimento de mucosite, febre, tipo de dieta e tratamento odontológico prévio. Diante dos resultados, sugere-se a mucosite como manifestação secundária à mielossupressão induzida pela quimioterapia, a qual, por sua vez, favorece a proliferação de bactérias potencialmente patogênicas, em especial *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Distribuição de pacientes portadores de leucemia segundo escolaridade, renda familiar e naturalidade	29
Tabela 2 Presença de <i>Staphylococcus aureus</i> antes (T1) e após (T2) o tratamento de pacientes portadores de leucemia	29
Tabela 3 Presença de <i>Staphylococcus aureus</i> antes da quimioterapia (T1) conforme gênero e idade de pacientes portadores de leucemia	30
Tabela 4 Detecção de <i>Staphylococcus aureus</i> após 14 dias da quimioterapia (T2) conforme gênero e idade de pacientes portadores de leucemia	31
Tabela 5 Presença para <i>Staphylococcus aureus</i> após 14 dias da quimioterapia (T2) em relação aos parâmetros clínicos de pacientes portadores de leucemia	31
Tabela 6 Presença de <i>Staphylococcus aureus</i> após 14 dias da quimioterapia (T2) segundo os parâmetros hematológicos laboratoriais de pacientes portadores de leucemia	33
Tabela 7 Presença de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> antes (T1) e após 14 dias da quimioterapia (T2) em pacientes portadores de leucemia	33
Tabela 8 Detecção de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> antes da quimioterapia, conforme gênero e idade de pacientes portadores de leucemia	34
Tabela 9 Detecção de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em pacientes portadores de leucemia, 14 dias após quimioterapia (T2), conforme gênero e idade	34
Tabela 10 Detecção de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 14 dias após a quimioterapia (T2) segundo parâmetros hematológicos laboratoriais de pacientes portadores de leucemia	35
Tabela 11 Detecção de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em pacientes portadores de leucemia, 14 dias após a quimioterapia (T2), de acordo com parâmetros clínicos	35
Tabela 12. Grau de mucosite em pacientes portadores de leucemia, em relação ao bochecho de clorexidina	45
Tabela 13. Grau de mucosite em pacientes portadores de leucemia, conforme bactéria detectada e presença de placa	45
Tabela 14. Presença de placa bacteriana em pacientes portadores de leucemia, antes (T1) e após 14 dias da quimioterapia (T2)	46
Tabela 15. Presença de cárie em pacientes portadores de leucemia, antes (T1) e após 14 dias de quimioterapia (T2)	47
Tabela 16. Prevalência de gengivite em pacientes portadores de leucemia, antes (T1) e após 14 dias de quimioterapia (T2)	47
Tabela 17. Prevalência de periodontite em pacientes portadores de leucemia, antes (T1) e após 14 dias de quimioterapia (T2)	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Distribuição de pacientes portadores de leucemia, segundo gênero	27
Gráfico 2 Distribuição de pacientes portadores de leucemia, segundo idade	28
Gráfico 3 Distribuição de pacientes portadores de leucemia, segundo a frequência de mucosite	28

LISTA DE ABREVIATURAS

HEMOAM: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

UEA: Universidade do Estado do Amazonas

OMS: Organização Mundial da Saúde

LLA: leucemia linfoblástica aguda

PCR: reação em cadeia da polimerase

DNA: ácido desoxirribonucleico

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

Mg⁺²: magnésio

mM : milímetro

dNTP: desoxirribonucleotídeo trifosfatado

Taq: *Thermus aquaticus*

μM : micrômetro

ng: nanograma

UV: ultravioleta

TE: tris-EDTA

TEB: tris-borato-EDTA

GBTLI: Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia Infantil

ALL-BFM: Grupo Europeu Berlim-Frankfurt-Munique

MTX: metotrexato.

SNC: sistema nervoso central

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

RRC: remissão clínica completa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	26
• 2.1 GERAL	26
• 2.2 ESPECÍFICOS	26
3. MATERIAL E MÉTODO	27
• 3.1 Modelo do Estudo	27
• 3.2 População de Referência	Erro! Indicador não definido.
• 3.3 População de Estudo	27
• 3.4 Critérios de Inclusão	Erro! Indicador não definido.
• 3.5 Critérios de Exclusão	27
• 3.6 Participantes	27
• 3.7 Coleta de amostras salivares	27
• 3.8 Local da Pesquisa	28
• 3.9 Termo de Informação e Consentimento para Participação em Pesquisa	28
4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	28
5. FASE LABORATORIAL	28
5.1 Reativação de microorganismo padrão:	28
5.2 Extração de DNA e quantificação:	29
5.3 PCR para detecção de <i>Staphylococcus aureus</i> :	29
5.4 PCR para detecção de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> :	29
5.5 Eletroforese e foto documentação:	30
6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
7. RESULTADOS	31
8. DISCUSSÃO	44
9. CONCLUSÃO	49
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
11. ANEXOS	53
11.1 QUESTIONÁRIO	54
11.2 Características gerais dos pacientes atendidos no HEMOAM	55
11.3 Características clínicas dos pacientes entrevistados no HEMOAM	56
Continuação das características clínicas dos pacientes	58
11.4 Características clínicas em relação a saúde bucal antes da quimioterapia (tempo 1) dos pacientes internados no HEMOAM.	59
11.5 Características hematológicas dos pacientes leucêmicos internados no HEMOAM em tratamento quimioterápico	62
11.6 Características microbiológicas dos pacientes internados no HEMOAM antes (T1) e após (T2) a quimioterapia	64
11.7 Resultados da pcr convencional para as bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> (tempo 1)	66
11.8 Resultados da pcr convencional para as bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> (tempo 2)	76
11.9 Resultados da pcr convencional para as bactérias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (tempo 1)	82
11.10 Resultados da pcr convencional para as bactérias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (tempo 2)	92
11.11 PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	103

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença que acomete milhares de pessoas no mundo e independe de idade, gênero e raça¹. É uma realidade em nossa sociedade, sendo considerada a segunda maior causa de mortalidade no Brasil e responsável por 13% de todas as mortes no mundo². A neoplasia é caracterizada pelo crescimento anormal de tecido, cujo desenvolvimento é independente e excede àquele observado no tecido normal, persistindo mesmo quando interrompida a causa que o provocou. Essa massa tecidual deformará, comprimirá ou destruirá o órgão em que se originou, e parte da mesma pode-se difundir pelos interstícios dos demais órgãos, ganhando a circulação e sendo transportada a outros locais através de vasos sanguíneos e linfáticos³.

Existem critérios para a classificação das neoplasias em benignas ou malignas, como o grau de diferenciação celular, velocidade de crescimento, invasão local e metástase. A diferenciação refere-se à semelhança das células neoplásicas em relação à célula de origem, em nível morfológico e funcional: as células neoplásicas podem apresentar-se bem diferenciadas, moderadamente diferenciadas ou indiferenciadas (anaplasia). Geralmente, a velocidade de crescimento de uma neoplasia está relacionada ao grau de diferenciação celular. De forma geral, quanto mais rapidamente a neoplasia crescer, mais indiferenciadas serão suas células e, conseqüentemente, menor será a capacidade funcional das células constituintes⁵⁹.

No Brasil, o câncer é a terceira causa de mortes, atrás apenas das doenças cardiovasculares e das causas externas (morte por violência, acidente de trânsito, etc.). Nos últimos dez anos, 17 mil pessoas morreram de câncer no Amazonas, segundo o Atlas de Mortalidade por Câncer, 2015. Das mais de 17 mil mortes registradas no estado, a região metropolitana de Manaus (RMM), com 68,34 mortes por 100 mil homens, apresentou a maior taxa bruta de câncer na última década². A etiologia do câncer é diversa e, geralmente, os fatores de risco envolvidos estão relacionados aos efeitos do desenvolvimento industrial e ao aumento da expectativa de vida².

As neoplasias malignas mais frequentes na infância são as leucemias. A leucemia é uma patologia classificada pela produção excessiva e progressiva de leucócitos na medula óssea, que passam a circular no sangue na sua forma imatura^{4,5,6}. A proliferação difundida dos blastos leva a uma substituição dos elementos normais da medula, causando um acúmulo de células imaturas no sangue. A etiologia da leucemia ainda é considerada incerta, mas muitas pesquisas apontam para fatores causais como infecção viral, exposição química e exposição à radiação^{6,7}. Existem subtipos diferentes de linfócitos e, portanto, tipos diferentes de leucemia, que são classificadas

de acordo com a célula envolvida, a duração e o caráter da doença^{1,8}. Sua classificação é feita pela combinação da classificação da linhagem dessas células: linfóide ou mielóide, e da evolução da doença: aguda ou crônica⁶⁰. O diagnóstico é feito através de achados laboratoriais encontrados em exame de sangue periférico e em aspirado da medula óssea, juntamente com as manifestações clínicas observadas e os dados de anamnese^{59,60,61}.

As formas agudas da leucemia resultam do acúmulo de células imaturas e sem função na medula óssea, apresentando progressão rápida. Essa proliferação excessiva de células substitui a medula óssea normal e, como consequência, faz com que haja redução na produção normal de hemácias, leucócitos e plaquetas, o que acarreta em manifestações como anemia, infecções e sangramento. As células leucêmicas saem da medula óssea para a corrente sanguínea e invadem órgãos (como linfonodos e baço), impedindo sua função normal. A forma aguda da doença é rapidamente fatal em pacientes portadores não tratados^{59,60,61}.

As leucemias crônicas, por sua vez, têm início lento, permitindo a produção de células mais maduras e diferenciadas, ou seja, com morfologia mais próxima à normal e que podem exercer algumas de suas funções. Pacientes portadores da forma crônica, mesmo não tratados, podem sobreviver vários anos com a doença; entretanto, o acúmulo de células leucêmicas resulta na diminuição da produção de células normais^{4,61}.

Desta forma, as leucemias são genericamente classificadas em: Linfocítica Aguda (LLA), Mielóide Aguda (LMA), Linfocítica Crônica (LLC), Mielóide Crônica (LMC)⁶¹.

Para que seja possível a compreensão da leucemia e de suas consequências, é importante rever o processo normal de formação e ação das células afetadas por essa doença. Todos os elementos sanguíneos originam-se a partir de uma célula indiferenciada comum, que se diferencia em linhagens particulares: eritróide, granulocítica, monocítica, linfocítica e megacariocítica⁶². Esse processo é denominado hematopoiese e, para que ocorra normalmente, é necessária a proliferação controlada e a diferenciação ordenada de células hematopoiéticas pluripotentes⁶¹.

Os eritrócitos (hemácias), conhecidos como as células vermelhas do sangue, são responsáveis pelo transporte dos gases respiratórios, ou seja, do oxigênio e do gás carbônico; os monócitos circulantes no sangue, quando passam para os tecidos, transformam-se em macrófagos, os quais exercem função de fagócitos, e diferenciam-se dos neutrófilos pela capacidade de sobreviver ao evento fagocítico; já os megacariócitos são responsáveis pela origem das plaquetas, as quais são envolvidas na coagulação sanguínea, formando um tampão oclusivo no caso de dano no endotélio de vasos⁶³.

Os leucócitos são células essenciais para a formação da resposta imune no organismo, além de serem responsáveis pela defesa primária contra infecções microbianas. Existem três tipos de leucócitos na circulação periférica: os granulócitos, os linfócitos e os monócitos^{61,62}.

Os granulócitos estão envolvidos no processo de inflamação e imunidade inata, e são compostos por neutrófilos (90%), eosinófilos e basófilos. Os neutrófilos, principais células na resposta inflamatória aguda, por meio da fagocitose e destruição enzimática, defendem o organismo contra agentes infecciosos. Reações inflamatórias alérgicas (hipersensibilidade imediata) são mediadas pelos basófilos e eosinófilos, e estes combatem, também, infecções parasitárias. Já os linfócitos, responsáveis pelas respostas imunes específicas, são divididos em linfócitos T, linfócitos B e células Natural Killer (NK). Os linfócitos T, envolvidos na regulação de todas as respostas imunes, são responsáveis pela resposta imune celular (tardia) e são células efetoras para a eliminação de micróbios intracelulares^{59,61,62}.

A resposta imune humoral é mediada pelos linfócitos B, os quais ativados transformam-se em plasmócitos para a produção de imunoglobulinas, sendo as únicas células do organismo capazes de produzir anticorpos. As células NK (natural killer) lisam células tumorais e infectadas por vírus. Os monócitos, por sua vez, são células que, ao emigrarem da corrente sanguínea para os tecidos, transformam-se em macrófagos, desempenhando funções como fagocitose e envolvimento na resposta imune adaptativa contra agentes nocivos^{59,61,62}.

Na leucemia, há a proliferação e diferenciação anormais das células sanguíneas, decorrentes de mutações em células precursoras hematopoiéticas da linhagem mielóide ou linfóide⁶¹. Qualquer tecido ou órgão irrigado e nutrido pela corrente sanguínea pode estar acometido pela leucemia (incluindo os tecidos bucais), em decorrência da infiltração de células neoplásicas pelo sangue⁴.

As manifestações clínicas da leucemia são caracterizadas pelo aparecimento de sinais e sintomas resultantes da insuficiência de hematopoiese normal, a infiltração de tecidos e órgãos por células malignas e pelas desordens metabólicas. Dentre os sinais e sintomas da doença observa-se: dor nos ossos ou no abdômen, anemia, hemorragias e infecções⁶. Outras alterações patológicas na boca também podem ocorrer devido ao tratamento antineoplásico⁶. As manifestações bucais mais comuns no curso da doença são: alterações gengivais; hemorragias; úlceras; e infecções; e as manifestações bucais mais comuns do tratamento antileucêmico em crianças são: mucosite; xerostomia; cárie dentária; infecções e alterações no desenvolvimento orofacial^{50,64}.

A leucemia linfocítica aguda (LLA) representa cerca de 80% das leucemias e ocorre, na maioria dos casos, em crianças⁴. A LLA consiste na produção exagerada e descontrolada de blastos do tipo linfóide, atrapalhando a produção normal de glóbulos vermelhos, brancos e plaquetas. A hipótese diagnóstica de LLA é feita através dos sinais e sintomas relatados pelo paciente. A confirmação é obtida pelo mielograma (análise morfológica da medula óssea) associado à imunofenotipagem. Importantes alterações podem ser encontradas por meio da citogenética, como o chamado cromossomo Filadélfia, o que resulta num pior prognóstico para o paciente⁶⁵. Os achados laboratoriais incluem elevado índice de linfoblastos em aproximadamente 50% dos casos, com níveis reduzidos de hemoglobina, hematócrito e plaquetas, o que reflete na substituição da medula óssea. Muitos pacientes apresentam hiperuricemia, hiperfosfatemia, hipocalcemia e aumento da desidrogenase láctica (DHL), em virtude da elevada taxa de destruição e renovação celulares⁶¹.

O tratamento da LLA varia de dois a três anos e os protocolos terapêuticos são constituídos basicamente de cinco fases: indução da remissão, intensificação-consolidação, reindução, prevenção da leucemia no sistema nervoso central e continuação ou manutenção da remissão⁹. O tratamento utilizado, no entanto, produz uma ampla gama de efeitos tóxicos prejudiciais ao paciente. O tratamento antineoplásico atua nas células em proliferação, que apresentam um elevado *turnover*; contudo, ele não distingue as células malignas das células normais do corpo e, conseqüentemente, da mucosa bucal^{12,13,14}. Variáveis relacionadas à terapia, como o tipo de droga, a dose e frequência do tratamento, juntamente com aquelas relacionadas ao paciente, como a idade, diagnóstico e o nível de higiene bucal antes e depois da terapia, afetam a frequência com que os pacientes submetidos à quimioterapia e/ ou a radioterapia exibem problemas bucais advindos diretamente do tratamento antineoplásico^{13,15,16}. Além disso, uma vez que a cavidade oral abriga um número altamente elevado de bactérias, ela se transforma em uma fonte importante de microorganismos oportunistas no hospedeiro mielosuprimido^{17, 18}.

A quimioterapia consiste no emprego de substâncias químicas, isoladas ou em combinação, com o objetivo de eliminar neoplasias malignas. A quimioterapia, diferente da cirurgia e da radioterapia, é uma forma de tratamento sistêmico, ou seja, que atua em todo o corpo. Os quimioterápicos são aplicados, na maioria das ocasiões, de forma endovenosa, podendo também ser administrados pelas vias oral, intramuscular, subcutânea, tópica e intratecal¹⁰. Os medicamentos se misturam com o sangue e são levados a todas as partes do corpo, destruindo as células doentes que estão formando o tumor e impedindo, também, que elas se espalhem pelo organismo. Como algumas células tumorais podem se desprender do tumor primário e migrar para outros órgãos (metástase), muitas vezes a quimioterapia passa a ser a

melhor forma de tratamento^{10,18,19}.

Estas drogas, que vêm colaborando para a eliminação e destruição das células neoplásicas, constituem-se em agentes alquilantes, antimetabólicos, esteróides, alcalóides vegetais, hormônios e análogos e agentes diversos^{15,20}. Distintos fatores, como volume tumoral total, cinética celular e sensibilidade intrínseca, influenciam a resposta do agente antineoplásico. É evidente que as drogas utilizadas no tratamento do câncer afetam tanto as células normais como as neoplásicas. No entanto, as diversificações existentes entre o crescimento das células malignas e das células normais, bem como pequenas alterações bioquímicas verificadas entre ambas, provavelmente se associam para produzir seus efeitos específicos^{14,19,25}.

Estabelecido o diagnóstico e determinado o protocolo de tratamento a ser utilizado, o paciente é incluído, de acordo com critérios específicos, em um grupo de risco de recaída da doença determinando assim a escolha do tratamento adequado. A estratificação em grupos de risco é determinada com base na idade do paciente, leucometria inicial, ausência ou presença de translocações genéticas e contagem de células leucêmicas no sangue periférico no D8 após o início da quimioterapia⁶⁶.

Diversos grupos internacionais de estudo de LLA deram pesos distintos a estes e outros fatores (acometimento do SNC, massa mediastinal, tamanho do fígado e do baço, etc.) de estratificação dos pacientes em diferentes grupos de risco tornando difícil a comparação dos resultados entre as terapias⁶⁷.

A divisão dos grupos de risco nos diferentes protocolos de tratamento da LLA é variável; por exemplo, no protocolo GBTLI 93, elaborado por brasileiros, os pacientes são divididos em grupos de risco básico verdadeiro, risco básico e alto risco enquanto que no protocolo do grupo europeu ALL-BFM 95 ocorre a estratificação em pacientes de baixo, médio e alto risco. O protocolo mais recente do grupo brasileiro de tratamento da LLA, o protocolo GBTLI 99, divide os pacientes em apenas dois grupos, ou seja, o de baixo e alto risco; por outro lado no último protocolo do grupo europeu ALL-BFM 02 os pacientes são distribuídos em risco básico, risco intermediário e alto risco⁶⁷.

A terapia antineoplásica da LLA baseada na quimioterapia e/ou radioterapia é determinada pelo protocolo de tratamento sendo, no Brasil, os protocolos do Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia Infantil (GTBLI) e do Grupo Europeu Berlim-Frankfurt-Munique (ALL- BFM) os mais freqüentemente utilizados⁶⁵.

A primeira fase do tratamento, a terapia de indução, tem por objetivo induzir uma remissão clínica completa (RCC) da doença em quatro semanas, isto é, restaurar a hematopoiese normal com desaparecimento de toda a sintomatologia clínica associada. Essa fase geralmente utiliza no mínimo três drogas, glicocorticoide, vincristina, asparaginase e/ou daunomicina. Com bom suporte antiinfecioso, hemoterápico e metabólico, a taxa de RCC esperada é de 96% a 99%. Após essa fase uma resposta clínica incompleta indica pior prognóstico, com altos riscos de falha terapêutica^{9,45,66}.

Consolidação ou intensificação constitui uma fase de tratamento intensivo, incluindo vários agentes quimioterápicos, aplicada logo após a obtenção da remissão da doença. O objetivo dessa fase consiste em evitar o surgimento de clones resistentes às drogas e é capaz de promover remissões mais prolongadas e maior porcentagem de cura. Crianças portadoras de LLA, com exceção daquelas com LLA derivadas de células B maduras, necessitam de tratamento prolongado, com duração total de dois a três anos, para evitar recidiva da doença^{9,44,45,66}. O tratamento pré-sintomático do SNC é um componente essencial dos regimes terapêuticos e consiste de aplicações intratecais periódicas de metotrexate/citarabina e dexametasona, durante todo o tratamento^{66,67}.

A fase de manutenção da quimioterapia, na maioria dos protocolos terapêuticos tem como base o uso diário da 6-mercaptopurina, acompanhada de doses semanais de metotrexate e pulsos adicionais de vincristina e prednisona^{66,67}. A quimioterapia combinada constitui o eixo principal no tratamento da LLA há mais de 25 anos e a utilização de diversas drogas citotóxicas tem aumentado o percentual de cura da criança portadora de LLA⁹.

Durante o tratamento da LLA alguns efeitos colaterais decorrentes da quimioterapia são esperados como, por exemplo, náuseas, vômitos, diarreia e mucosite gastrointestinal. Manifestações cutâneas como eritema, erupções maculopapilar, dermatite exfoliativa, alopecia, hiperpigmentação e fotosensibilidade bem como convulsões e neuropatias periféricas também podem ocorrer^{44,67}.

Na boca, as complicações incluem mucosite, infecções (bacteriana, viral e fúngica), hemorragia, xerostomia, complicações neurológicas e nutrição inadequada que resultam da ação direta e/ou indireta dos agentes quimioterápicos sobre a mucosa bucal, devido a mielossupressão induzida pela terapia^{25,27}. SONIS²⁷ enfatizou que a fonte de infecções documentada com mais frequência no paciente canceroso com agranulocitose é a cavidade oral.

As infecções bacterianas contribuem para a morbidade e mortalidade em pacientes mieloimunossuprimidos e esses pacientes apresentam comprometimento bucal em 25% a 50% das septicemias febris. A presença de mucosite bucal e dor pode prejudicar a habilidade do paciente em comer e engolir, causando significativos problemas nutricionais e aumentando a sensação de sofrimento e tristeza do paciente^{8,27}.

Entre as complicações bucais decorrentes do tratamento antineoplásico, a mucosite é a forma mais corriqueira, sendo resultado de estomatotoxicidade direta e ocorrendo especialmente na mucosa orofaríngea e gastrointestinal. A ocorrência de mucosite bucal varia de 40% a 60% em pacientes submetidos a protocolos quimioterápicos e/ou radioterápicos para tratamento de câncer. Clinicamente, a mucosite bucal é caracterizada, primeiramente, por uma área eritematosa na mucosa bucal podendo evoluir para uma ulceração, resultando em dor intensa, desconforto, disfagia e disgesia⁴⁴. As áreas mais atingidas são aquelas de mucosa bucal não queratinizada, como mucosa jugal, labial e superfície lateral e ventral da língua. Normalmente, as superfícies dorsal da língua e do palato duro não são envolvidas pela lesão. A manifestação clínica da mucosite bucal é notada entre cinco a sete dias após a administração da quimioterapia e pode variar na radioterapia. Por causa da microbiota bucal, a perda da integridade epitelial ocasionada pela mucosite, especialmente em pacientes mielossuprimidos, faz com que haja um acentuado aumento no risco de bacteremia e septicemia e, conseqüentemente, estas infecções podem causar morbidade e/ou óbito⁶⁷.

Para explicar a patogênese da mucosite bucal, sua ocorrência pode ser dividida em quatro fases, sendo cada fase interdependente, como consequência de uma série de atividades biológicas intercedidas por citocinas, pelo efeito direto de drogas quimioterápicas sobre o epitélio, pela microbiota bucal e pela condição da medula óssea do paciente²⁷. Em 2004, este modelo foi revisto por SONIS, S.T. e colaboradores, sendo incluída uma quinta fase neste processo patogênico, a saber: fase de iniciação, fase da reação primária à lesão, fase do sinal e amplificação, fase da ulceração e a fase da cicatrização²⁷.

A primeira fase, de iniciação², ocorre rapidamente após a administração da radioterapia ou quimioterapia, causando danos diretos ou não ao DNA. As quebras nas fileiras de DNA resultam em lesão celular direta das células basais do epitélio e, posteriormente, das células da submucosa. Simultaneamente, seria gerada uma espécie de oxigênio reativo (importante mediador do evento biológico) que desencadearia outros eventos. Embora, neste estágio, a mucosa pareça íntegra e normal, uma sequência de eventos já se iniciou na camada submucosa, terminando com a destruição da mucosa. Na segunda fase, da reação primária à lesão², os danos causados no DNA (diretamente, ou não) e a espécie de oxigênio reativo iniciam uma importante e complexa série de eventos, que resultam na ativação de vários mediadores e

citocinas, como o fator de necrose tumoral α (TNF- α), e as interleucinas IL-1 β e IL-6, resultando em lesão no tecido e morte das células da camada submucosa e, posteriormente, das células da camada basal do epitélio. Na fase de sinalização e amplificação², a terceira fase do processo, além dos efeitos diretos sobre as células da mucosa, as citocinas pró-inflamatórias exercem uma ação indireta na amplificação do dano tecidual iniciado pela radioterapia e/ou quimioterapia. Como consequência dessa fase, embora o tecido ainda possa parecer normal, pois o foco do evento está ocorrendo na submucosa e camada basal do epitélio, o tecido está alterado biologicamente. A fase de ulceração² consiste na fase mais sintomática e, talvez, a mais complexa, com áreas de erosão recobertas por uma pseudomembrana. Secundariamente, ocorre colonização bacteriana na lesão, provendo uma fonte de lipopolissacarídeos os quais estimulam a liberação de citocinas do tecido conjuntivo de sustentação ao redor das células, gerando um maior dano ao tecido. Na última fase, a de cicatrização²², ocorre a renovação da proliferação e diferenciação celular, resultando na cicatrização do tecido afetado e restabelecimento da microbiota local.

O paciente com mucosite oral apresenta importantes dificuldades nutricionais, o que incrementa, significadamente, a percepção de sofrimento e tristeza, bem como o tempo de hospitalização do mesmo. Adicionalmente, ocorre um aumento das despesas do tratamento que, neste caso, torna-se associado à terapia opióide, dieta líquida suplementar, nutrição parenteral, internação, profilaxia ou controle de infecções secundárias⁶⁷.

A relevância da prevenção e/ou tratamento das complicações orais, no contexto da LLA, deve-se à necessidade de garantir o bem-estar geral dos pacientes e, sobretudo evitar interrupções na execução do protocolo de tratamento, que possam comprometer desfavoravelmente a sobrevida dos mesmos²⁴. Nos últimos anos, várias substâncias químicas vêm sendo pesquisadas, com destaque para a clorexidina, a qual tem mostrado efetiva ação bactericida e fungicida. Ela pertence ao grupo químico das bis-biguanidas e apresenta propriedades fungicida e bactericida contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, constituindo-se, portanto, em um antisséptico de amplo espectro²⁴.

A apresentação química da clorexidina pode ser na forma de sais de acetato, gluconato e digluconato, sendo esta última a forma mais indicada, por ter maior solubilidade em água e apresentar segurança para uso a longo prazo. Comercialmente, esse antisséptico pode estar sob a forma de gel, pasta, spray e solução^{68,69}.

Para Mendes, Zenóbio e Pereira (1995), a concentração ideal para a solução de clorexidina é a de 0,12%, pois apresenta menos efeitos adversos que as soluções mais concentradas, além de ter comprovada eficácia contra os microrganismos. Quando usada

corretamente tem baixa toxicidade, sua ação é puramente tópica e não penetra através do epitélio. Caso seja ingerida liga-se à superfície mucosa do trato gastro-intestinal, sendo uma pequena parte absorvida e metabolizada no fígado e rins, e maior parte da dose ingerida é eliminada nas fezes.

A utilização da solução de clorexidina é sob a forma de bochechos, duas vezes ao dia, durante um minuto. Cada bochecho deve ser realizado 30 minutos após a escovação, devido à presença de íons cálcio livres nos dentífricos, os quais têm a propriedade de carrear a clorexidina aderida nas superfícies da cavidade oral. Adicionalmente, o monofluorfosfato de sódio e as substâncias detergentes presentes nos cremes dentais, têm a mesma propriedade supracitada e, portanto, todos interferem na retenção da clorexidina aos tecidos orais. Este antisséptico tem uma substantividade de aproximadamente 12 horas, sendo constantemente liberado pelos íons cálcio existentes na saliva⁶⁸.

As infecções bacterianas orais nos pacientes com neoplasias podem ser causadas por componentes da própria microbiota normal da cavidade oral, bem como por bactérias adquiridas do meio hospitalar³⁰. Na orofaringe, os processos inflamatórios promovem a perda da camada de fibronectina celular, beneficiando a aderência de bacilos Gram-negativos aeróbios nessa região³¹. Estes bacilos exercem seus efeitos através da liberação de endotoxinas no meio bucal e/ou na circulação sanguínea, causando, neste último caso, alterações hematológicas, imunológicas e no sistema endócrino^{14,,29}.

O principal fator pertinente à infecção em pacientes com câncer é a granulocitopenia e, nesse contexto, vale dizer que, quanto maior a rapidez com que a neutropenia se desenvolve, maior é o risco de infecção, tal como ocorre em pacientes com queda abrupta do número de granulócitos produzida pelo efeito da quimioterapia¹⁸. Em neutropênicos, 80% das infecções são causadas por microrganismos que colonizam o local a partir do qual as infecções se desenvolvem, sendo que aproximadamente 50% destas são causadas por germes que colonizam o paciente antes de sua internação no hospital^{17,32,33}. Os principais fatores responsáveis pelas modificações na microbiota normal são: o uso de antibióticos e o tipo e gravidade da doença base³⁴. Tanto a microbiota endógena, como fontes exógenas podem induzir infecções em pacientes oncológicos³⁵.

Devido ao desenvolvimento de novos métodos moleculares de detecção microbiana, como o sequenciamento de última geração, sabemos hoje que as técnicas de cultivo tradicionais não conseguem identificar todas as espécies microbianas nos biofilmes orais. Sugere-se que, na cavidade oral, pelo menos 50% das espécies não sejam passíveis de cultivo e, portanto, não caracterizadas até o momento³². Atualmente, é aceito que a saúde bucal seja

uma situação estável em termos ecológicos. Contudo, esta estabilidade pode estar perdida na doença devido a desequilíbrios na relação patógeno-hospedeiro¹⁸ e, nesse contexto, populações bacterianas específicas podem desempenhar papéis importantes na homeostase bucal¹⁷.

Estudos adicionais devem ser conduzidos para se elucidar o papel das bactérias na mucosite induzida pelo tratamento antineoplásico, dentre essas bactérias podemos citar *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, que podem colonizar as lesões ulcerativas presentes na mucosite, exacerbando sua gravidade. Em adultos saudáveis, o microrganismo que predomina na cavidade oral é *Streptococcus viridans*, mas a microbiota oral nos pacientes em estado de saúde crítico muda e passa a ser predominantemente de microrganismos Gram-negativos, constituindo-se em uma microbiota mais agressiva. Essa flora pode, também, abrigar *S. aureus* e *P. aeruginosa*⁴⁰.

Staphylococcus aureus é um coco Gram-positivo, aeróbio facultativo, não esporulado, que apresenta alta resistência a fatores físico-químicos comumente presentes no meio ambiente³⁶. É frequentemente encontrado na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. Entretanto, pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras), devido à presença de fatores de virulência ou através de resistência aos antimicrobianos atualmente utilizados³⁶.

S. aureus contém, na estrutura de sua parede celular, polissacarídeos e proteínas antigênicas, bem como outras moléculas importantes, ácido teicóico, o glicanopeptídeo, a proteína A, além da presença de cápsula e de adesinas⁷⁰. O alto potencial infeccioso de *S. aureus* não está restrito apenas à sua facilidade de multiplicação e disseminação nos tecidos, mas também à produção de diversos fatores de virulência, que incluem enzimas e toxinas. As betalactamases, coagulases, hialuronidases e catalases são algumas das enzimas produzidas para esse fim. Além dessas enzimas, o *S. aureus* também produz DNases, lipases, proteases e esterases. Entre as toxinas produzidas por esse patógeno destacam-se as seguintes: alfa, beta e gama toxinas, a leucocidina, a esfoliatina, a toxina do choque tóxico e as enterotoxinas⁷⁰. Pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção de pele (espinhas, furúnculos e celulites) a infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras)⁷¹.

Classicamente, a análise do mecanismo de invasão de *S. aureus* revela que, no primeiro momento, essa bactéria adere à pele ou à mucosa para, em seguida, romper as barreiras do epitélio, comprometendo estruturas de ligações intercelulares, como desmossomos e junções de aderência. Após a invasão do epitélio, *S. aureus* utiliza diversas estratégias para permitir a

sua sobrevivência e proliferação no organismo hospedeiro. Essas estratégias estão relacionadas com a opsonização do complemento, a neutralização da fagocitose e a inibição das respostas imunes humoral e celular⁷¹.

A capacidade de colonização e a patogenicidade de *S. aureus* são, portanto, uma consequência de seus fatores de virulência, os quais têm papel relevante na adesão celular, na captação de nutrientes e na sua evasão da resposta imunológica do hospedeiro. Esses fatores de virulência podem ser classificados, basicamente, nas três seguintes categorias: a) fatores relacionados com a aderência às células do hospedeiro ou à matriz extracelular, como a produção de moléculas de fibrinogênio, fibronectina, colágeno ou da enzima coagulase; b) fatores relacionados com a evasão da defesa do hospedeiro, como diversas enterotoxinas estafilocócicas, a toxina da síndrome do choque tóxico (TSST), a proteína A, lipases e polissacarídeos capsulares; e c) fatores relacionados com a invasão na célula do hospedeiro e a penetração nos tecidos ou adesão de superfícies de cateteres e próteses, os quais incluem outras toxinas⁷².

Pseudomonas aeruginosa (*Pseudomonas pyocyanea*) é uma bactéria Gram-negativa, aeróbia, baciliforme. Seu ambiente de origem é o solo, mas sendo capaz de viver mesmo em ambientes hostis, sua ocorrência é comum em outros ambientes^{36,37}. É um patógeno oportunista, ou seja, que raramente causa doenças frente a um sistema imunológico saudável, mas que explora eventuais fraquezas do organismo para estabelecer um quadro de infecção. Essa característica, associada à sua resistência natural a um grande número de antibióticos e antissépticos, a torna uma importante causa de infecções hospitalares^{36,37}.

O gênero *Pseudomonas* constitui a família denominada Pseudomonadaceae. Os membros desta família caracterizam-se como bacilos Gram-negativos retos ou ligeiramente curvos, aeróbios estritos, a maioria das cepas apresenta motilidade por meio de um ou mais flagelos polares, utiliza glicose e outros carboidratos oxidativamente e em geral são citocromo oxidase positivos⁷³ é um agente patogênico oportunista que pode causar doenças como: infecções do trato urinário, do sistema respiratório, da pele e dos tecidos moles, oftalmológicas, ósseas e articulares e outras infecções sistêmicas. Uma característica da espécie é a capacidade de produzir um pigmento azul-esverdeado (piocianina), o que o denomina de bacilo piociânico, encontrado em pacientes com queimaduras ou fibrose cística⁷³.

Atualmente, esta bactéria é responsável por aproximadamente quinze por cento dos casos (15%) de bacteremia causada por germes Gram-negativos. A mortalidade nestes casos chega a ser de cinquenta por cento (50%), sendo que o diagnóstico da infecção é feita pela cultura do material proveniente do processo infeccioso⁷³. Esta espécie é naturalmente resistente a vários tipos de antibióticos devido a uma barreira de permeabilidade oferecida por

sua membrana exterior, a qual abriga o lipopolissacarídeo – L.P.S. Quando as bactérias Gram-negativas invadem a corrente sanguínea, o lipopolissacarídeo desencadeia uma série de sinais e sintomas, como febre alta e queda da pressão arterial. Diferentes cepas de *P. aeruginosa* possuem grande facilidade para trocar material genético entre si e até mesmo entre espécies distintas. A resistência a antimicrobianos pode ser adquirida quando as células sofrem alteração genética por mutação, ou quando adquirem genes de resistência exógenos⁷⁴. *P. aeruginosa* produz uma série de substâncias que participam da patogênese da infecção. Dentre elas, a toxina A é a mais tóxica, tendo mecanismo de ação idêntico ao da toxina diftérica, bloqueando a síntese proteica e inibindo o fator de alongamento EF-2. A bactéria é resistente à ação bactericida do soro, mas é sensível a fagocitose em presença de opsoninas (proteínas que se ligam a partículas antigênicas, facilitando a fagocitose), sendo que cepas não produtoras de toxina A são menos virulentas. Com relação ao desenvolvimento de drogas de maior poder bactericida, suas características naturais de resistência a mantêm em papel de destaque, acarretando em dificuldades terapêuticas⁷⁴.

A Reação em Cadeia de Polimerase (PCR, do inglês Polymerase Chain Reaction), é uma metodologia que pode ser executada inteiramente *in vitro* e dispensa o uso de células. A técnica da PCR foi desenvolvida nos anos 80 por Kary Mullis, recebedor do prêmio Nobel de 1993^{38,39}. A PCR baseia-se na amplificação específica de segmentos do DNA alvo, normalmente associada à eletroforese para detecção do DNA amplificado com um corante capaz de se intercalar ao DNA e fluorescer sob exposição à luz ultravioleta³⁹. A técnica possibilita a síntese de fragmentos de DNA, usando a enzima DNA-polimerase, a mesma que participa da replicação do material genético nas células³⁹. Esta enzima sintetiza uma sequência complementar de DNA, desde que um pequeno fragmento (o primer) já esteja ligado a uma das cadeias do DNA no ponto escolhido para o início da síntese. Os iniciadores definem a sequência a ser replicada e o resultado obtido é a amplificação de uma determinada sequência DNA³⁹.

Diante do exposto, este estudo propõe detectar, por meio da técnica de PCR convencional, as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e determinar sua associação à mucosite oral, em pacientes submetidos ao tratamento antineoplásico.

2. OBJETIVOS

- **2.1 GERAL**

Detectar a possível associação entre as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e a presença de mucosite oral em pacientes em tratamento antineoplásico, utilizando-se a técnica de PCR.

- **2.2 ESPECÍFICOS**

- Detectar a presença de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em pacientes antes do tratamento antineoplásico por PCR (tempo 1);
- Detectar a presença de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em pacientes com tratamento antineoplásico por PCR, no décimo quarto dia de tratamento (tempo 2);
- Determinar a correlação entre a presença das bactérias avaliadas e o desenvolvimento da mucosite, nos diferentes tempos de tratamento.
- Determinar a correlação entre a presença das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e os parâmetros clínicos apresentados pelos pacientes, quatorze dias (tempo 2) após o tratamento quimioterápico.
- Determinar a correlação entre a presença das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e os fatores sanguíneos dos pacientes, quatorze dias (tempo 2) após o tratamento quimioterápico.

3. MATERIAL E MÉTODO

- **3.1 Modelo do Estudo**

O presente estudo tem caráter epidemiológico, descritivo, do tipo inquérito.

- **3.2 População de Estudo**

Indivíduos com diagnóstico de Leucemia Linfocítica Aguda, atendidos na Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas no período de Setembro de 2015 a Novembro de 2016, de qualquer idade e sexo.

- **3.3 Critérios de Exclusão**

Foram excluídos dessa pesquisa aqueles pacientes que foram submetidos a antibioticoterapia nos três meses prévios ao início da coleta das amostras e/ou patologias associadas (diabetes).

- **3.4 Coleta de amostras salivares**

Os pacientes foram atendidos na enfermaria do hospital HEMOAM e informados para não beber, fumar, mascar chicletes, comer ou limpar suas bocas 30 minutos antes da coleta de saliva. Eles foram ainda instruídos para não engolir a saliva durante o período de coleta. A saliva foi coletada usando-se um swab estéril, que era esfregado durante aproximadamente 1 minuto no palato duro, soalho de boca, fundo de sulco vestibular, mucosa jugal e nas possíveis lesões. Em seguida, foi colocado o swab no interior de um microtubo estéril contendo tampão de conservação de DNA (TE) e agitado levemente. Na sequência, o cabo do swab foi cortado com tesoura e feito o fechamento do tubo colocando-o em uma estante, dentro de uma caixa de isopor com gelo para transporte.

O material coletado era potencialmente infeccioso e, portanto, foi manuseado de acordo com as práticas de biossegurança adequadas, transportado em conformidade com os regulamentos pertinentes ao transporte de materiais biológicos, utilizando-se uma caixa com tampa de material não poroso, resistente à descontaminação, identificada com o símbolo de risco biológico para o transporte das amostras.

A coleta de saliva foi realizada no início do tratamento (fase 1) e 14 dias após a terapia

(fase 2). Durante estas coletas, a presença e a gravidade da mucosite em pacientes foram avaliadas de acordo com critérios da Escala de graduação da Mucosite proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS- 1979).

- **3.5 Local da Pesquisa**

O atendimento aos pacientes e a coleta das amostras foram realizados na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas – HEMOAM e o processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade do Estado do Amazonas – UEA.

- **3.6 Termo de Informação e Consentimento para Participação em Pesquisa**

O estudo foi conduzido de acordo com os preceitos determinados pela resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, publicada em 10 de outubro de 1996. Cada voluntário recebeu um termo de informação e consentimento e, somente após a anuência do voluntário, por meio da assinatura do termo, foi considerado participante da pesquisa.

4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Por se tratar de um estudo onde houve envolvimento de seres humanos, foi necessário a submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com o número do CAEE 1.115.925 e a elaboração do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O estudo foi conduzido de acordo com os preceitos determinados pela resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, publicada em 10 de outubro de 1996. Cada voluntário recebeu um termo de informação e consentimento e, somente após a anuência do voluntário e/ou responsáveis, por meio da assinatura do termo, foi considerado participante da pesquisa.

5. FASE LABORATORIAL

5.1 Reativação de microorganismo padrão:

Foram obtidos, da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), os microorganismos padrões *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* liofilizados. As bactérias foram reativadas em meio TSA com Ágar a 37⁰ C em estufa incubadora BOD para verificar a pureza das

bactérias. Após a confirmação da pureza das bactérias, foi realizado o cultivo em caldo TSA a 37°C, a 150 rpm por 24 horas para facilitar o processo de extração de DNA dessas bactérias.

5.2 Extração de DNA e quantificação:

Para se garantir a extração de DNA genômico de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas das amostras salivares, foi utilizado o Kit PureLink® Genomic DNA Mini, associado às enzimas lisozima e proteinase K. Após o processo de extração, o DNA foi quantificado em fluorímetro (Qubit 3.0, Invitrogen).

5.3 PCR para detecção de *Staphylococcus aureus*:

Para a detecção de *S. aureus*, utilizou-se o conjunto de primers NUC (Forward 5'–GCGATTGATGGTGATACGGTT–3'; Reverse 5'–AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC–3'), desenvolvido por BRAKSTAD, et al., 1992. O alvo desse conjunto de primers corresponde ao gene da enzima nuclease A, cujo produto amplificado tem tamanho esperado de 447 pb. Durante o preparo da PCR, utilizou-se um volume final de 20 µL contendo os seguintes reagentes: PCR buffer (1x), MgCl₂ (1,5 mM), dNTPs Mix (0,2 mM), cada primer (0,2 µM), enzima Platinum® Taq DNA Polymerase [Invitrogen] (1,0 U), 5 ng de amostra. A reação ocorreu em termociclador Veriti® (Applied Biosystems, EUA) usando Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen) nas seguintes condições: 1 ciclo a 94°C por 2 minutos (desnaturação inicial); 25 ciclos compostos de 94 °C por 1 minuto (desnaturação), 55 °C por 30 segundos (anelamento), 72 °C por 30 segundos (extensão); 1 ciclo a 72 °C por 2 minuto (extensão final) seguido de 4 °C (armazenamento)

5.45 PCR para detecção de *Pseudomonas aeruginosa*:

Para a detecção de *P. aeruginosa*, utilizou-se o conjunto de primers PAL (Forward 5'–ATGGAAATGCTGAAATTCGGC–3'; Reverse 5'–CTTCTTCAGCTCGACGCGACG–3') desenvolvido por DE VOS, D. et al., 1997. O alvo desse conjunto de primers corresponde ao gene de uma proteína de membrana externa, cujo produto amplificado possui tamanho esperado de 504 pb. Durante o preparo da PCR utilizou-se um volume final de 20 µL contendo os seguintes reagentes: PCR buffer (1x), MgCl₂ (2,0 mM), dNTPs Mix (0,2 mM), cada primer (0,2 µM), enzima Platinum® Taq DNA Polymerase [Invitrogen] (1,0 U), 5 ng de amostra. A reação ocorreu em termociclador Veriti® (Applied Biosystems, EUA) usando Platinum® Taq DNA

Polymerase (Invitrogen) nas seguintes condições: 1 ciclo a 94°C por 2 minutos (desnaturação inicial); 25 ciclos compostos de 94 °C por 1 minuto (desnaturação), 60 °C por 40 segundos (anelamento), 72 °C por 30 segundos (extensão); 1 ciclo a 72 °C por 2 minuto (extensão final) seguido de 4 °C (armazenamento).

5.5 Eletroforese e foto documentação:

Os amplicons gerados durante a PCR, no volume de 3 µL, foram analisados por eletroforese em gel de Agarose (1,5%) em tampão TEB 1X (EDTA 0,002 M, TRIS 0,089 M, ácido Bórico 0,089 M) utilizando como corante o Gelred (biotium) e como marcador molecular 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen). A corrida teve uma duração total de 1 hora a 80V. O gel foi visualizado e fotografado em transluminador L-PIX (Loccus Biotecnologia).

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados por meio de gráficos e tabelas, onde se calculou as frequências absolutas simples e relativas para os dados categóricos. Na análise dos dados quantitativos, quando aceita a hipótese de normalidade por meio do teste de *Shapiro-Wilk*, foi calculada a média, o desvio-padrão (Dp) e aplicado o teste paramétrico *t de Student*. Já na rejeição da hipótese de normalidade foi calculada a mediana, os quartis (Qi) e aplicado o teste não paramétrico de *Mann-Whitney*. Na comparação das variáveis categóricas foi aplicado o teste do qui-quadrado com correção de *Yates*, sendo que na impossibilidade de aplicar o teste de *Yates* foi calculado o teste exato de *Fisher*. No caso dos resultados dos testes para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* antes e depois da quimioterapia, foi aplicado o teste de *McNemar*. No cálculo da frequência de mucosite ainda foi calculado o intervalo de confiança ao nível de 95% (IC95%)^{41,42}.

O software utilizado na análise dos dados foi o programa Epi Info versão 7.2 para *windows* que é desenvolvido e distribuído gratuitamente pelo Centro de Prevenção e Controle de Doenças Norte-Americano – CDC (www.cdc.gov/epiinfo) e o nível de significância fixado na aplicação dos testes estatísticos foi de 5%.

7. RESULTADOS

Foram avaliados 46 pacientes com diagnóstico de leucemia linfocítica aguda (LLA) tratados no HEMOAM, no período de setembro de 2015 a Novembro de 2016. A análise dos dados mostrou a ocorrência de 41,3% pacientes do gênero feminino e 58,7% do gênero masculino (gráfico 1).

A idade mínima observada foi de dois anos e, a máxima, de 59 anos, sendo que a maioria dos pacientes repousou entre 4 e 7 anos, de acordo com o cálculo da mediana, sendo que a maior quantidade (30%) foi representada por menores de cinco anos (gráfico 2).

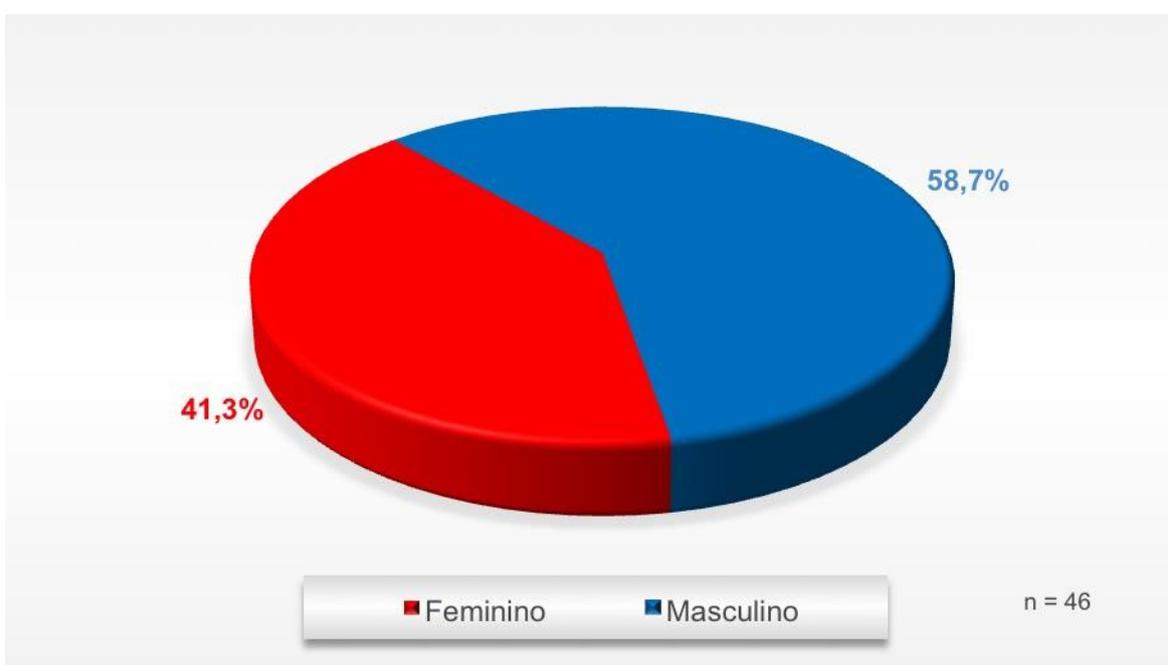


Gráfico 1. Distribuição segundo o gênero dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM.

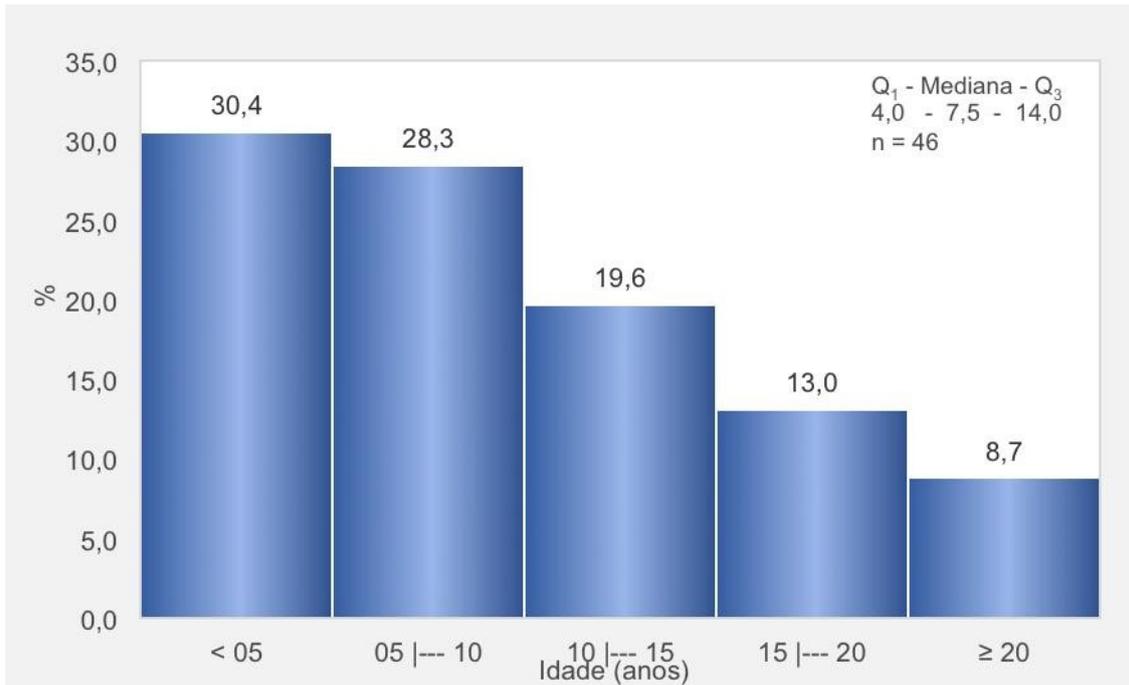


Gráfico 2 Distribuição segundo a idade dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM.

Analisando o gráfico 3 podemos constatar que, dos 46 pacientes com leucemia linfocítica aguda que iniciaram o tratamento quimioterápico no HEMOAM, 41,3% desenvolveram algum grau de mucosite oral.

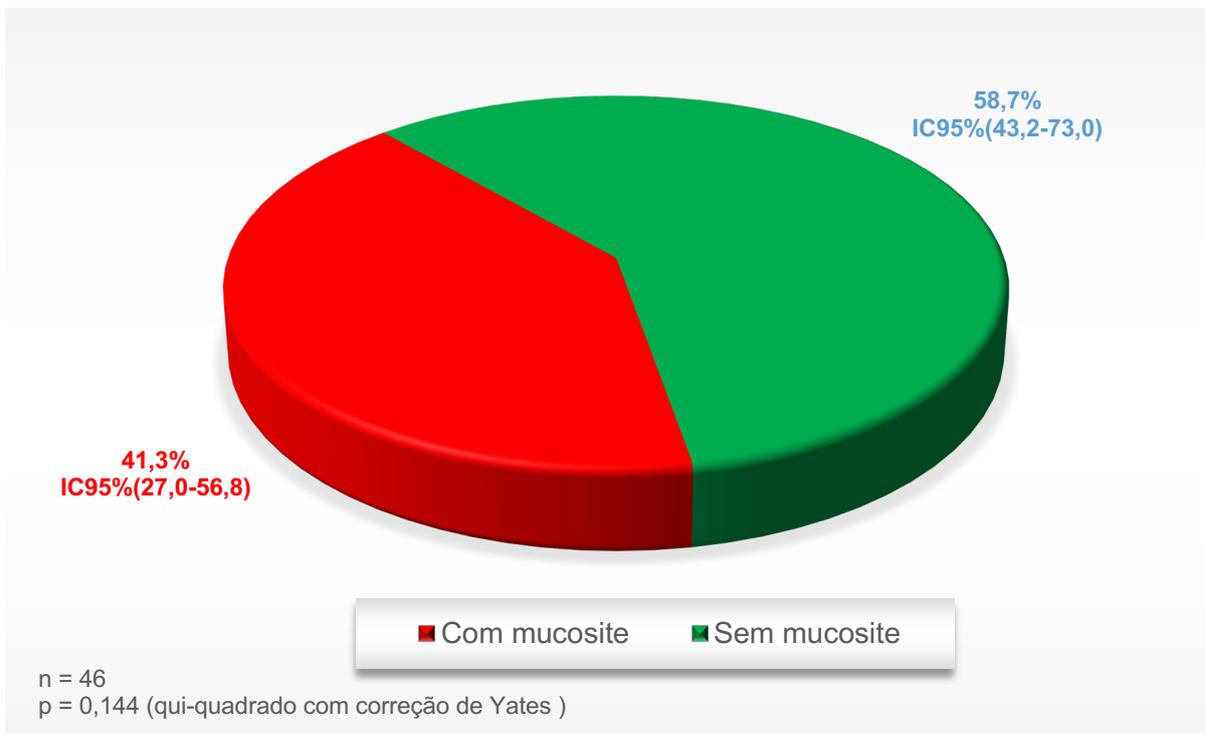


Gráfico 3. Distribuição segundo a frequência de mucosite nos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM.

Tabela 1 Distribuição segundo a frequência da escolaridade, renda familiar e naturalidade dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM.

Variáveis (n = 46)	f_i	%
Escolaridade		
Não alfabetizado	18	39,1
Ensino Fundamental incompleto	18	39,1
Ensino Fundamental completo	4	8,7
Ensino médio incompleto	4	8,7
Ensino médio completo	1	2,2
Superior	1	2,2
Renda familiar		
Menos de um salário mínimo	25	54,3
De um a cinco salários mínimos	20	43,5
Mais de cinco salários mínimos	1	2,2
Naturalidade		
Manaus	29	63,0
Interior do Estado do Amazonas	12	26,1
Outro Estado	5	10,9

f_i = frequência absoluta simples.

Em relação a escolaridade, 39,1% dos pacientes eram não alfabetizados e 39,1% tinham ensino fundamental incompleto. Isso é parcialmente explicado levando-se em consideração a faixa etária dos pacientes, predominante representada por indivíduos menores de cinco anos. 54,3 % dos pacientes sobreviviam com menos de um salário mínimo e 63% eram naturais de Manaus (Tabela 1).

Tabela 2 Comparação do resultado para *Staphylococcus aureus* antes (T1) e depois (T2) em pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM na cidade de Manaus-AM.

<i>Staphylococcus aureus</i> T1	<i>Staphylococcus aureus</i> T2				Total	
	Positivo		Negativo			
	f_i	%	f_i	%	f_i	%
Positivo	8	17,4	3	6,5	11	23,9
Negativo	12	26,1	23	50,0	35	76,1
Total	20	43,5	26	56,5	46	100,0

$p = 0,035$ (Teste de McNemar); f_i = frequência absoluta simples; percentuais em relação ao total da amostra. Valor de p indica diferença estatística entre as proporções ao nível de 5% de significância.

De acordo com a Tabela 2, a detecção de *Staphylococcus aureus* na coleta de tempo 1 (antes da quimioterapia) foi negativa em 76,1% dos pacientes. Após a realização da quimioterapia, exatamente 14 dias depois, foi realizada uma nova coleta de saliva dos pacientes leucêmicos, sendo possível observar que 43,5% dos pacientes apresentaram *Staphylococcus aureus* na cavidade oral. Não foi observada diferença estatística em um nível de significância de 5%, quanto à presença da bactéria *Staphylococcus aureus* em função de gênero e idade, tanto no tempo 1, quanto no tempo 2 de coleta salivar (tabela 3 e 4).

Tabela 3 Presença de *Staphylococcus aureus* antes (T1) da quimioterapia, em relação a gênero e idade.

Variáveis	<i>Staphylococcus aureus</i> T1				Total	P
	Positivo		Negativo			
	f_i	%	f_i	%		
Gênero						0,998*
Feminino	4	21,0	15	79,0	19	
Masculino	7	25,9	20	74,1	27	
Idade						
Mediana	9,0		7,0			0,486**

f_i = frequência absoluta simples; * Teste exato de Fisher; ** Teste de Mann-Whitney.

Tabela 4 Detecção de *Staphylococcus aureus* (T2) da quimioterapia em relação ao gênero e idade, Manaus-AM.

Variáveis	<i>Staphylococcus aureus</i> T2				Total	P
	Positivo		Negativo			
	f _i	%	f _i	%		
Gênero						0,998*
Feminino	4	21,0	15	79,0	19	
Masculino	16	59,3	11	40,7	27	
Idade						
Mediana	10,0		6,5			0,296**

f_i = frequência absoluta simples; * Teste exato de Fisher; ** Teste de Mann-Whitney.

Tabela 5 Presença para *Staphylococcus aureus* depois de 14 dias da quimioterapia (T2) em relação aos parâmetros clínicos dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM.

Variáveis	<i>Staphylococcus aureus</i> T2				Total	P
	Positivo		Negativo			
	f _i	%	f _i	%		
Sinais e sintomas						
Dor	4	80,0	1	20,0	5	0,151*
Febre	11	68,8	5	31,2	16	0,027**
Sangramento da gengiva	3	100,0	-	-	3	0,075*
Náusea	9	75,0	3	25,0	12	0,026**
Mucosite						<0,001**
Sim	15	79,0	4	21,0	19	
Não	5	18,5	22	81,5	27	
Grau (n = 19)						0,245*
1	8	66,7	4	33,3	12	
2, 3 e 4	7	100,0	-	-	7	
Tratamento (n = 19)						0,998*
Bochecho de clorexidina	13	76,5	4	23,5	17	
Laser	2	100,0	-	-	2	
Dieta						<0,001**
Livre	5	18,5	22	81,5	27	
Pastosa ou líquida	15	89,0	4	21,0	19	
Intervenção odonto prévia						0,002**
Sim	18	60,0	12	40,0	30	

Não	2	12,5	14	87,5	16	
Dentista nos últimos 6 meses						0,704
Sim	5	35,7	9	64,3	14	
Não	15	46,9	17	53,1	32	
Cárie						0,766**
Sim	11	47,8	12	52,2	23	
Não	9	39,1	14	60,9	23	
Gengivite						0,494**
Sim	9	52,9	8	47,1	17	
Não	11	37,9	18	62,1	29	
Periodontite						0,999*
Sim	1	50,0	1	50,0	2	
Não	19	43,2	25	56,8	44	
Placa bacteriana						0,766**
Sim	11	47,8	12	52,2	23	
Não	9	39,1	14	60,9	23	

f_i = frequência absoluta simples; * Teste exato de *Fisher*; ** Qui-quadrado com correção de *Yates*. Valor de p em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5% de significância.

Na análise da tabela 5, podemos observar que, dos pacientes entrevistados, 16 apresentaram febre como principal sinal clínico após a quimioterapia, sendo que 68,8% destes possuíam *Staphylococcus aureus* na cavidade oral. Similarmente, 12 pacientes relataram episódios de náusea, dos quais 75% foram continham *Staphylococcus aureus* em níveis detectáveis.

Em relação à mucosite, 19 pacientes desenvolveram algum grau da doença, sendo que 79% apresentaram *Staphylococcus aureus* e 66,7% foram classificados em grau 1 de severidade da lesão. Após identificada a lesão, foi receitado bochecho de clorexidina como tratamento. Com respeito à nutrição dos indivíduos com mucosite, dos 19 casos apresentados, 89% deles passaram a se alimentar de forma pastosa e/ou líquida após o início do tratamento.

Em relação aos pacientes que realizaram alguma intervenção odontológica prévia (sendo exodontia a mais relatada), dos 30 que foram submetidos a esse procedimento, 60% continham *Staphylococcus aureus* em níveis detectáveis, apresentando resultado estatisticamente significativo ($p < 0,002$).

Em relação a saúde bucal dos pacientes entrevistados e a presença de *S. aureus*, 32 pacientes não haviam visitado o dentista nos últimos 6 meses. Dos 23 que tinham diagnóstico positivo de cárie, 47,8% apresentavam a bactéria *Staphylococcus aureus* na cavidade oral. Ademais, *S. aureus* foi detectado em 52,9% dos 17 indivíduos portadores de gengivite, e em 47,8% dos 23 indivíduos com placa bacteriana, .

Tabela 6 Comparação do resultado para *Staphylococcus aureus* depois de 14 dias da quimioterapia (T2) segundo os parâmetros hematológicos laboratoriais dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM.

Exames	<i>Staphylococcus aureus</i> T2				P
	Positivo		Negativo		
	Média	Dp	Média	Dp	
Hemoglobina	7,99	2,54	8,68	1,69	0,275*
Plaquetas	89.049	46.877	97.731	39.895	0,501*
	Mediana		Mediana		
Leucócitos	12.950		10.869		0,706**
Neutrófilo	3.600		4.007		0,634**

Dp = desvio-padrão; * Teste *t-student*; ** Teste de *Mann-Whitney*.

Valores de referência

Hemoglobina: 10,5 a 14,0 g/l

Plaquetas: 150.000 a 400.000 / mm³

Leucócitos: 5.000 a 12.000/ mm³

Neutrófilos: 1.500 a 8.500/ mm³

Pela Tabela 6 podemos observar que não foi observada correlação entre as variáveis hematológicas e a presença a *Staphylococcus aureus*.

Tabela 7 Presença de *Pseudomonas aeruginosa* antes (T1) do início e após 14 dias da quimioterapia (T2) em pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM .

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> T1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> T2				Total	
	Positivo		Negativo			
	f _i	%	f _i	%	f _i	%
Positivo	2	4,3	3	6,5	5	10,9
Negativo	7	15,2	34	73,9	41	89,1
Total	9	19,6	37	80,4	46	100,0

p = 0,344 (Teste de McNemar); f_i = frequência absoluta simples; percentuais em relação ao total da amostra.

Em relação a tabela 7, foi observado que a quantidade de *Pseudomonas aeruginosa* no tempo 1 não foi evidenciada em 89,1% dos pacientes. Já no tempo 2, apenas 19,6% dos pacientes em tratamento antineoplásico apresentaram a bactéria em sua cavidade oral.

Tabela 8 Detecção de *Pseudomonas aeruginosa* antes da quimioterapia, conforme gênero e idade dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM, na cidade de Manaus- AM

Variáveis	<i>Pseudomonas aeruginosa T1</i>				Total	P
	Positivo		Negativo			
	f _i	%	f _i	%		
Gênero						0,635*
Feminino	3	15,8	16	84,2	19	
Masculino	2	7,4	25	92,6	27	
Idade						0,447**
Mediana	12,0		7,0			

f_i = frequência absoluta simples; * Teste exato de Fisher; ** Teste de Mann-Whitney.

Não foi observada associação estatisticamente significativa em relação à presença da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e gênero ou idade, tanto no tempo 1, quanto no tempo 2 de coleta salivar, como pode-se observar nas tabelas 8 e 9.

Tabela 9 Detecção de *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM, 14 dias após quimioterapia, conforme gênero e idade.

Variáveis	<i>Pseudomonas aeruginosa T2</i>				Total	P
	Positivo		Negativo			
	f _i	%	f _i	%		
Gênero						0,456*
Feminino	5	26,3	14	73,7	19	
Masculino	4	14,8	23	85,2	27	
Idade						0,729*
Mediana	6,0		8,0			

f_i = frequência absoluta simples; * Teste exato de Fisher; ** Teste de Mann-Whitney.

Tabela 10 Detecção de *Pseudomonas aeruginosa* 14 dias após quimioterapia segundo parâmetros hematológicos laboratoriais dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM.

Exames	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> T2				P
	Positivo		Negativo		
	Média	Dp	Média	Dp	
Hemoglobina	7,14	1,87	8,68	2,07	0,048
Plaquetas	74.401	45.904	98.713	41.250	0,128
	Mediana		Mediana		
Leucócitos (Mediana)	16.211		9.401		0,719
Neutrófilo (Mediana)	8.024		3.915		0,618

Dp = desvio-padrão; * Teste *t-student*; ** Teste não-paramétrico de *Mann-Whitney*.
Valor de p em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5% de significância.

Valores de referência

- Hemoglobina: 10,5 a 14,0 g/l
- Plaquetas: 150,000 a 400,000 / mm³
- Leucócitos: 5.000 a 12.000/ mm³
- Neutrófilos: 1.500 a 8.500/ mm³

Foi constatada correlação entre hemoglobina e a presença de *Pseudomonas aeruginosa* (p 0,048) nos pacientes que realizaram a quimioterapia, sendo que os pacientes com a bactéria apresentaram valores de hemoglobina mais baixos.

Tabela 11 Detecção de *Pseudomonas aeruginosa* 14 dias pós quimioterapia e parâmetros clínicos dos pacientes oncológicos atendidos no HEMOAM na cidade de Manaus-AM.

Variáveis	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> T2				Total	P
	Positivo		Negativo			
	F _i	%	f _i	%		
Sintomas						
Dor	2	40,0	3	60,0	5	0,248*
Febre	5	31,2	11	68,8	16	0,241*
Sangramento da gengiva	1	33,3	2	66,7	3	0,488*
Náusea	2	16,7	10	83,3	12	0,999*
Mucosite						0,456*
Sim	5	26,3	14	73,7	19	
Não	4	14,8	23	85,2	27	
Grau (n = 19)						0,998*
1	3	25,0	9	75,0	12	
2, 3 e 4	2	28,6	5	71,4	7	
Tratamento (n = 19)						0,468*

Bochecho de clorexidina	4	23,5	13	76,5	17	
Laser	1	50,0	1	50,0	2	
Dieta						0,456
Livre	4	14,8	23	85,2	27	
Pastosa ou líquida	5	26,3	14	73,7	19	
Intervenção odontológica prévia						0,132*
Sim	8	26,7	22	73,3	30	
Não	1	6,2	15	93,8	16	
Dentista nos últimos 6 meses						0,700*
Sim	2	14,3	12	85,7	14	
Não	7	21,9	25	78,1	32	
Cárie						0,999*
Sim	5	21,7	18	78,3	23	
Não	4	17,4	19	82,6	23	
Gengivite						0,450*
Sim	2	11,8	15	88,2	17	
Não	7	24,1	22	75,9	29	
Periodontite						0,999*
Sim	-	-	2	100,0	2	
Não	9	20,4	35	79,6	44	
Placa bacteriana						0,999*
Sim	5	21,7	18	78,3	23	
Não	4	17,4	19	82,6	23	

f_i = frequência absoluta simples; * Teste exato de Fisher.

Na análise da tabela 11 podemos observar que, dos pacientes entrevistados, 16 apresentaram febre como principal sinal pós-quimioterapia. Destes, apenas 31,2% possuíam *P. aeruginosa* na cavidade oral. Um total de 12 pacientes relatou episódios de náusea, dos quais 16,7% mostraram-se positivos para esta bactéria.

Em relação à mucosite, 19 pacientes desenvolveram algum grau da doença, sendo que, destes, 26,3% apresentaram *P. aeruginosa*. Salienta-se que, após identificada a lesão, foi receitado bochecho de clorexidina como tratamento a esses pacientes.

Com respeito aos pacientes que realizaram alguma intervenção odontológica prévia, do total de 30, 26,7% mostraram-se positivos para *P. aeruginosa*, porém não apresentando resultados estatisticamente significativos.

Em relação à saúde bucal dos pacientes entrevistados e a presença de *P. aeruginosa*, dos 23 que possuíam diagnóstico de cárie pela avaliação clínica do examinador, 21,7% apresentaram a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*; dos 17 com gengivite 11,8% apresentaram a *P. aeruginosa*; e dos 23 pacientes com placa bacteriana, 21,7% também apresentaram a mesma bactéria.

Tabela 12. Comparação do grau em relação ao bochecho de clorexidina por parte dos pacientes oncológicos atendidos em um centro de referência da cidade de Manaus - AM.

Grau	Bochecho de clorexidina				Total
	Sim		Não		
	f _i	%	f _i	%	
1	12	70,6	-	-	12
2, 3 e 4	5	29,4	2	100,0	7
Total	17	89,5	2	10,5	19

p = 0,122 (Teste exato de Fisher); f_i = frequência absoluta simples

Na tabela 12, podemos observar que dos 19 pacientes que desenvolveram a mucosite. 70,6% dos mesmos fizeram o uso da clorexidina a 0,12% como bochecho para o tratamento das lesões na mucosa oral.

Tabela 13. Comparação da placa bacteriana e as bactérias isoladas em relação a mucosite em pacientes oncológicos atendidos em um centro de referência da cidade de Manaus - AM.

Variáveis (n = 46)	Mucosite				Total	p*
	Sim		Não			
	f _i	%	f _i	%		
<i>Staphylococcus aureus</i> T2						0,127
Positivo e						
Com placa bacteriana	10	90,9	1	9,1	11	
Sem placa bacteriana	5	55,6	4	44,4	9	
<i>Staphylococcus aureus</i> T2						0,306
Negativo e						
Com placa bacteriana	3	25,0	9	75,0	12	
Sem placa bacteriana	1	7,1	13	92,9	14	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> T2						0,206
Positivo e						
Com placa bacteriana	4	80,0	1	20,0	5	
Sem placa bacteriana	1	25,0	3	75,0	4	

***Pseudomonas aeruginosa*T2**

Negativo e						0,184
Com placa bacteriana	9	50,0	9	50,0	18	
Sem placa bacteriana	5	26,3	14	73,7	19	

f_i = frequência absoluta simples; * Teste exato de *Fihser*.

Na tabela 13, tem-se a comparação entre presença de placa bacteriana e mucosite e a detecção *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* no tempo 2, onde podemos constatar que 90% dos pacientes que apresentaram mucosite e placa bacteriana demonstraram níveis detectáveis de *Staphylococcus aureus*. Similarmente, 80% dos pacintes que apresentaram placa bacteriana e mucosite continham *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabela 14. Comparação do resultado da placa bacteriana antes (T1) e depois de 14 dias da quimioterapia (T2) em pacientes oncológicos atendidos em um centro de referência da cidade de Manaus - AM.

Placa bacteriana T1	Placa bacteriana T2				Total	
	Sim		Não		f_i	%
	f_i	%	f_i	%		
Sim	11	23,9	6	13,0	17	37,0
Não	14	30,4	15	32,6	29	63,0
Total	25	54,4	21	45,6	46	100,0

$p = 0,115$ (Teste de McNemar); f_i = frequência absoluta simples; percentuais em relação ao total da amostra.

Na tabela 14, observamos que houve um aumento de placa bacteriana nos pacientes quando comparados os tempos T1 (antes da quimioterapia) e T2 (depois da quimioterapia).

Tabela 15. Comparação do resultado da cárie antes (T1) e depois de 14 dias da quimioterapia (T2) em pacientes oncológicos atendidos em um centro de referência da cidade de Manaus - AM.

Cárie T1	Cárie T2				Total	
	Sim		Não			
	f _i	%	f _i	%	f _i	%
Sim	23	50,0	-	-	23	50,0
Não	2	4,4	21	45,6	23	50,0
Total	25	54,4	21	45,6	46	100,0

p = 0,500 (Teste de McNemar); f_i = frequência absoluta simples; percentuais em relação ao total da amostra.

A tabela 15 ilustra a presença de cárie antes e após a quimioterapia, a partir da qual se verifica que não houve diferença significativa entre os tempos T1 e T2.

Tabela 16. Comparação do resultado da gengivite antes (T1) e depois de 14 dias da quimioterapia (T2) em pacientes oncológicos atendidos em um centro de referência da cidade de Manaus - AM.

Gengivite T1	Gengivite T2				Total	
	Sim		Não			
	f _i	%	f _i	%	f _i	%
Sim	5	10,9	6	13,0	11	23,9
Não	14	30,4	21	45,6	35	76,1
Total	19	41,3	27	58,7	46	100,0

p = 0,115 (Teste de McNemar); f_i = frequência absoluta simples; percentuais em relação ao total da amostra.

Na tabela 16, observa-se que houve um aumento de gengivite nos pacientes analisados, comparando-se os tempos 1 e 2.

Tabela 17. Comparação do resultado da periodontite antes (T1) e depois de 14 dias da quimioterapia (T2) em pacientes oncológicos atendidos em um centro de referência da cidade de Manaus - AM.

Periodontite T1	Periodontite T2				Total	
	Sim		Não			
	f _i	%	f _i	%	f _i	%
Sim	2	4,4	-	-	2	4,4
Não	-	-	44	95,6	44	95,6
Total	2	4,4	44	95,6	46	100,0

Não é possível aplicar o teste de McNemar pois não há observações discordantes; f_i = frequência absoluta simples; percentuais em relação ao total da amostra.

A tabela 16 ilustra a presença de gengivite antes e após a quimioterapia, sendo que não se notam diferenças dignas de nota entre os tempos 1 e 2.

8. DISCUSSÃO

A leucemia é uma doença classificada como maligna que envolve todo o sistema leucocitário, caracterizada pela proliferação de células linfóides com maturação interrompida antes da diferenciação na intimidade da medula óssea⁴³. A etiologia da leucemia permanece obscura, mas apresenta predisposições correlacionadas à doença, como os fatores genéticos, ambientais e virais^{22,44}. O sistema de classificação das leucemias leva em consideração o tipo celular afetado e o seu nível de diferenciação, além da progressão clínica da doença²².

Dentre as formas aguda e crônica da doença, a leucemia linfocítica aguda é a que mais acomete a população infanto-juvenil, com uma ocorrência de 75 a 80% neste grupo etário²², sendo confirmado em nossa pesquisa onde o cálculo da mediana ficou entre 4-7 anos, havendo ligeira predileção pelo sexo masculino^{22,45}. Esse dado também pode ser confirmando em nosso estudo, onde 58,7% dos pacientes analisados com leucemia linfocítica aguda eram do sexo masculino.

Sabemos que as manifestações clínicas da leucemia em cavidade oral têm espectro variado, destacando-se a presença de edema gengival, sangramento gengival espontâneo, xerostomia, candidíase e mucosite. É importante destacar que as complicações orais são mais comuns e severas em pacientes com leucemia aguda, uma vez que estão expostos por tempo prolongado aos efeitos da granulocitopenia⁴

A mucosite, além de ser uma das complicações mais frequentes em pacientes com câncer hematológico, é considerada a causa mais contínua de dor oral^{18,24,27}. Em nossa pesquisa, os sintomas mais relatados pelos pacientes após a quimioterapia foi febre (16 pacientes) e náusea (12 pacientes). Resultados similares podem ser observados na pesquisa de Donowitz (2013) e Espanhol et al.(2010). É também motivo de preocupação, o fato de que lesões de mucosite podem constituir com sítios favoráveis para o desenvolvimento de infecções locais e/ou sistêmicas^{18,24,27}.

Obviamente, o nível de morbidez correlacionado a mucosite guarda estreita relação com fatores relacionados ao paciente e ao tratamento, os quais determinarão a intensidade e o padrão de disseminação desta lesão oral. Portanto, episódios agressivos de mucosite podem comprometer a nutrição e a qualidade de vida do paciente e, conseqüentemente determinar a

modificação ou mesmo a interrupção do protocolo de tratamento antineoplásico, com repercussão na eficácia dos mesmos^{14,25,27}. Isso pode ser comprovado pela nossa pesquisa, onde 41,3 % dos pacientes que desenvolveram mucosite e 12 pacientes passaram a se alimentar de forma pastosa ou líquida devido ao aparecimento das lesões na cavidade oral.

Segundo Galvão et.al (2006) a ocorrência de mucosite é mais comum em pacientes pediátricos que em adultos, devido ao maior índice de proliferação celular verificado nas crianças. Este fato justifica a elevada frequência desta lesão oral neste grupo etário. A amostra estudada constou de 37 crianças do total de 46 pacientes, na faixa etária de 0 a 15 anos, de forma que a presença de mucosite foi verificada em 13 casos, os quais se concentraram nas fases de tratamento, onde a quimioterapia é utilizada em altas doses, como a fase de indução, corroborando as afirmações de Epstein et al. (2002); Santos et al. (2015) e Barasch et al. (2006).

É interessante observar que, dos 19 pacientes que desenvolveram mucosite, 2 indivíduos não fizeram uso do gluconato de clorexidina a 0,12% e vieram a desenvolver esta lesão oral de forma disseminada (tabela 3), confirmando os estudos de Ponce-Torres et al. (2010) e Albuquerque et al. (2007), que destacam a eficiência deste antisséptico em evitar o desenvolvimento ou mesmo minimizar a gravidade da mucosite oral associada à quimioterapia antineoplásica. Isso também pode explicar o fato de que a maioria dos pacientes do HEMOAM que participaram da pesquisa que estavam em grau 1 de mucosite não evoluíram para um grau mais grave da doença, pois todos faziam uso do bochecho de clorexidina a 0,12%.

Outro dado interessante a ser analisado no caso dos pacientes envolvidos na pesquisa foi o fato do uso do bochecho de clorexidina a 0,12% ter sido mais eficiente em *P. aeruginosa*, em relação a *S. aureus*. Supostamente, esses resultados são parcialmente explicados pelas características químicas dos seus componentes, que levam à sua adsorção ao envoltório celular bacteriano, conduzindo a uma desestabilização dos componentes lipídicos e aquosos da membrana celular e a um colapso em sua permeabilidade⁵⁵.

Os cuidados odontológicos dos pacientes oncológicos - antes, durante e após a terapêutica antineoplásica - visam a manutenção da saúde bucal, contribuindo para a efetividade dos resultados da terapia e da qualidade de vida dos pacientes⁷⁶. O cirurgião-dentista enfrenta muitos desafios no manejo de doenças bucais antes e durante a terapia antineoplásica pois, além das alterações causadas pela doença em si, o tratamento da leucemia também apresenta manifestações bucais, de curto e longo prazo, decorrentes de quimioterapia⁷⁶. Em nossos pacientes, foi observado um aumento de placa bacteriana, de 37% no tempo 1, para 54,4% no

tempo 2, contudo sem significância estatística (tabela 14). Em relação a cárie dentária, não houve diferença significativa entre os tempos 1 e 2. Já no caso da gengivite, foi possível se observar um aumento na quantidade de pacientes que apresentaram gengivite 14 dias após a realização da quimioterapia, passando de 23,9% para 41,3% (tabela 15).

A viabilidade de realização de alguns procedimentos odontológicos depende da situação geral de saúde do paciente, bem como da fase do tratamento antineoplásico em que o mesmo se encontra. O manejo odontológico dos pacientes que serão, estão ou foram submetidos ao tratamento quimioterápico (fase pré e pós quimioterapia, respectivamente) deve seguir alguns protocolos, de acordo com os índices hematológicos presentes, especialmente nos casos de procedimentos invasivos, com intuito de evitar hemorragias e infecções graves. Inicialmente, o tratamento odontológico deve ser direcionado para as necessidades agudas⁷⁷, devendo os tratamentos eletivos serem postergados para um momento em que o paciente esteja em condições clínicas e laboratoriais oportunas.^{12,11}

Considerando a importância de se compreender a presença de microrganismos patogênicos na cavidade oral de pacientes leucêmicos, sobretudo naqueles que desenvolvem mucosite, procurou-se neste estudo determinar se o surgimento desta lesão oral tem relação com a ação microbiana, particularmente das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Ambas as bactérias são consideradas patógenos oportunistas e exibem mecanismos de patogenicidade que atuam em vias diversas: capacidade de organização em biofilme, produção de enzimas extracelulares e toxinas e resistência a diversos antibióticos⁵⁶.

Com respeito à presença da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* nos pacientes que realizaram quimioterapia e os exames laboratoriais coletados no tempo 2, foi observada correlação entre os níveis de hemoglobina e a presença da bactéria ($p = 0,048$), segundo a qual os pacientes portadores de *Pseudomonas aeruginosa* apresentarem menores valores de hemoglobina no sangue (tabela 10). Esse achado é respaldado pelo estudo de Lamont et al. 2002, onde foi observada a correlação entre *P. aeruginosa* e hemoglobina, uma vez que a bactéria possui capacidade de secreção de pioverdina, um conhecido sideróforo. Essas moléculas circulantes tem o ferro como um de seus constituintes e desenvolvem importante atividade na patogênese bacteriana. Em hospedeiros humanos e animais, o pigmento fluorescente pioverdina compete pelo ferro ligado às proteínas transferrina e lactoferrina dos fluidos extracelulares e à ferritina e hemoglobina internalizadas em células.

Na tabela 2, observou-se que dos 46 pacientes que foram entrevistados antes da

quimioterapia, 76,1% obtiveram exame microbiológico negativo para *Staphylococcus aureus*. Já no tempo 2 de coleta, realizado 14 dias após a quimioterapia, 43,5% pacientes mostraram resultados positivos para *Staphylococcus aureus*. Isto pode sugerir participação no desenvolvimento ou agravamento do quadro da mucosite oral, o que foi comprovado nos estudos de Laheij et al.(2012); Napenas et al.(2007) e Nucci(2000). Porém, pesquisas adicionais devem ser realizadas para se comprovar essa hipótese com clareza. Além disso, dos 46 pacientes, 21% desenvolveram mucosite e 79% apresentavam a bactéria *Staphylococcus aureus* no tempo 2 de coleta, o que reitera pesquisa de Wahlin et al.(1988), onde se constatou *Staphylococcus aureus* como bactéria associada à mucosite ulcerativa, com base na análise longitudinal de dados. De fato, já se demonstrou que o risco de ulcerações se desenvolverem na mucosite aumenta, quando essa bactéria está presente na cavidade oral^{25,53}.

Considera-se a cavidade oral como um ecossistema que contém uma microbiota bastante diversa, a qual inclui mais de 500 espécies bacterianas, sendo muitas destas potencialmente patogênicas³⁶. Normalmente, esta microbiota é representada por microrganismos inócuos que podem causar especialmente infecções odontológicas de baixa complexidade, porém nos pacientes imunocomprometidos, tanto a microbiota inofensiva, como a oportunista pode se tornar patogênica e causar infecções graves, causando, inclusive, bacteremia e o surgimento de infecções sistêmicas. De acordo com autores pesquisados, em pacientes oncológicos, a neutropenia é o fator fundamental relacionado à suscetibilidade do indivíduo a infecções por bactérias e fungos. Efetivamente, a população estudada compreendeu crianças portadoras de LLA, doença que exerce forte influência na resposta imune, nos processos de reparo e na inflamação, além de dificultar as funções fisiológicas vitais. Assim sendo, é de se esperar a proliferação de patógenos oportunistas na cavidade oral do grupo estudado. Cabe salientar que a evolução desta doença é agudo, propiciando uma deficiência brusca da função medular e causando neutropenia de maneira rápida, culminando em um maior perigo de infecções e complicações orais.

A análise microbiológica revelou alta ocorrência de *S. aureus* e baixa de *P. aeruginosa*, com 20 e 9 casos no tempo 2, respectivamente (tabela 2 e 5). Estes patógenos normalmente não estão presentes na cavidade oral de indivíduos saudáveis; contudo, em pacientes hospitalizados, imunocomprometidos ou portadores de neoplasias, é comum a presença destes na cavidade oral, como afirmam Nucci (2000) e Socransky et al. (1988).

S. aureus são microrganismos comuns na pele, onde representam 90% da microbiota. Entretanto, eles podem contaminar outras regiões do corpo, causando infecções mediante quadros de debilidade fisiológica, como é o caso dos pacientes leucêmicos.

A presença de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* no grupo estudado corrobora alguns trabalhos como os de Nucci (2000), Uzeda (2009) e Semenoff et al.(2008). É importante destacar que as amostras coletadas foram positivas para *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, os quais conforme literatura aprofundada, são microrganismos frequentes na cavidade oral de pacientes leucêmicos. Estes são habitantes naturais de frutas e verduras, podendo ser também encontrados no ar, na água, em hemoderivados e em instrumentos e equipamentos cirúrgicos e hospitalares^{36,56}.

A clorexidina tem indicações amplas na prática odontológica, sendo recomendada para pacientes especiais, indivíduos com prejuízo de coordenação motora, portadores de doenças do sistema nervoso, no pós-cirúrgico, na prevenção de complicações orais associadas à terapia antineoplásica, ou nos estados de imunossupressão⁴.

Em muitos estudos científicos, o gluconato de clorexidina a 0,12% é considerado um agente preciso na manutenção da saúde oral. Em pacientes leucêmicos, o uso deste antisséptico está bastante disseminado, haja vista suas reconhecida ação bactericida e fungicida, assim como seu potencial de prevenir ou diminuir a gravidade das ulcerações orais. Este antimicrobiano é empregado dentro do HEMOAM, de forma efetiva e consistente. Na amostra estudada, pôde-se observar que a utilização do gluconato de clorexidina a 0,12% foi determinante na redução da gravidade da mucosite. De fato, notou-se que os 2 pacientes que não fizeram uso deste antisséptico desenvolveram lesões orais de forma disseminada. Dentre aqueles que utilizaram esta substância, 12 tiveram mucosite localizada e de intensidade branda. Quanto a este achado, nossos resultados estão de acordo com o trabalho de Semenoff et al. (2008).

A constatação de que os microrganismos identificados nesta pesquisa estão associados a sinais e sintomas da mucosite oral, bem como a parâmetros clínicos específicos, sugere a necessidade de estudos posteriores que possam determinar os mecanismos de patogenicidade desempenhados por estes no desenvolvimento da mucosite associada à quimioterapia antineoplásica.

9. CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos nesse estudo, é possível se concluir que:

1. O níveis de *S. aureus* aumentaram na cavidade oral dos pacientes após a quimioterapia, enquanto que os de *P. aeruginosa* não apresentaram alterações significativas.
2. Embora a presença de *S. aureus* tenha apresentado correlações positivas com as variáveis clínicas, não foi possível determinar a relação causa-efeito, devendo-se conduzir estudos adicionais para comprovar seu papel no desenvolvimento da mucosite oral em pacientes leucêmicos.
3. A menor ocorrência de *P. aeruginosa* nas amostras estudadas pode ser explicada pela utilização da clorexidina 0,12%, especialmente na fase mais crítica da terapia antineoplásica, como meio de controle de infecções por bactérias e fungos.
4. A estreita correlação entre a presença de *P. aeruginosa* e os níveis séricos de hemoglobina observados após o tratamento quimioterápico sugere um importante papel patogênico desta bactéria em pacientes leucêmicos. Estudos futuros devem ser conduzidos para comprovar esta hipótese.

10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Minicucci EM, Dib LL, Curi MM, Shinohara EH, Sêneda LM. Sequelas odontológicas do tratamento rádio e quimioterápico em crianças. **Rev Paul Pediatr** 1994; 12: 258-263.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção a saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de prevenção e vigilância. Estimativas 2015: **Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2014.
3. Cotran S, Robbins SL, Kumar V, et al. **Fundamentos de Patologia**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2006. P 153
4. Costa SS, Silva AM, Macedo IAB. Conhecimento de manifestações orais da Leucemia e protocolo de atendimento odontológico. **Rev Odontol Univ São Paulo**. 2011;23:70-8.
5. Subramaniam P, Babu KL, Nagarathna J. Oral manifestations in acute lymphoblastic leukemic children under chemotherapy. **J Clin Pediatr Dent**. 2008;32:319-24.
6. BURKE, V. P. & STARTZELL, J. M. The leukemias. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am**. 20(4), 597-608, 2008.
7. Hamerschlak N. Leukemia: genetics and prognostic factors. **J Pediatr**. 2008;84:52-7.
8. Maeda YC. Manifestações bucais da leucemia e do tratamento antineoplásico [Monograph]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2008.
9. Pedrosa Francisco, Lins Mecneide. Leucemia linfóide aguda: uma doença curável. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant**. 2002.
10. Martins, A.C.M, Caçador N.P, Gaeti W.P. Complicações bucais da quimioterapia antineoplásica. **Acta Scientiarum** 2002; 4(3): 663-70.
11. Instituto Nacional do Câncer - Ministério da Saúde - Brasil. Leucemias agudas na infância e adolescência: Conduas do INCa/MS. **Rev Bras Cancerol**. 2001;47(3):245-47.
12. Albuquerque I.L.S., Camargo T.C. Prevenção e tratamento da mucosite oral induzida por radioterapia: revisão de literatura, **Revista Brasileira de Cancerologia**. 2007; 2: 53, 195-209.
13. Murphy, B.A. Clinical and economic consequences of mucositis induced by chemotherapy and/or radiation therapy. **J Support Oncol** 2007; 5(9 Suppl 4):13-21.
14. Peterson, D.E. Research advances in oral mucositis. **Curr Opin Oncol**, v.11, p.261-266, 1999.
15. Cutrim, M.C.F.N., Lopes FF. Complicações bucais da terapia do câncer. Parte II: efeitos da quimioterapia. **Rev RBO** 2004; 61(1): 46-48
16. Mendonça E.F, Carneiro L.S, Silva J.B, Palmeira G.B.L.S. Complicações bucais da quimioterapia e radioterapia no tratamento do câncer. **Rev ABO Nac** 2005; 13(3): 151-156.
17. Nâpenas J.J, Brennan M.T, Bahrani-Mougeot F.K, et al. Relationship between mucositis and changes in oral microflora during cancer chemotherapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2007; 103:48 – 59.
18. Nucci, M. Infecções oportunistas em pacientes com leucemias e linfomas. In: LACAZ, C. da S.; MARTINS, C.M. **Oportunismo microbiano e de neoplasias na medicina contemporânea**. São Paulo: Fundo Editorial BYK, 2000. cap. 3, p.73-91.
19. Hespanhol F.L, Tinoco E.M.B, Teixeira H.G.C, Falabella M.E.V, Assis N.M.S.P. Manifestações bucais em pacientes submetidos à quimioterapia. **Ciência & Saúde Coletiva** 2010; 15(1):1085-94.
20. Yagiela JÁ, Neidle EA, Dowd FJ. **Farmacologia e terapêutica para dentistas**. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

-
21. Freitas, D.A. Sequelas bucais da radioterapia de cabeça e pescoço; **Rev. CEFAC**. 2011;13: 6, 1103-108.
 22. McKENNA, S.J. Leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **St. Louis**, v. 89, n. 2, p. 137-9, Feb. 2000.
 23. Salazar M., Victorino F.R, Paranhos L.R, Ricci I.D, Gaeti W.P, Caçador N.P. Efeitos e tratamento da radioterapia de cabeça e pescoço de interesse ao cirurgião dentista: revisão da literatura. **Odonto**. 2008;16:62-8.
 24. EPSTEIN, J.B. et al. The role of salivary function in modulation chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis: a review of the literature. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.94, p. 39-44, mar. 2000.
 25. SONIS, S.T. et al. Complicações bucais da quimioterapia do câncer. In: SONIS, S.T. et al. (Ed.) **Princípios e prática de medicina oral**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. cap42, p.348-401.
 26. Elting, L. et al., The burdens of cancer therapy. *Cancer*, New York, v.98: 1531–1539, Oct.2003.
 27. Sonis, S.T. The pathobiology of mucositis. **Nat Rev Cancer**, London, v. 4, n. 4, p. 277-284, Apr. 2004.
 28. Carvalho, P.A.G., Pereira Junior, A.J.A, Negreiros W.A. Avaliação da dor causada pela mucosite oral em pacientes oncológicos. *Rev Dor* 2009; 10(1): 47-50.
 29. Millns, B.; Martin, M.V.; Williams, M.C. Raised salivary endotoxin concentration as a predictor of infection in pediatric leukemia patients. **Oral Surg oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.88, n.1, p.50-55, 1999.
 30. VENTRIGLIA, Milena; AZNAR, Lauren Cardoso Alves; DINIZ, Michele Baffi. Manifestações orais em crianças portadoras de leucemia. **Rev Pediatr Mod**, v. 50, n. 4, p. 179-185, 2014.
 31. SANTOS, Bruna Rafaela Martins dos. Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. em quadros de saúde e doença periodontal. 2007. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
 32. Siqueira J.F Jr, Rocas I.N. As-yet-uncultivated oral bacteria: breadth and association with oral and extraoral diseases. **J Oral Microbiol** 2013; 5:21077;
 33. Zaura E. Next-generation sequencing approaches to understanding the oral microbiome. **Adv Dent Res** 2012; 24:81–85.
 34. CARVALHO, Eduardo S.; MARQUES, Silvia R. Infecção hospitalar em pediatria. **Jornal de pediatria**, v. 75, n. 1, p. S31-S45, 1999.
 35. Giroto, Amanda Vieira da Silva. A infecção em pacientes neutropênicos com diagnóstico de leucemia. 2016. 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Enfermagem e Licenciatura)-Escola de Enfermagem Aurora de Afonso Costa, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2016.
 36. Tortora, Gerard J. Microbiologia/ Gerard J.Tortora, Berdell R.Funke, Christine L. Case; tradução: Aristóbolo Mendes da Silva...[at.al.]; revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca. – 10. Ed. – Porto Alegre: **Artmed**, 2012.
 37. TRABULSI, L. R.; LINCOPAN, N. *Pseudomonas aeruginosa* In: Trabulsi, L. R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 5 ed. São Paulo: **Atheneu**, 2008, p. 369-381
 38. MULLIS, K.B. Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. **Ann Biol Clin** 48(8): 579-82, 1990.
 39. SILVA, AM et al. Biologia Molecular (Análises clínicas e toxicológicas: métodos e interpretação) . 1. Ed.- Rio de Janeiro: **Roca**, 2015. 24 p.
 40. MUNRO, C.L.; GRAP, M.J. Oral health and care in the intensive care unit: State of the science. **American Journal of Critical Care**, v. 13, p. 25–34, mar. 2004.

-
41. BERQUÓ, Elza Salvatori - *Bioestatística/ Elza Salvatori Berquó*, José Maria Pacheco de Souza, Sabina Léa Davison Gotlieb. - São Paulo: EPU, 1980.
 42. VIEIRA, Sonia – *Bioestatística, Tópicos Avançados* – Rio de Janeiro. 2.ed. – RJ: **Elsevier**, 2004.
 43. SULLIVAN, A.K. Classificação, patogênese e etiologia das doenças neoplásicas do sistema hematopoiético. In: LEE, G.R. et al. **Wintrobe hematologia clínica**, 1.ed., v.2, São Paulo: Manole LTDA., 1998, cap.68, p.1897-1970
 44. HASTINGS, C. Acute leukimia. In: _____ *Hematology/Oncology Handbook. The Children's Hospital Oakland*. 1.ed. St. Louis: Mosby, 2002. Cap.21,p.161-169.
 45. PUI, C.H. Acute lymphoblastic leukimia in children. **Curr Opin Oncol**, v.12, p.3- 12,2000.
 46. DONOWITZ, G. R. et al. Infections in the neutropenic patient - New views of an old problem. **Hemathology**, v.1, p.113-139, jan. 2013.
 47. GALVÃO, V. C.; CONSOLARO, C.H.B.C. Mucosite severa em paciente com leucemia: uma abordagem terapêutica. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac.**, v. 6, p. 35-40, abr/jun 2006
 48. SANTOS, P.S. et al. Mucosite oral: perspectivas atuais na prevenção e tratamento. **RGO**, Porto Alegre, v. 57, p. 339-344, jul./set. 2015
 49. BARASCH, A. et al. Antimicrobials, mucosal coating agents, anesthetics, analgesics, and nutritional supplements for alimentary tract mucositis. **Support Care Cancer**, v.14, p. 528-532, dez. 2006
 50. PONCE-TORRES, E., RUIZ-RODRIGUEZ MDEL, S., ALEJO-GONZALEZ, F., HERNANDEZ-SIERRA, J. F. &POZOS-GUILLEN ADE, J. Oral manifestations in pediatric patients receiving chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia. **J Clin Pediatr Dent**. 34(3), 275-279, 2010.
 51. Laheij, A.M, de Soet J.J, Von dem Borne P.A, et al. Oral bacteria and yeasts in relationship to oral ulcerations in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Support Care Cancer** 2012; 20:3231 – 3240.
 52. WAHLIN, Y.B.; HOLM, A. Changes in the oral microflora in patients with acute leukemia and related disorders during the period of induction therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol*, v. 65, p. 411-417, jun. 1988.
 53. ZELANTE, F. & PIOCHI, B.J.A. Contribuição para o estudo de *Staphylococcus* isolados da cavidade bucal. IV. *Staphylococcus* isolados de canais radiculares infectados. **Rev. Fac. Odont. S. Paulo**, 13:277-86, 1975.
 54. Socransky S.S, Haffajee A.D, Dzink J.L, Hillman J.D (1988) Associations between microbial species in subgingival plaque samples. **Oral Microbiology and Immunology** 3, 1-7.
 55. SEMENOFF, T.A.D.V.; SEMENOFF-SEGUNDO, A.; BIASOLI, E.R. Efetividade antimicrobiana in vitro de estabilidade da clorexidina manipulada enxaguatórios bucais frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Odonto Ciencia**, v.23, p. 351-354, dez. 2008.
 56. Murray, P.R. et al. **Microbiologia médica**, 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. cap. 71, p.487-493.
 57. BRAKSTAD, O.G. et al. Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the *nuc* Gene. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 7, p. 1654-1660, 1992.
 58. DE VOS, D. et al. Direct Detection and Identification of *Pseudomonas aeruginosa* in Clinical Samples Such as Skin Biopsy Specimens and Expectorations by Multiplex PCR Based on Two Outer Membrane Lipoprotein Genes, *oprI* and *oprL*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 6, p. 1295-1299, 1997.
 59. KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; FAUSTO, Nelson; MITCHELL, Richard N. **Robbins Patologia Básica**. 8ª edição. São Paulo: Elsevier Editora Ltda, 2008, p. 63-67, 187-243, 483-523.
 60. PHILIP, A. &POPLACK, D. G. Principles and practice of Pediatric Oncology. Childhood cancer: incidence, survival, and mortality. 4, 1-11, 2002.
 61. LITTLE, James W.; FALACE, Donald A.; MILLER, Craig S.; RHODUS, Nelson L.

-
- Manejo Odontológico do Paciente Clinicamente Comprometido.** 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2009, p.359-379.
62. LICHTMAN, Andrew H.; POBER, Jordan S. Introdução à Imunologia. In: ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; POBER, Jordan S. **Imunologia Celular e Molecular.** 3. Ed. Rio de Janeiro: Revinter Ltda., 2000, cap. 1 e 2, p. 15-28.
 63. HOWARD, Martin R.; HAMILTON, Peter J. **Haematology – An Illustrated Colour Text.** 3ª edição, cap. 4. Editora Elsevier Ltda, 2008.
 64. MACIEL, J. C., DE CASTRO, C. G., JR., BRUNETTO, A. L., DI LEONE, L. P. & DA SILVEIRA, H. E. Oral health and dental anomalies in patients treated for leukemia in childhood and adolescence. *Pediatr Blood Cancer.* 53(3), 361-365, 2009.
 65. BREVIGLIERI, Rachel Melges Cardinalli; CHOAIRY, Ana Cristina Cardinalli. O Cuidado Multiprofissional do Paciente Onco- Hematológico. In: BIFULCO, Vera Anita; FERNANDES JÚNIOR, Hézio Jadir; BARBOSA, Alessandra Bigal. **Câncer - Uma Visão Multiprofissional.** 1. Ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2010, p. 153-175.
 66. LAKS, D. et al. Avaliação da sobrevida de crianças com leucemia linfocítica aguda tratadas com o protocolo Berlim-Frankfurt-Munique. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 2, p. 149-158, Mar./Apr. 2003.
 67. BRANDALISE, S.R. et al. Protocolo cooperativo GBTLI LLA-99 para o tratamento da leucemia linfóide aguda na infância. **Programa da Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica e Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, UNICAMP, São Paulo, 2000
 68. JOHNSON, B.T. Uses of chlorhexidine in dentistry. **Gener Dent**, v.43, n.2, p.126-140, Mar./Apr. 1995.
 69. MENDES, M.M.S.G.; ZENÓBIO, E.G.; PEREIRA, O.L. Agentes químicos para controle de placa bacteriana. **Rev Period**, p.253-256, jul./dez. 1995.
 70. LUTZ, L. et al. Clinical failure of vancomycin treatment of Staphylococcus aureus infection in a tertiary care hospital in southern Brazil. *Braz J Infect Dis*, v. 7, n. 3, p. 224-8, 2006.
 71. BERNARD, L. et al. Comparative analysis and validation of different assays for glycopeptide susceptibility among methicillin-resistant S. aureus strains. *JMicrobiolMeth*, v. 57, p. 231-9, 2004.
 72. VELÁZQUEZ-MEZA, M. E. Staphylococcus aureus methicillin-resistant: emergence and dissemination. *Salud Pública de México*, v. 47, p. 381-7, 2005
 73. Winn W.Jr., Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop G, Schreckenberger PC, Woods G, **Diagnóstico Microbiológico 6ª Ed.** Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008.
 74. Arruda EA, Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa*, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1998; 31:503-504.
 75. FERREIRA, Maria Cristina Duarte; SANTOS, Paulo Sérgio da Silva; HADDAD, Aida Sabbagh. Condições Sistêmicas: Pacientes Oncológicos Submetidos à Radioterapia e/ou Quimioterapia. In: HADDAD, Aida Sabbagh. **Odontologia para Pacientes com Necessidades Especiais.** São Paulo: Santos Ltda, 2007, p. 391-399
 76. LITTLE, James W.; FALACE, Donald A.; MILLER, Craig S.; RHODUS, Nelson L. **Manejo Odontológico do Paciente Clinicamente Comprometido.** 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2009, p.359-379.
 - 77.

• 11.1 QUESTIONÁRIO



Avaliação nº: _____

Data do atendimento: ___/___/___.

1. IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

Idade: _____ Data de Nascimento: ___/___/___.

Sexo: () Masculino () Feminino

Estado civil: _____

Natural de (Cidade/Estado): _____

Endereço: _____

Telefones : _____

Responsável: _____

Tel. do responsável: _____

2. GRAU DE ESCOLARIDADE:

- () 1. Analfabeto
- () 2. Ensino fundamental incompleto
- () 3. Ensino fundamental completo
- () 4. Ensino médio incompleto
- () 5. Ensino médio completo
- () 6. Educação superior incompleta
- () 7. Educação superior completa

Profissão: _____

3. RENDA:

- Menos de 1 (um) salário mínimo
- De 1 a 5 salários mínimos
- Mais de 5 a 10 salários mínimos
- Mais de 10 salários mínimos

4. MODALIDADE ECONÔMICA DE ATENDIMENTO:

- 1. Pública
- 2. Privada
- 3. Plano de saúde conveniado.

5. TIPO DE ATENDIMENTO:

- 1. Ambulatorial
- 2. Internação

6. HÁBITOS: Fumante: SIM () NÃO () Álcool: SIM () NÃO ()

7. TIPO DE CÂNCER:

8. TRATAMENTO ONCOLÓGICO DESENVOLVIDO

- 1. Apenas quimioterapia
- 2. Apenas radioterapia
- 3. Quimioterapia e radioterapia

9. QUIMIOTERÁPICOS UTILIZADOS: _____

10. FASE DA QUIMIOTERAPIA: Inicial: _____

11. QUAL MODALIDADE RADIOTERAPÊUTICA?

12. EM TRATAMENTO PARA A MUCOSITE ORAL

1. Sim

2. Não

13. EM CASO POSITIVO DO ITEM ANTERIOR, QUAL TRATAMENTO?

14. A MUCOSITE ORAL É

RECIDIVANTE? () 1. Sim

2. Não

15. Tratamento oncológico foi interrompido ou alterado por conta da mucosite oral? () 1. Sim

2. Não

16. Tipo de dieta

implementada: () 1.

Dieta oral livre

2. Dieta oral

pastosa () 3. Dieta

oral líquida

4. Dieta por sonda nasogástrica ou

orogástrica () 5. Dieta parenteral

17. Consulta ao Dentista nos últimos seis meses: () Sim () Não

18. Problemas dentários (dor, desconforto, infecção): () Sim () Não

19. Você realizou alguma intervenção odontológica prévia ao tratamento?

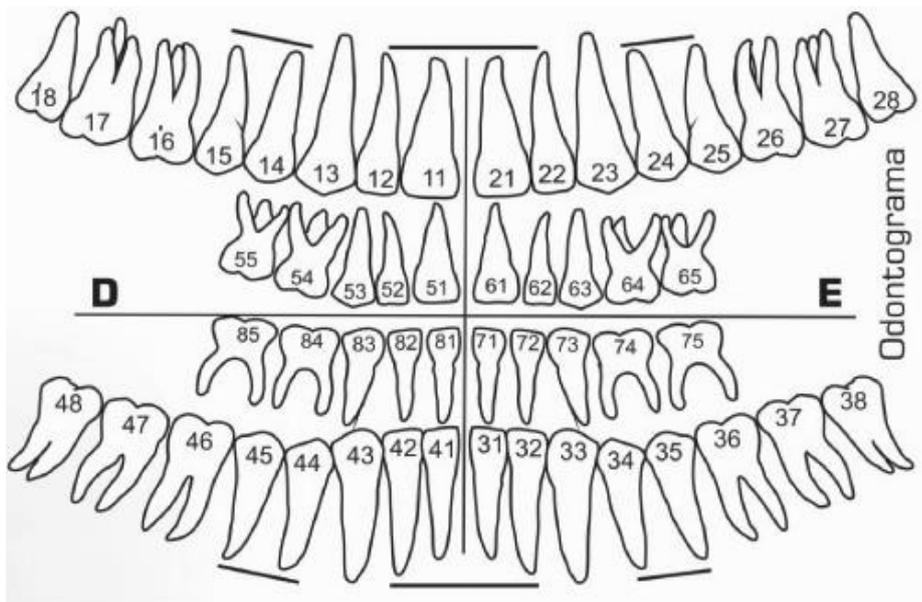
20. Existem, no momento, outros sinais e/ou sintomas associados ao tratamento oncológico? _____

Etapa 2: Classificação da mucosite oral, segundo Escala de Graduação da Mucosite proposta pela Organização Mundial de Saúde (1979)

1. () Grau 0: Nenhum sinal e sintoma de mucosite
2. () Grau 1: Irritação, dor e eritema
3. () Grau 2: Eritema, úlceras, dificuldade para alimentar-se
4. () Grau 3: Úlceras, requer dieta líquida
5. () Grau 4: Impossível a alimentação.

Etapa 3: Condições Dentárias

3.1 Cárie



3.2 Condições Periodontais:

presença de placa bacteriana : () Sim () Não

Gengivite : () Sim () Não

Periodontite : () Sim () Não

3.3 Hábitos de Higiene

a) Escova os dentes diariamente? _____

b) Quantas vezes? _____

c) Usa fio dental? _____

d) Quantas vezes? _____

11.2 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade do Estado do Amazonas

Escola Superior de Ciências da Saúde

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa descrito abaixo. Por favor, leia atentamente as informações que se seguem:

Título da Pesquisa: “DETECÇÃO DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* E *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA MUCOSITE ORAL EM PACIENTES LEUCÊMICOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO ANTINEOPLÁSICO

Pesquisador responsável pela pesquisa: **Prof. Daniel Saito (ESA - UEA).**

Pesquisadores responsáveis pela apresentação deste documento: **Prof. Dr. Daniel Saito, Ana Cláudia Nunes Duarte Goeritz e Anderson Nogueira Barbosa.**

Justificativa: os resultados dessa pesquisa podem auxiliar no desenvolvimento de melhores tratamentos contra a mucosite.

Objetivo: identificar as bactérias *Pseudomonas Aeruginosa* e *Staphylococcus Aureus* na cavidade oral de pacientes em tratamento antineoplásico, através do estudo do material genético.

Procedimentos a serem realizados: O presente estudo será composto por pacientes voluntários do HEMOAM com diagnóstico de Leucemia Linfocítica Aguda (LLA), que necessitará de quimioterapia ou radioterapia como forma terapêutica. Inicialmente, o voluntário irá responder um questionário elaborado pelo pesquisador (a), em seguida, sua boca será examinada com auxílio de um espelho bucal, sonda exploradora e sonda gengival, para se avaliar o seu grau de saúde bucal. Será realizado, também um Odontograma. Finalmente, uma amostra de saliva será coletada por swab estéril. Estes procedimentos serão seguros e indolores. Após a coleta das amostras, o tratamento ao qual você já estava submetido será realizado normalmente. As amostras serão transportadas ao laboratório. Por fim, o DNA das bactérias presentes nas amostras será extraído e analisado, afim de se determinarem

quais as influências destas bactérias na mucosite oral em pacientes submetidos ao tratamento antineoplásico.

Métodos Alternativos: Existe um método alternativo para a coleta das amostras de saliva, que consiste no uso de papel de filtro esterilizados. No entanto, este método alternativo não será utilizado, pois a quantidade de material obtido por ele é insuficiente para o nosso estudo.

Grupos placebo: Não serão utilizados grupos placebo neste estudo.

Desconfortos e Riscos: Este procedimento não implica em riscos e desconfortos previsíveis, uma vez que os instrumentos de coleta se encontrarão devidamente esterilizados e serão utilizados com máxima cautela, sem o uso de força ou pressão excessiva. Todos os procedimentos para reduzir os desconfortos e riscos associados ao tratamento serão tomados. No entanto, mesmo que estes cuidados sejam tomados, você poderá sentir um leve desconforto na sua boca durante o processo de coleta. A coleta de amostras será realizada com um tubo plástico .

Benefícios diretos: Não existe benefício direto ao voluntário, pois os resultados não têm aplicação clínica imediata. No entanto, caso você queira, poderá solicitar o recebimento de seus resultados individuais.

Formação de banco de material biológico: o material biológico proveniente desta pesquisa poderá ser guardado e utilizado em outras pesquisas científicas. Neste caso, você será comunicado para assinar um novo termo de consentimento livre e esclarecido, que explicará detalhadamente todas as informações do novo estudo. Você terá plena liberdade de recusar a reutilização de suas amostras, caso não concorde com os objetivos do novo estudo.

Acompanhamento e garantia de esclarecimento: Os pesquisadores esclarecerão todas as dúvidas que possam surgir antes, durante e após o tratamento.

Liberdade para se recusar em participar da pesquisa: A decisão de fazer parte desta pesquisa é voluntária. Você tem a total liberdade de decidir se quer ou não participar do estudo, bem como de desistir a qualquer momento durante o andamento da pesquisa. Independentemente da sua participação nesta pesquisa,

Garantia de sigilo: serão garantidos o sigilo e a privacidade das informações obtidas, não citando nomes que possam identificá-lo, ou seja, a sua identidade não será divulgada.

Ressarcimento: O presente estudo não implica em gastos adicionais aos participantes e, portanto, não há previsão de ressarcimento de gastos neste estudo.

Indenização de dano eventual: Não há previsão de nenhuma forma de indenização no estudo, uma vez que não existe risco previsível pela participação nessa pesquisa.

Garantia de cópia: Você tem direito a uma cópia deste documento. Ela lhe será entregue pelo pesquisador responsável pela apresentação deste documento.

Contato: Se você tiver alguma dúvida com relação a este estudo, poderá entrar em contato pessoalmente com o Dr. Daniel Saito pelo telefone (92)9110-0005 ou e-mail: dsaito@uea.edu.br, Ana Cláudia Nunes Duarte Goeritz (92) 98119-3113 ou e-mail: anininha_nunes@hotmail.com. Todos os pesquisadores podem ser encontrados no endereço: Av. Carvalho Leal, 1777; Bairro Cachoeirinha; Manaus – AM.

SUA ASSINATURA INDICA QUE VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DA PESQUISA COMO VOLUNTÁRIO E QUE LEU E ENTENDEU TODAS AS INFORMAÇÕES CONTIDAS NESTE DOCUMENTO

- Concordo que as minhas amostras sejam armazenadas em banco de dados biológico para uso em estudos futuros**
- Não concordo que as minhas amostras sejam armazenadas em banco de dados biológico**

Nome

Assinatura

RG ou CPF: _____

Endereço:

Bairro: _____ Cidade: _____

Estado: _____ CEP: _____

Telefone: (____) _____

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, entre em contato com o **COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UEA** (Endereço: Av. Carvalho Leal, 1777; Cachoeirinha; Manaus – AM;

Telefone: (92)38786-4368; e-mail: cep.uea@gmail.com

11.3 ANÁLISE DESCRITIVA DOS PACIENTES

11.3.1 Características gerais dos pacientes atendidos no HEMOAM

Abreviação	IDADE	GENERO	ESCOLARIDADE	RENDA
1	3	feminino	1	3
2	19	masculino	4	2
3	5	feminino	1	2
4	6	masculino	1	1
5	4	feminino	1	1
6	3	feminino	1	2
7	59	masculino	3	2
8	17	masculino	3	2
9	19	masculino	3	2
10	6	masculino	2	1
11	8	masculino	2	2
12	6	masculino	1	1
13	5	masculino	1	2
14	2	feminino	1	1
15	4	masculino	1	1
16	5	feminino	1	2
17	3	masculino	1	2
18	6	feminino	2	2
19	4	masculino	1	1
20	2	masculino	1	1
21	12	feminino	3	2
22	14	feminino	2	2
23	18	feminino	4	1
24	15	masculino	2	2
25	19	masculino	5	2
26	14	masculino	2	2
27	10	masculino	2	2
28	9	feminino	2	1
29	4	masculino	2	1
30	11	masculino	2	1
31	27	masculino	7	1
32	10	masculino	2	1
33	7	masculino	2	1
34	3	feminino	1	1
35	8	feminino	2	1
36	29	feminino	4	1

37	8	feminino	2	1
38	13	feminino	2	2
39	4	feminino	1	1
40	2	feminino	1	1
41	13	feminino	2	2
42	2	masculino	1	1
43	56	masculino	4	2
44	13	masculino	2	1
45	7	masculino	2	1
46	3	Masculino	1	1

LEGENDA DA ESCOLARIDADE:

1. Analfabeto
2. E. F. Incompleto
3. E. F. Completo
4. E. M. Incompleto
5. E. M. Completo
6. E. S. Incompleta
7. E. S. Completa

LEGENDA DA RENDA:

1. Menos de 1 salário mínimo
2. De 1 a 5 salários mínimos
3. Mais de 5 a 10 salários
4. Mais de 10 salários

11.3.2 Características clínicas dos pacientes entrevistados no HEMOAM

SINTOMAS T1	SINTOMAS T2	MUCOSITE T1	MUCOSITE T2	GRAU T2
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
Febre	Febre	NÃO	SIM	1
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
Dor	N.D.N	NÃO	SIM	1
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	Febre	NÃO	SIM	2
Dor	Febre	NÃO	SIM	1
N.D.N	Febre	NÃO	SIM	1
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
Febre	febre, náusea, sangramento gengival	NÃO	SIM	4
Febre	febre, dor, sangramento	NÃO	SIM	3
Febre	Febre	NÃO	SIM	2
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	Náusea	NÃO	SIM	1
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0

N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
sangramento gengival	febre, náusea, sangramento	NÃO	SIM	4
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
dor	Náusea	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	febre, dor	NÃO	SIM	1
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
dor	dor	NÃO	NÃO	0
febre	febre, dor	NÃO	SIM	1
sangramento gengival	febre, diarreia	NÃO	SIM	1
febre	febre, dor	NÃO	SIM	2
N.D.N	Náusea	NÃO	SIM	1
N.D.N	Náusea	NÃO	SIM	1
febre	febre, diarreia,	NÃO	SIM	3
febre	Febre	NÃO	NÃO	0
febre	febre, diarreia	NÃO	SIM	1
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
dor	Náusea	NÃO	NÃO	0
dor	Náusea	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	Febre	NÃO	NÃO	0
N.D.N	Náusea	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
N.D.N	Náusea	NÃO	NÃO	0
N.D.N	N.D.N	NÃO	NÃO	0
sangramento gengival	Náusea	NÃO	SIM	1

ESCALA DE CLASSIFICAÇÃO DA MUCOSITE

Grau 0: nenhum sinal e sintoma de mucosite

Grau 1: Irritação, dor e eritema

Grau 2: Eritema, úlceras, dificuldade para alimentar-se

Grau 3: Úlceras, requer dieta líquida

Grau 4 : Impossível a alimentação

11.3.2 Continuação das características clínicas dos pacientes

Pacientes	DIETA T2	TRATAMENTO	DENTISTA ULT.6 MESES	INTERV ENCÃO ODONT. PRÉVIA
1	1	0	SIM	NÃO
2	2	Bochecho de clorexidina	SIM	NÃO
3	1	0	SIM	NÃO
4	1	0	NÃO	NÃO
5	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	SIM
6	1	0	NÃO	NÃO
7	2	Bochecho de clorexidina+laser	SIM	NÃO
8	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	SIM
9	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	SIM
10	1	0	SIM	NÃO
11	3	Laser	SIM	NÃO
12	3	Laser	NÃO	NÃO
13	3	Bochecho de clorexidina+laser	SIM	NÃO
14	1	0	NÃO	SIM
15	2	Bochecho de clorexidina+nistatina	SIM	NÃO
16	1	0	SIM	SIM
17	1	0	NÃO	NÃO
18	3	Bochecho de clorexidina+laser	NÃO	NÃO
19	1	0	NÃO	SIM
20	1	0	NÃO	SIM
21	1	0	SIM	NÃO
22	1	0	NÃO	SIM
23	1	0	SIM	NÃO
24	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	SIM
25	1	0	NÃO	SIM
26	1	0	SIM	SIM
27	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	NÃO
28	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	NÃO
29	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	NÃO
30	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	SIM
31	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	NÃO
32	3	Bochecho de clorexidina+laser	NÃO	NÃO

33	1	0	NÃO	NÃO
34	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	NÃO
35	1	0	NÃO	NÃO
36	1	0	NÃO	SIM
37	1	0	NÃO	SIM
38	1	0	NÃO	SIM
39	1	0	NÃO	NÃO
40	1	0	NÃO	SIM
41	1	0	SIM	SIM
42	1	0	NÃO	NÃO
43	1	0	SIM	SIM
44	1	0	NÃO	SIM
45	1	0	NÃO	SIM
46	2	Bochecho de clorexidina	NÃO	NÃO

LEGENDA DA DIETA

1. Dieta oral livre
2. Dieta oral Pastosa
3. Dieta oral líquida
4. Dieta por sonda nasogástrica
5. Dieta parenteral

11.3.3 Características clínicas em relação a saúde bucal antes da quimioterapia (tempo 1) dos pacientes internados no HEMOAM.

Pacientes	CÁRIE T1	PLACA BACTERIANA T1	GENGIVITE T1	PERIODONTITE T1
1	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
2	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
3	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
4	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
5	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
6	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
7	NÃO	NÃO	NÃO	SIM
8	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
9	SIM	NÃO	SIM	NÃO
10	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO

11	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
12	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
13	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
14	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
15	SIM	NÃO	SIM	NÃO
16	NÃO	SIM	SIM	NÃO
17	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
18	SIM	SIM	SIM	NÃO
19	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
20	NÃO	NÃO	SIM	NÃO
21	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
22	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
23	SIM	SIM	NÃO	NÃO
24	SIM	SIM	SIM	NÃO
25	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
26	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
27	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
28	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
29	SIM	SIM	SIM	NÃO
30	SIM	SIM	SIM	NÃO
31	SIM	SIM	NÃO	NÃO
32	SIM	SIM	NÃO	NÃO
33	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
34	SIM	SIM	NÃO	NÃO
35	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
36	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
37	NÃO	SIM	SIM	NÃO
38	NÃO	SIM	SIM	NÃO
39	NÃO	SIM	SIM	NÃO
40	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
41	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
42	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
43	NÃO	SIM	NÃO	SIM

44	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
45	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
46	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO

11.3.3 Características clínicas em relação a saúde bucal pós quimioterapia (tempo 2) dos pacientes internados no HEMOAM.

Pacientes	Cárie T2	P.bacteriana T2	Gengivite T2	Periodontite T2
1	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
2	SIM	SIM	NÃO	NÃO
3	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
4	SIM	SIM	SIM	NÃO
5	SIM	SIM	SIM	NÃO
6	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
7	SIM	SIM	SIM	SIM
8	SIM	SIM	SIM	NÃO
9	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
10	NAO	NÃO	NÃO	NÃO
11	SIM	SIM	SIM	NÃO
12	SIM	SIM	SIM	NÃO
13	SIM	SIM	SIM	NÃO
14	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
15	SIM	SIM	SIM	NÃO
16	NÃO	SIM	SIM	NÃO
17	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
18	SIM	SIM	SIM	NÃO
19	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
20	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
21	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
22	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
23	SIM	SIM	SIM	NÃO
24	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
25	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
26	SIM	SIM	SIM	NÃO
27	SIM	SIM	SIM	NÃO
28	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
29	SIM	SIM	SIM	NÃO
30	SIM	SIM	SIM	NÃO
31	SIM	SIM	SIM	NÃO

32	SIM	SIM	SIM	NÃO
33	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
34	SIM	SIM	NÃO	NÃO
35	SIM	SIM	SIM	NÃO
36	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
37	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
38	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
39	SIM	SIM	NÃO	NÃO
40	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
41	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
42	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
43	NÃO	SIM	SIM	SIM
44	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
45	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
46	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO

11.3.4 Características hematológicas dos pacientes leucêmicos internados no HEMOAM em tratamento quimioterápico.

Pacientes	Hemoglobina	Plaqueta	Leucócito	Neutrófilo
1	9.2g/dl	131.000/mm ³	7.885/mm ³	3.459/mm ³
2	5.8g/dl	67.048/mm ³	15.700/mm ³	4.100/mm ³
3	7.7g/dl	119.00/mm ³	9.500/mm ³	2.900/mm ³
4	8.3g/dl	107.223/mm ³	6.888/mm ³	1.192/mm ³
5	7.1g/dl	68.009/mm ³	8.207/mm ³	3.915/mm ³
6	7.8g/dl	67.845/mm ³	8.095/mm ³	3.697/mm ³
7	5.6 g/dl	85.000/mm ³	2.800/mm ³	1200/mm ³
8	9.5g/dl	122.085/mm ³	22.943/mm ³	8.024/mm ³
9	9.9g/dl	85.312/mm ³	39.402/mm ³	12.521/mm ³
10	11.1g/dl	145.886/mm ³	8.367/mm ³	4.234/mm ³
11	6.8 g/dl	79.000/mm ³	3.200/mm ³	800/mm ³
12	5.3g/dl	94.000/mm ³	4.325/mm ³	2.111/mm ³
13	4.9g/dl	102.323/mm ³	34.715/mm ³	2.510/mm ³
14	10.8g/dl	156.715/mm ³	7.230/mm ³	2214/mm ³
15	9.3g/dl	83.136/mm ³	37.756/mm ³	11.800/mm ³
16	9.9g/dl	122.200/mm ³	7.123/mm ³	2.088/mm ³
17	8.5g/dl	73.000/mm ³	12.239/mm ³	5.100/mm ³
18	4.8g/dl	39.000/mm ³	1.300/mm ³	800/mm ³
19	6.6g/dl	103.756/mm ³	28.143/mm ³	6.423/mm ³
20	10.3g/dl	123.321/mm ³	16.211/mm ³	8.521/mm ³

21	9.1g/dl	64.020/mm ³	9.401/mm ³	2679/mm ³
22	11.4g/dl	147.10/mm ³	53.123/mm ³	17.900/mm ³
23	8.7g/dl	88.788/mm ³	25.100/mm ³	10.006/mm ³
24	7.0g/dl	37.405/mm ³	56.670/mm ³	27.200/mm ³
25	10.9g/dl	138.509/mm ³	9.035/mm ³	4.100/mm ³
26	10.3g/dl	122.980/mm ³	8.698/mm ³	3.650/mm ³
27	6.5g/dl	56.400/mm ³	63.100/mm ³	19.423/mm ³
28	7.2g/dl	16.376/mm ³	44.654/mm ³	16.045/mm ³
29	5.9g/dl	22.100/mm ³	2.576/mm ³	400/mm ³
30	11.8g/dl	179.054/mm ³	27.233/mm ³	13.032/mm ³
31	11.0g/dl	134.900/mm ³	23.200/mm ³	5.876/mm ³
32	8.2g/dl	125.082/mm ³	5.548/mm ³	3.100/mm ³
33	9.4g/dl	76.755/mm ³	32.790/mm ³	14.399/mm ³
34	5.9g/dl	63.698/mm ³	17.344/mm ³	12.300/mm ³
35	10.9g/dl	143.034/mm ³	14.211/mm ³	9.111/mm ³
36	7,7g/dl	92.000/mm ³	47.577/mm ³	18.311/mm ³
37	9.5g/dl	145.100/mm ³	47.200/mm ³	13.300/mm ³
38	8.6g/dl	55.390/mm ³	23200/mm ³	8.190/mm ³
39	4.5g/dl	17.040/mm ³	9.200/mm ³	2.854/mm ³
40	6.7g/dl	48.390/mm ³	26.344/mm ³	3.008/mm ³
41	4.8g/dl	17.032/mm ³	9.690/mm ³	2.510/mm ³
42	11.4g/dl	139.300/mm ³	16.211/mm ³	7.456/mm ³
43	10.8g/dl	152.00/mm ³	6.700/mm ³	1.976/mm ³
44	10.4g/dl	124.643/mm ³	6.280/mm ³	2.000/mm ³
45	9.7g/dl	112.060/mm ³	8.345.mm ³	1.300/mm ³
46	8.0g/dl	28.000/mm ³	1906/mm ³	702/mm ³

11.3.5 Características microbiológicas dos pacientes internados no HEMOAM antes (T1) e após (T2) a quimioterapia.

	Staphylococcus aureus		Pseudomonas aeruginosa	
	T1	T2	T1	T2
1	0	0	0	0
2	0	0	1	0
3	0	0	1	1
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	1	1	0	0
8	0	0	0	1
9	1	1	0	0
10	0	0	0	0
11	1	1	0	0
12	0	1	0	1
13	1	1	0	0
14	0	0	0	0
15	0	1	0	0
16	1	0	0	0
17	0	0	1	0
18	0	1	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	1
21	0	0	1	0
22	1	1	0	0
23	0	0	0	0
24	0	1	0	0
25	1	1	0	0
26	0	0	0	0
27	0	1	0	0
28	1	0	0	1
29	0	1	0	1
30	0	1	0	0
31	0	1	0	0
32	0	1	0	0
33	0	0	0	0
34	0	1	0	1
35	0	0	0	0
36	0	0	1	1

37	0	0	0	0
38	0	0	0	0
39	0	0	0	0
40	1	0	0	0
41	0	1	0	1
42	1	1	0	0
43	0	0	0	0
44	1	1	0	0
45	0	0	0	0
46	0	1	0	0

Legenda:

0 : ausente

1: presente

11.4 RESULTADOS DA PCR CONVENCIONAL PARA AS BACTÉRIAS STAPHYLOCOCCUS AUREUS (TEMPO 1)

Atividade: Eletroforese da PCR

Amostras: 28, 40,

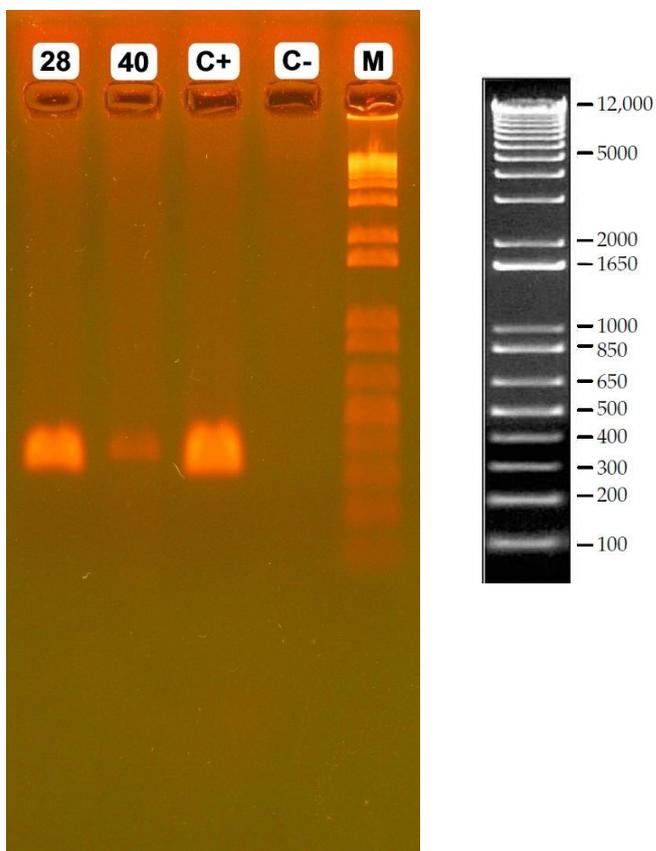
Código do Gel: gel_7 ou gel_7b (após 3 horas)

- **C+:** controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 h e 30 min à 60 V, 400 de corrente.



Código: gel_9

Protocolo da PCR: 27

Protocolo da Eletroforese: 28

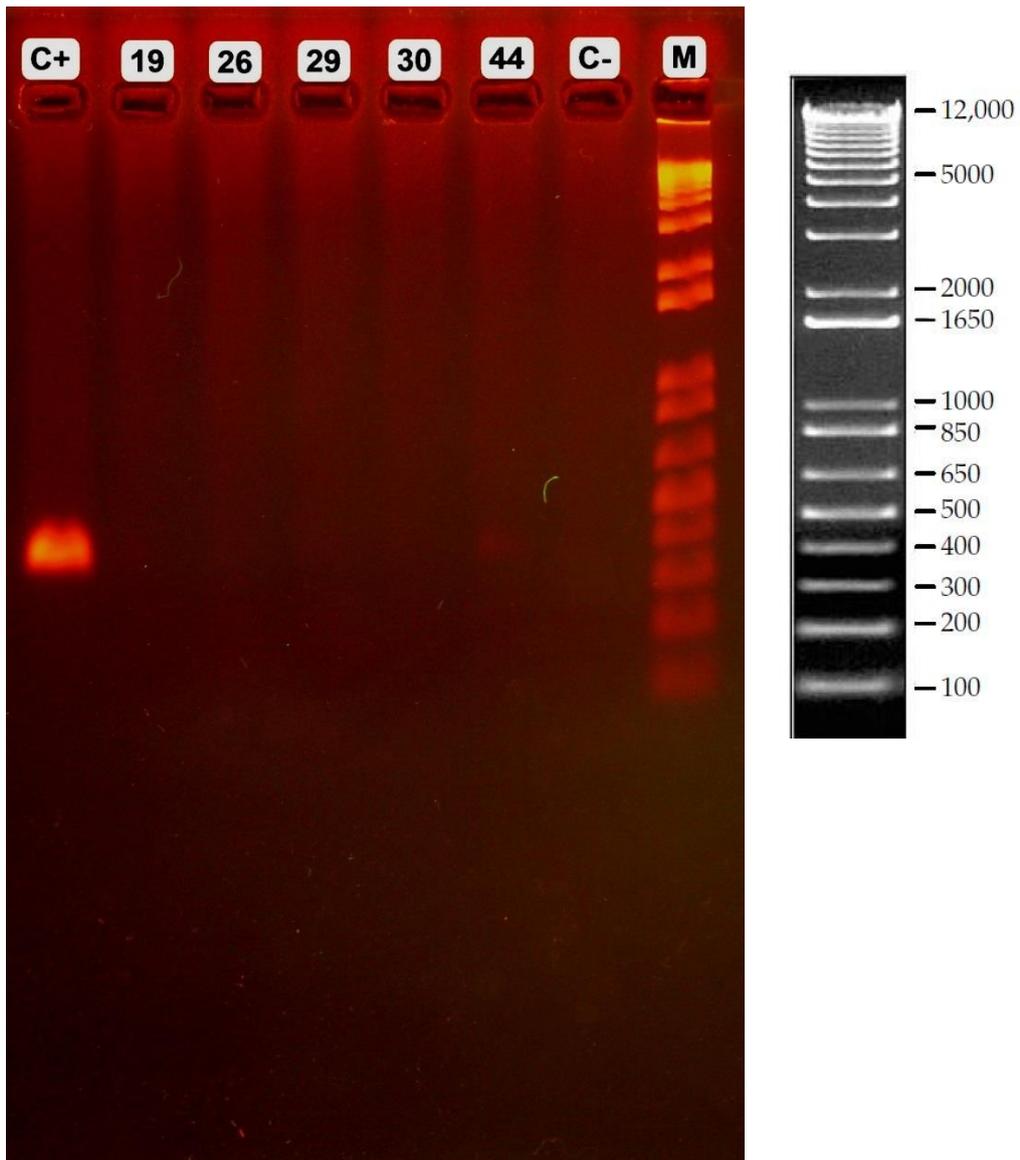
Amostras: 19, 26, 29, 30, 44

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de corrente.



Código: gel_10

Protocolo da PCR: 29

Protocolo da Eletroforese: 30

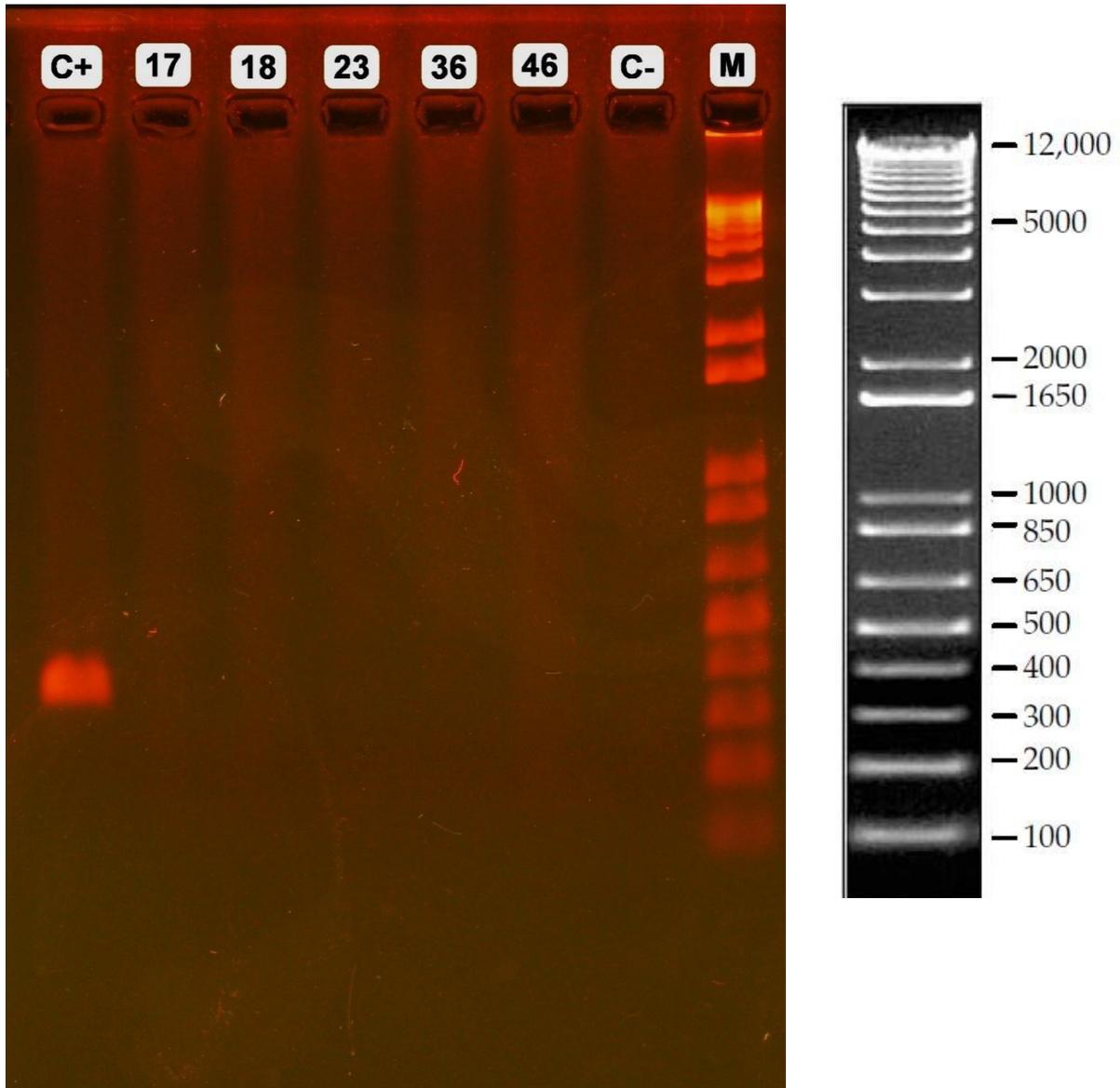
Amostras: 17, 18, 23, 36, 46

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de corrente.



Código: gel_12

Protocolo da PCR: 33

Protocolo da Eletroforese: 34

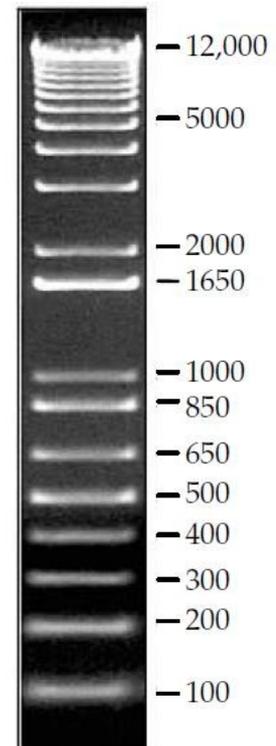
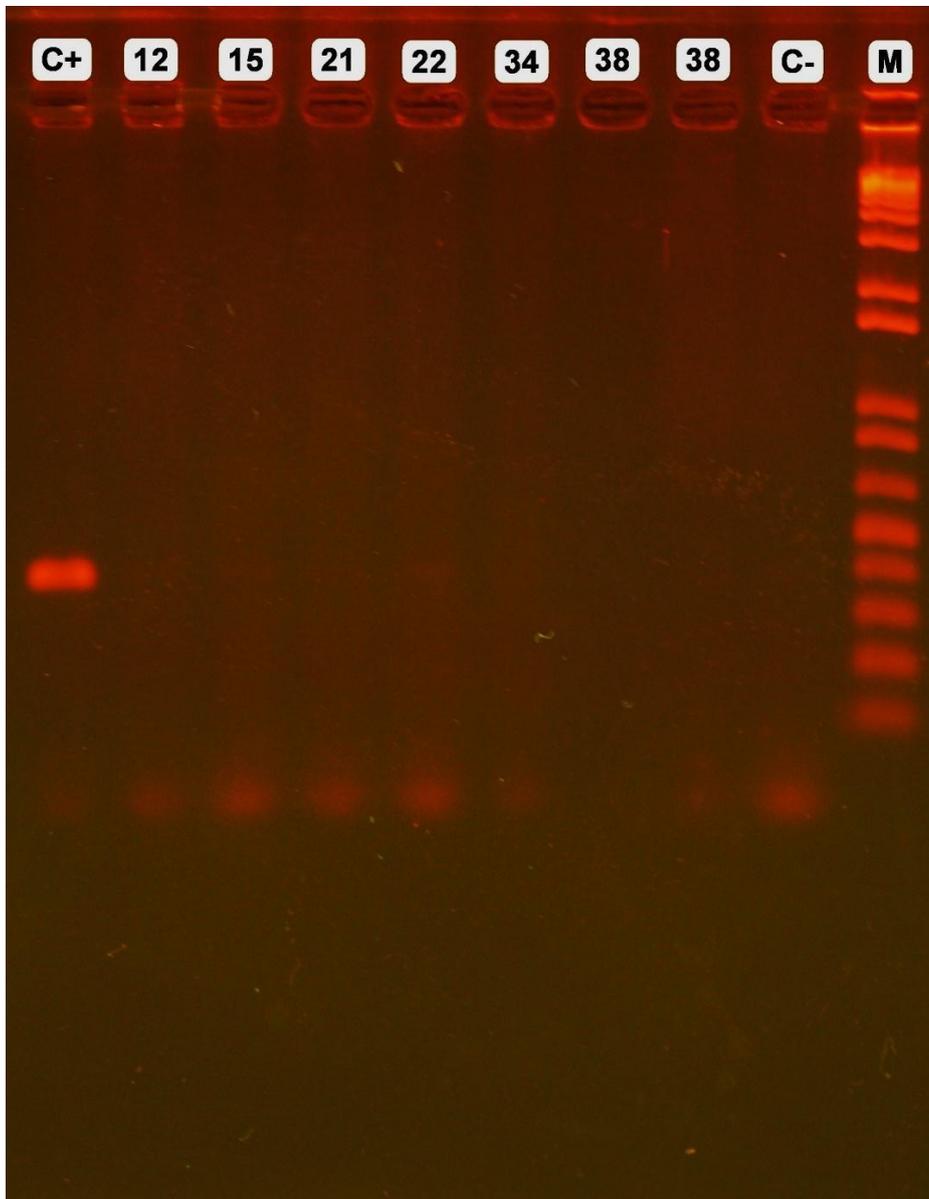
Amostras: 12, 15, 21, 22, 34, 38,

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de corrente.



Código: gel_13

Protocolo da PCR: 35

Protocolo da Eletroforese: 36

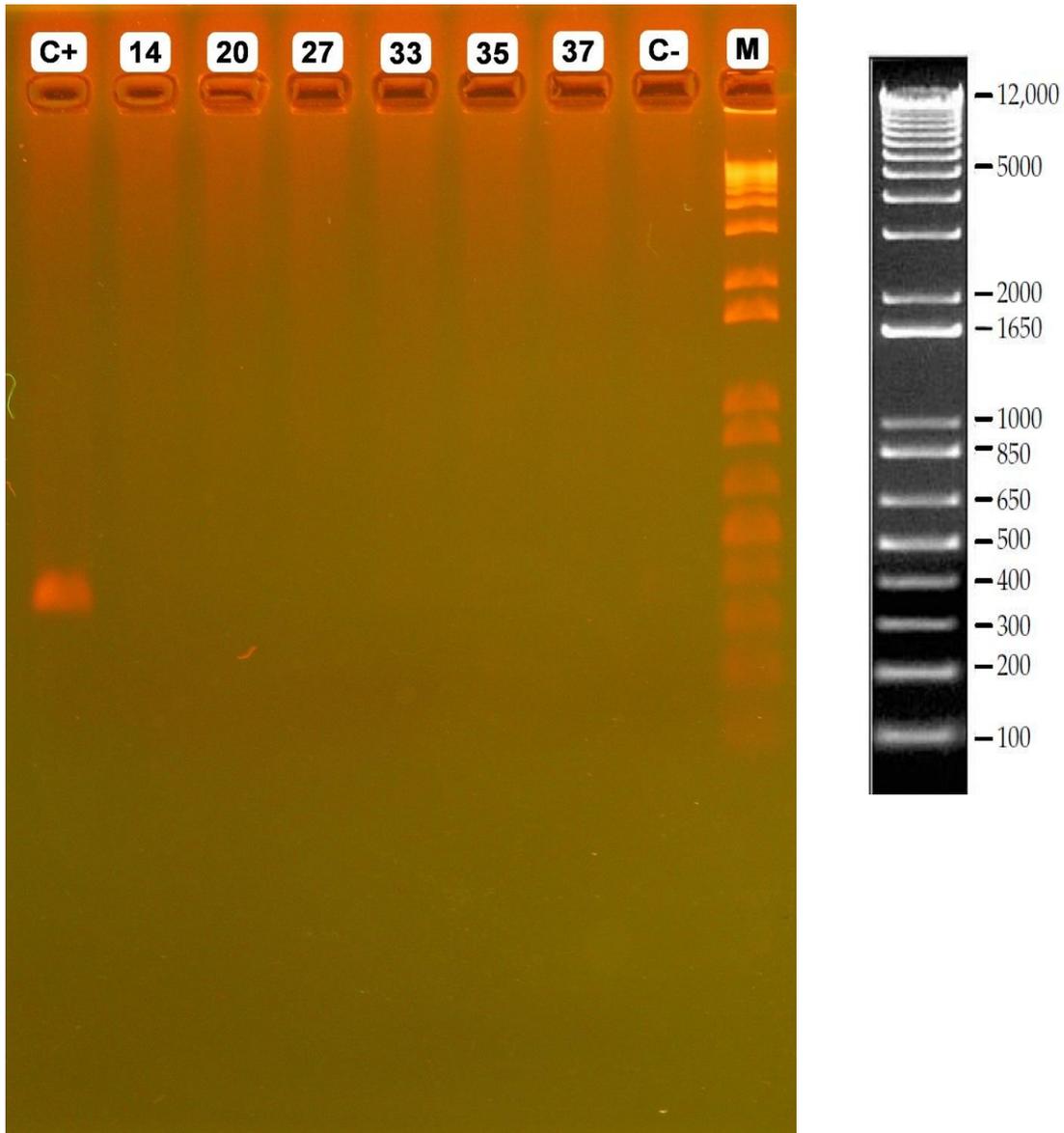
Amostras: 14, 20, 27, 33, 35, 37

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de corrente.



Código: gel_14

Protocolo da PCR: 37

Protocolo da Eletroforese: 38

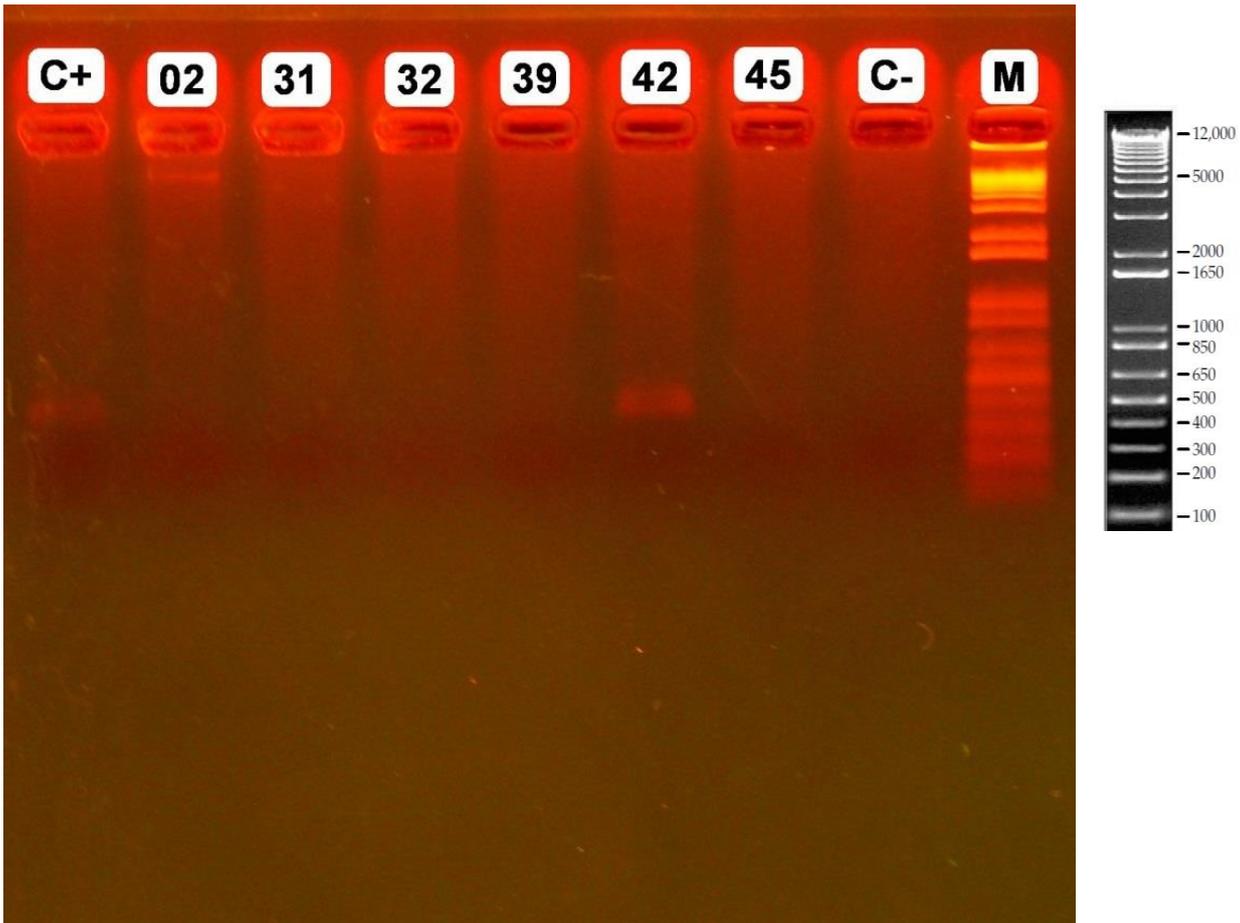
Amostras: 02, 31, 32, 39, 42, 45

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de



Código: gel_15

Protocolo da PCR: 39

Protocolo da Eletroforese: 40

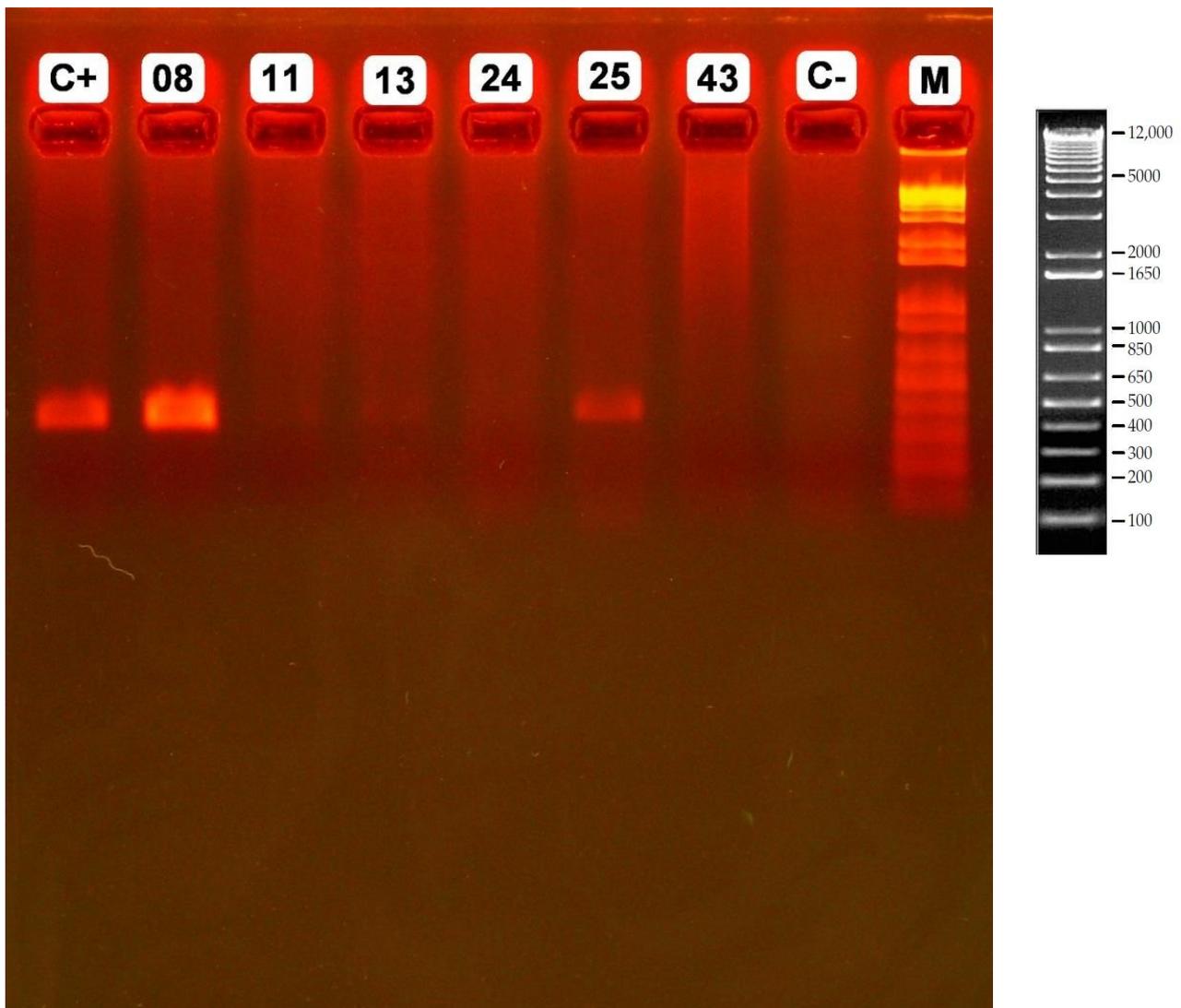
Amostras: 08, 11, 13, 24, 25, 43

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de corrente.



Código: gel_16

Protocolo da PCR: 41 e 42

Protocolo da Eletroforese: 43

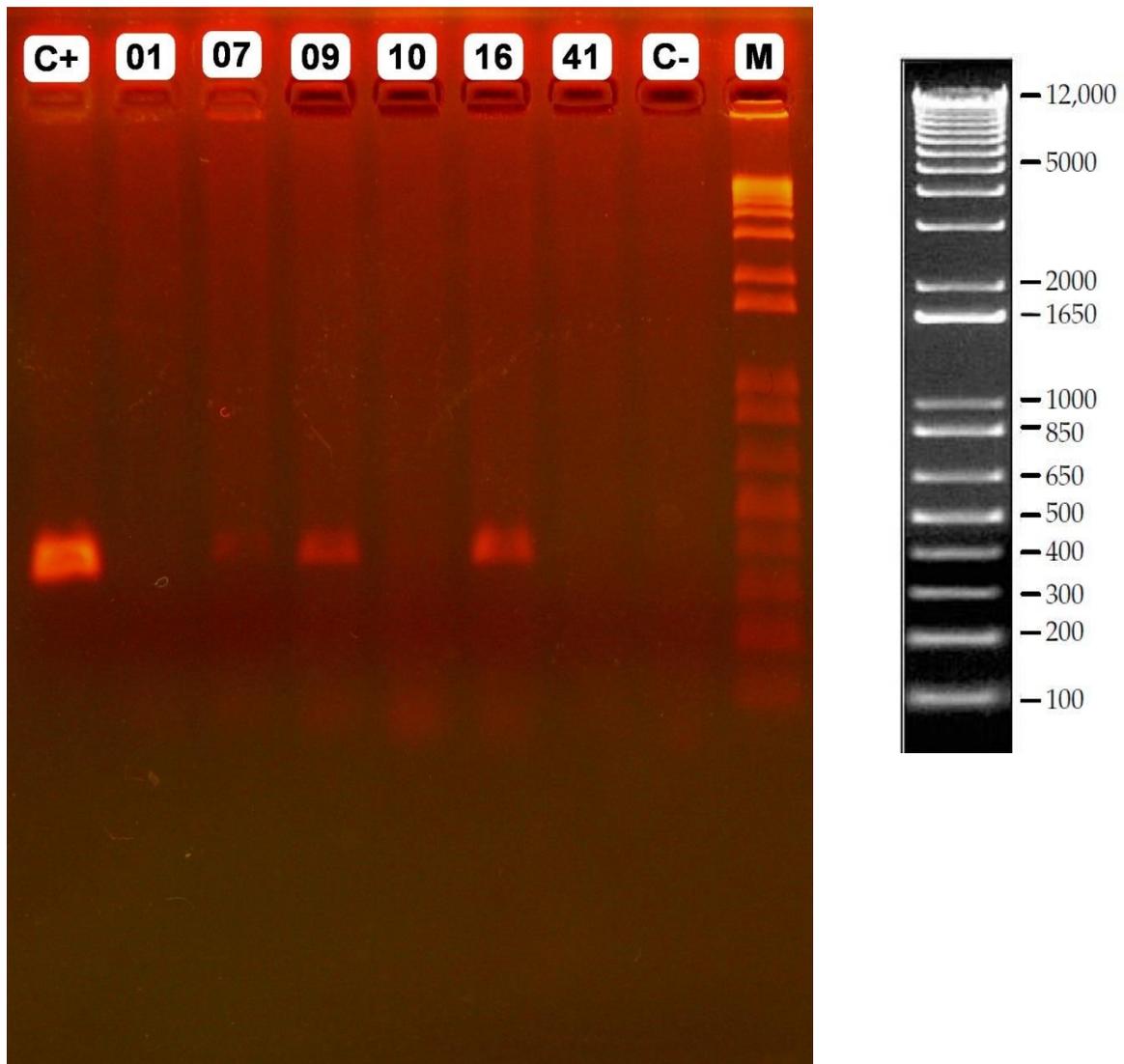
Amostras: 01, 07, 09, 10, 16, 41

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de corrente.



Código: gel_22

Protocolo da PCR: 55

Protocolo da Eletroforese: 56

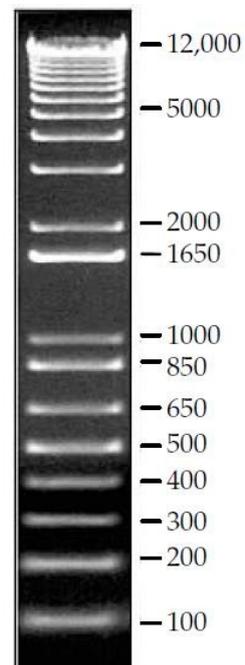
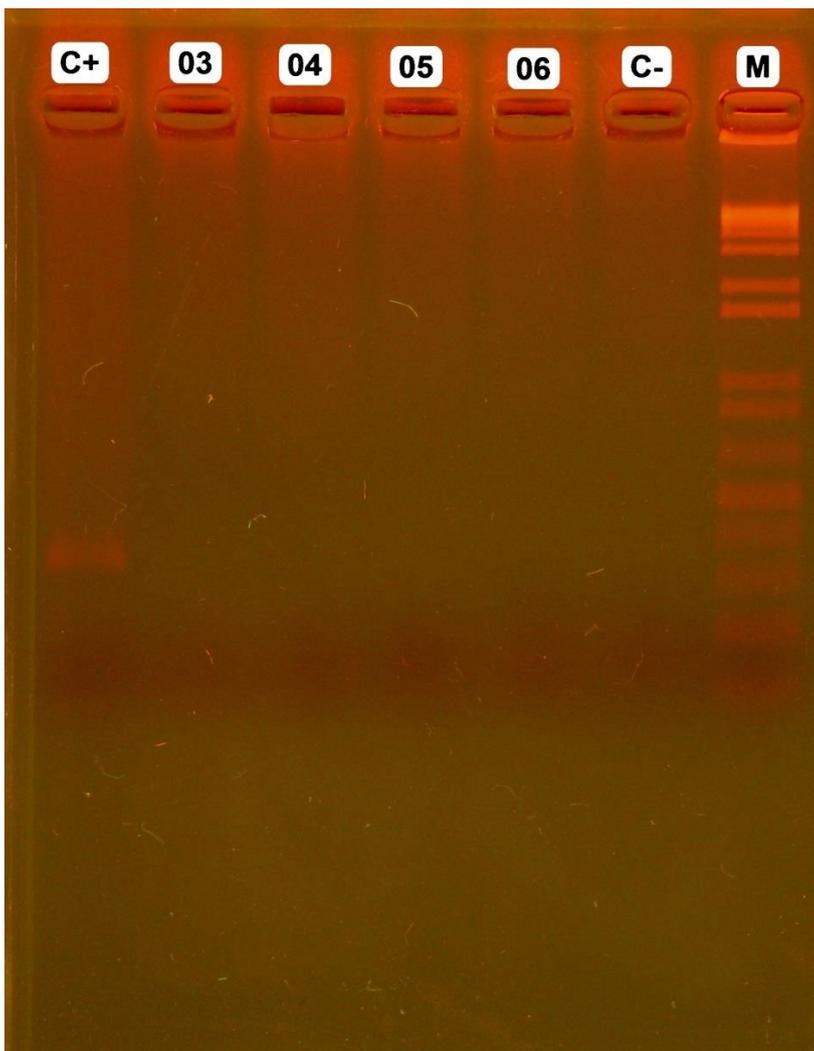
Amostras: 03,04,05,06

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 2 horas à 60 V, 400 de corrente



11.5 RESULTADOS DA PCR CONVENCIONAL PARA AS BACTÉRIAS STAPHYLOCOCCUS AUREUS (TEMPO 2)

Código: gel_17

Protocolo da PCR: 45

Protocolo da Eletroforese: 46

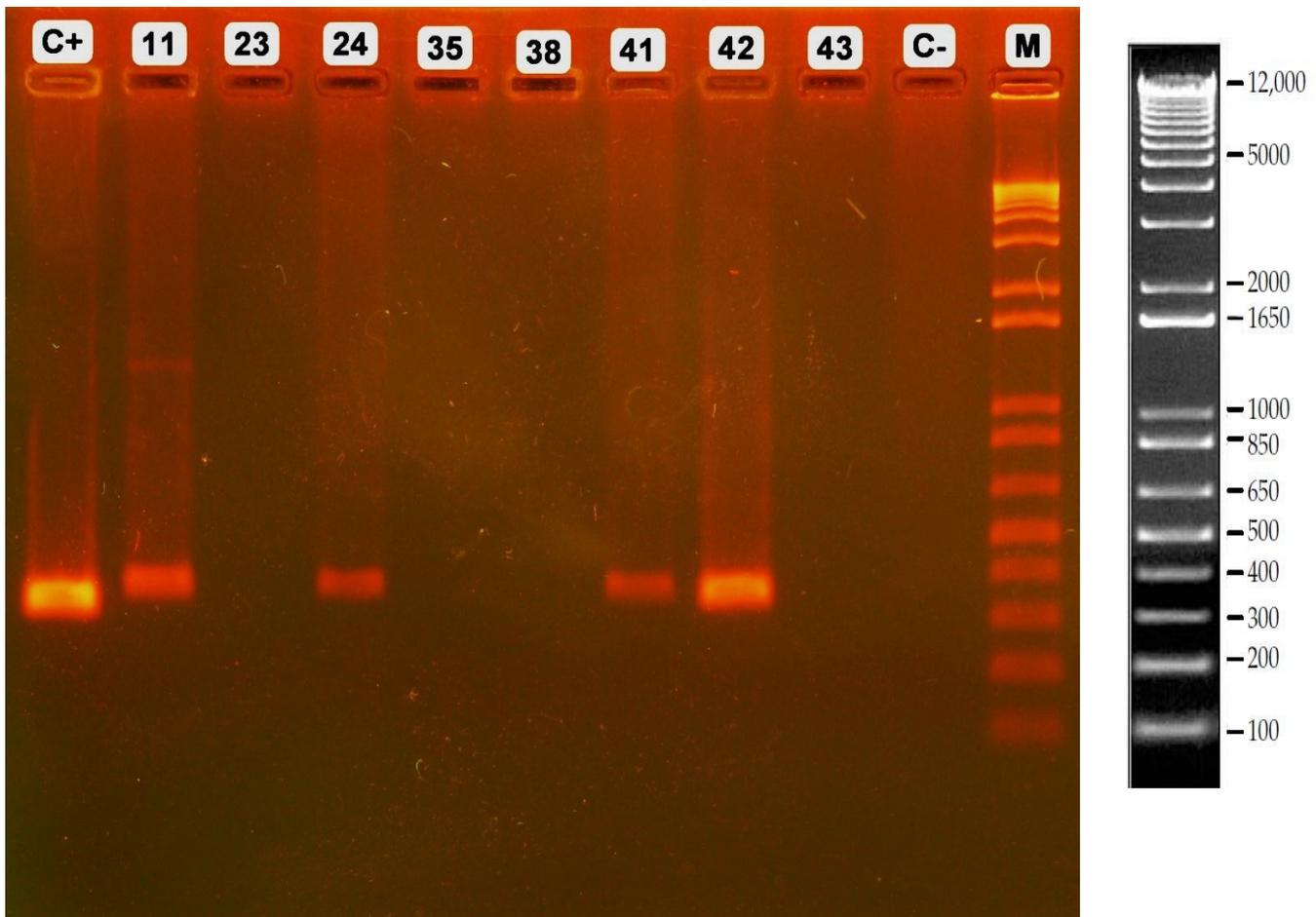
Amostras: 11, 23, 24, 35, 38, 41, 42, 43

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_18

Protocolo da PCR: 47

Protocolo da Eletroforese: 48

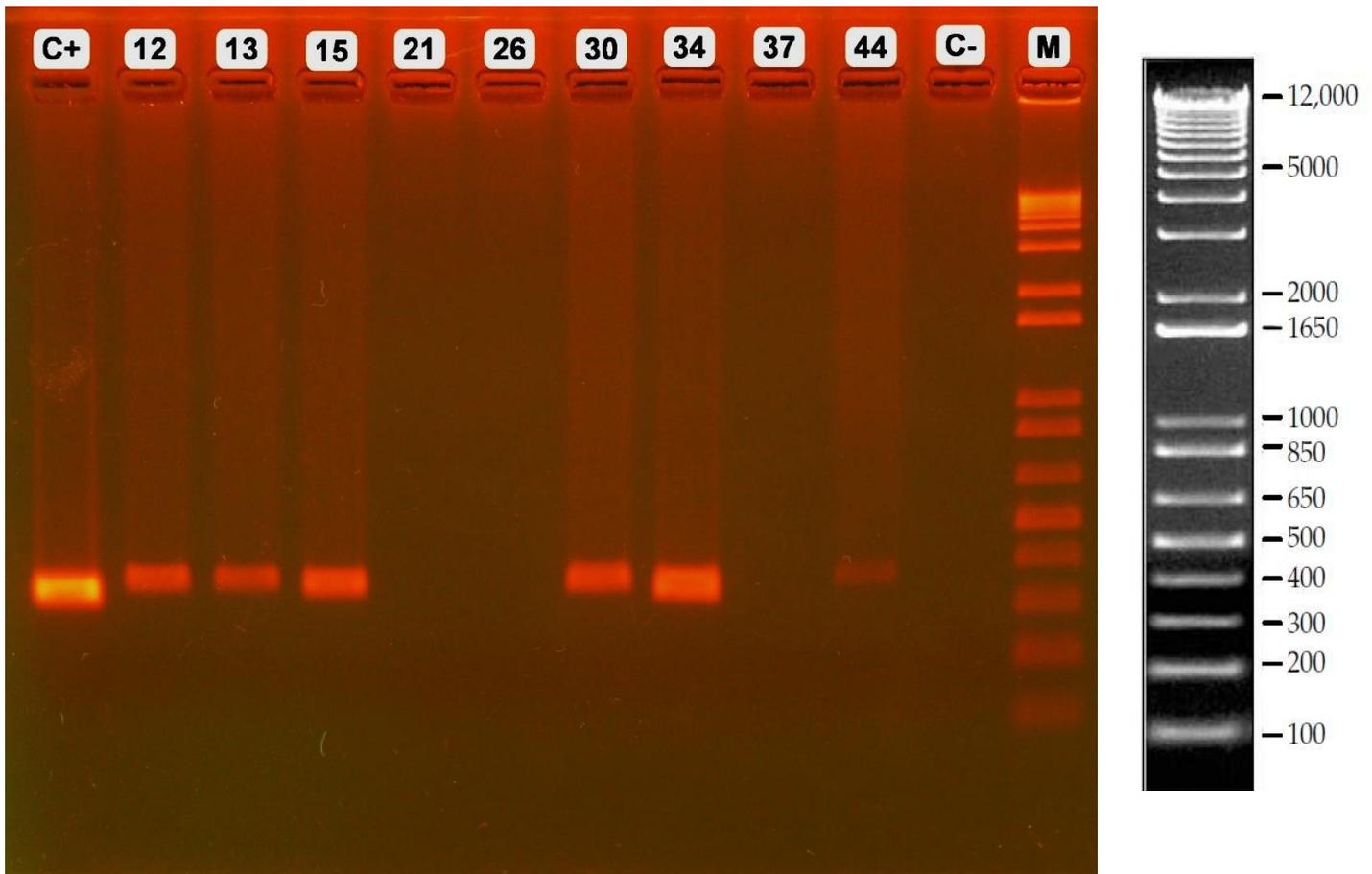
Amostras: 12, 13, 15, 21, 26, 30, 34, 37, 44

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_19

Protocolo da PCR: 49

Protocolo da Eletroforese: 50

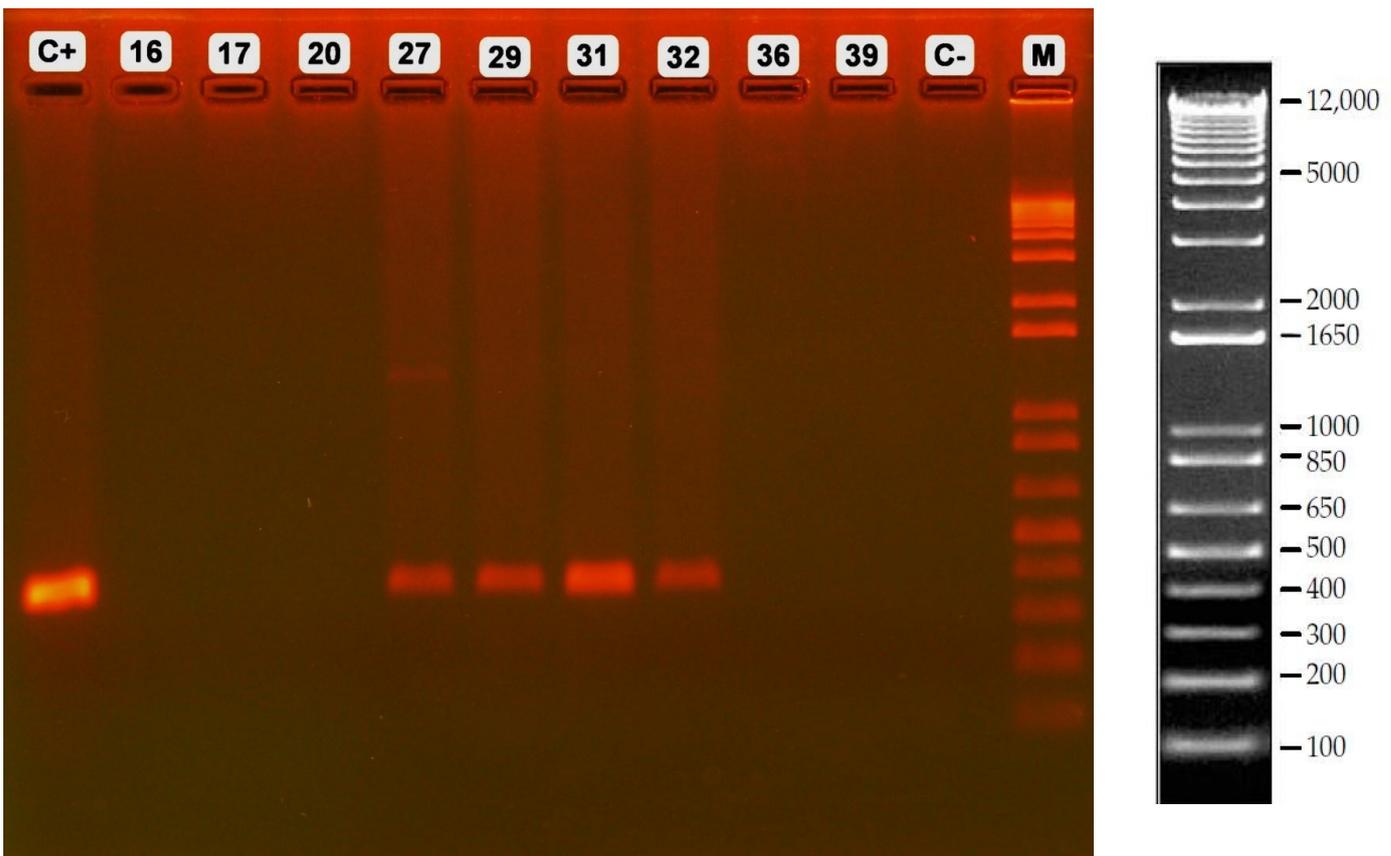
Amostras: 16, 17, 20, 27, 29, 31, 32, 36, 39

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_20

Protocolo da PCR: 51

Protocolo da Eletroforese: 52

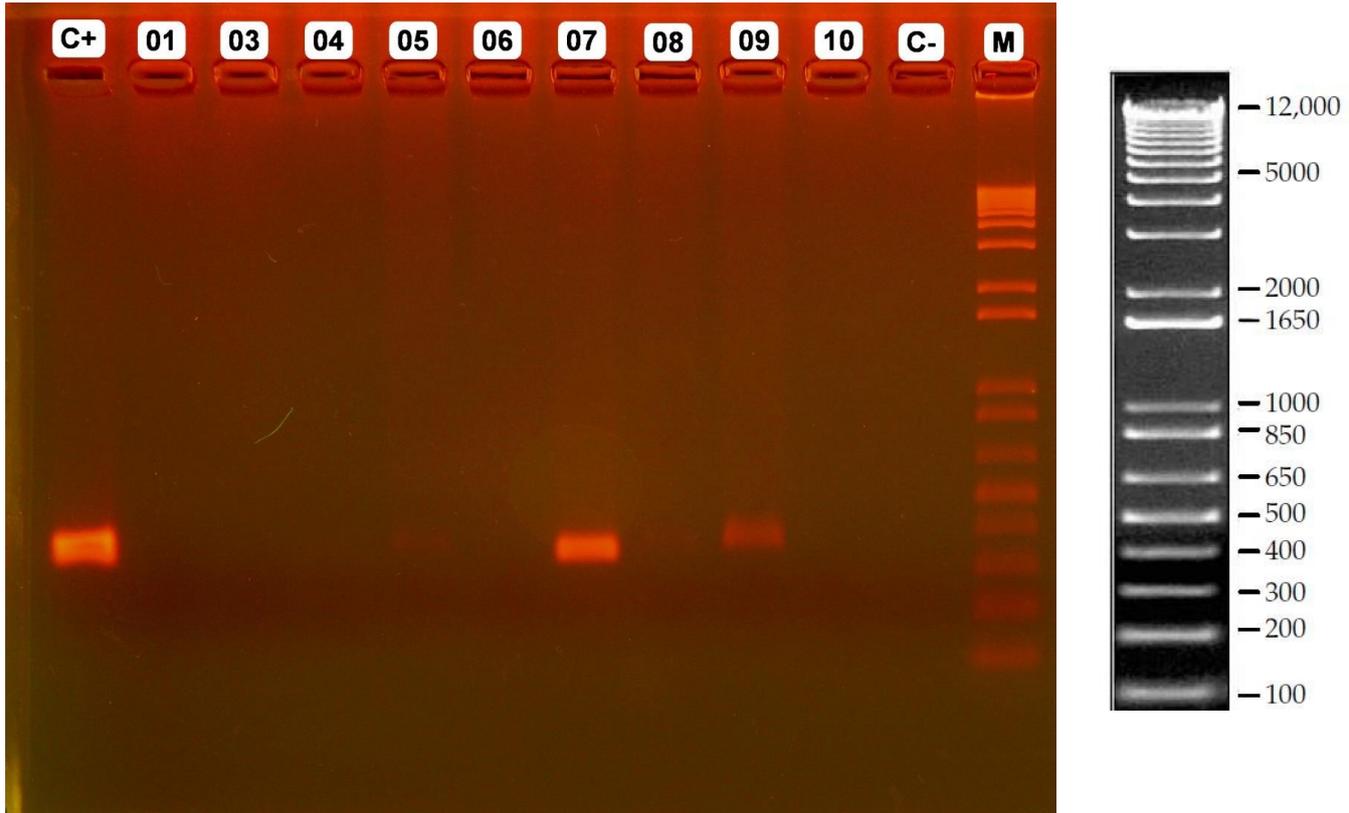
Amostras: 01,03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_21

Protocolo da PCR: 53

Protocolo da Eletroforese: 54

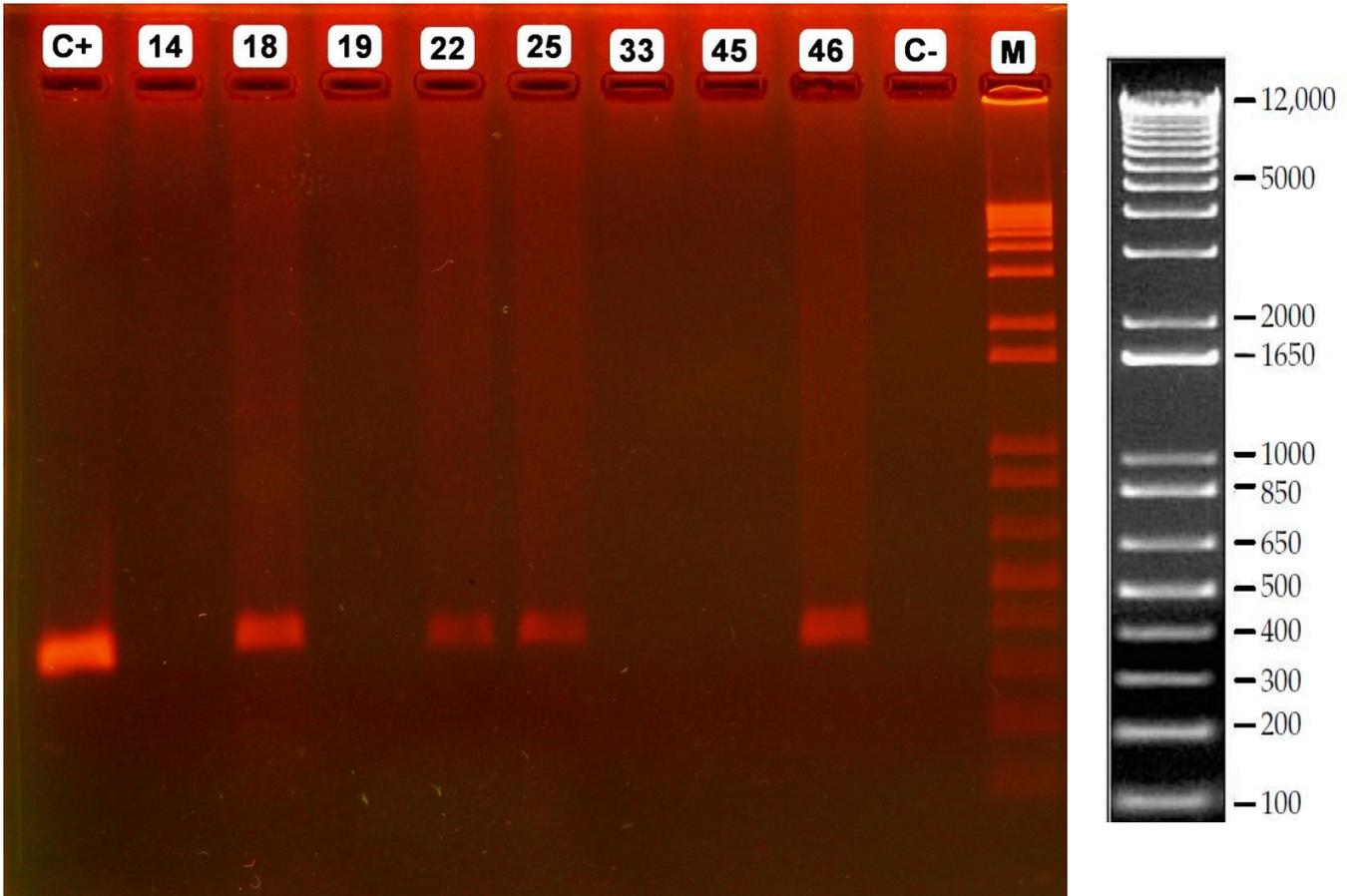
Amostras: 14, 18, 19, 22, 25, 33, 45, 46

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_23

Protocolo da PCR: 57

Protocolo da Eletroforese: 58

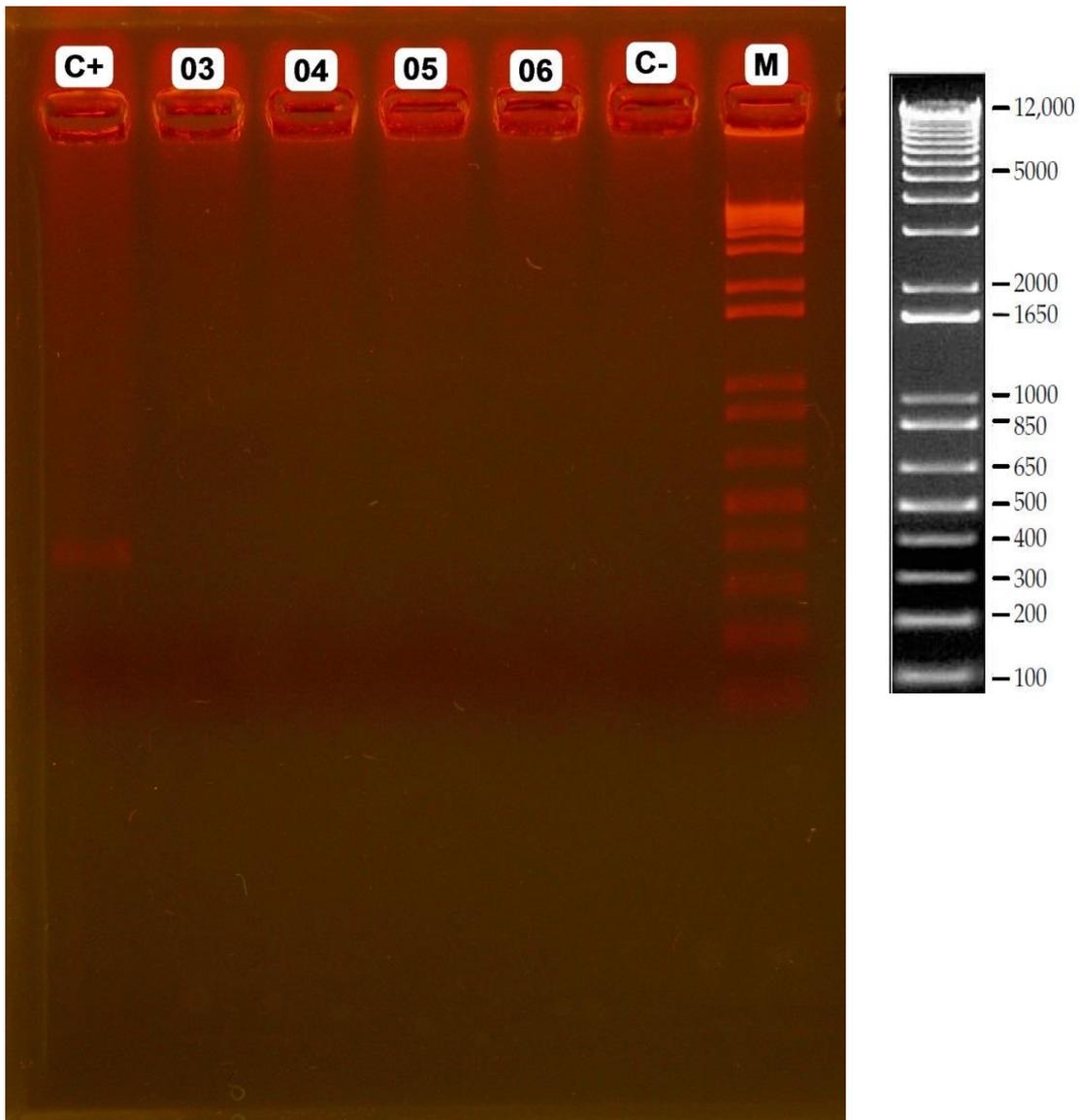
Amostras: 03, 04, 05, 06

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



11.6 RESULTADOS DA PCR CONVENCIONAL PARA AS BACTÉRIAS *Pseudomonas aeruginosa* (TEMPO 1)

Código: gel_25

Protocolo da PCR: 61

Protocolo da Eletroforese: 62

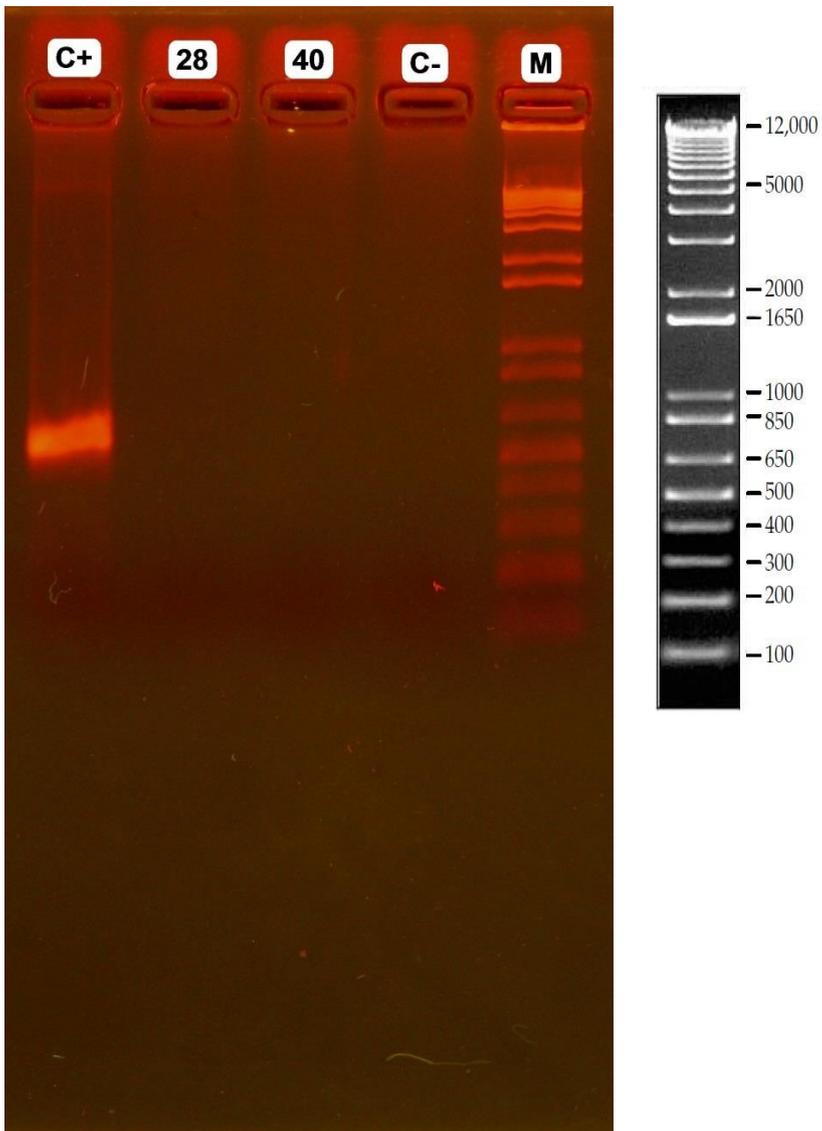
Amostras: 28, 40

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_26

Protocolo da PCR: 63

Protocolo da Eletroforese: 64

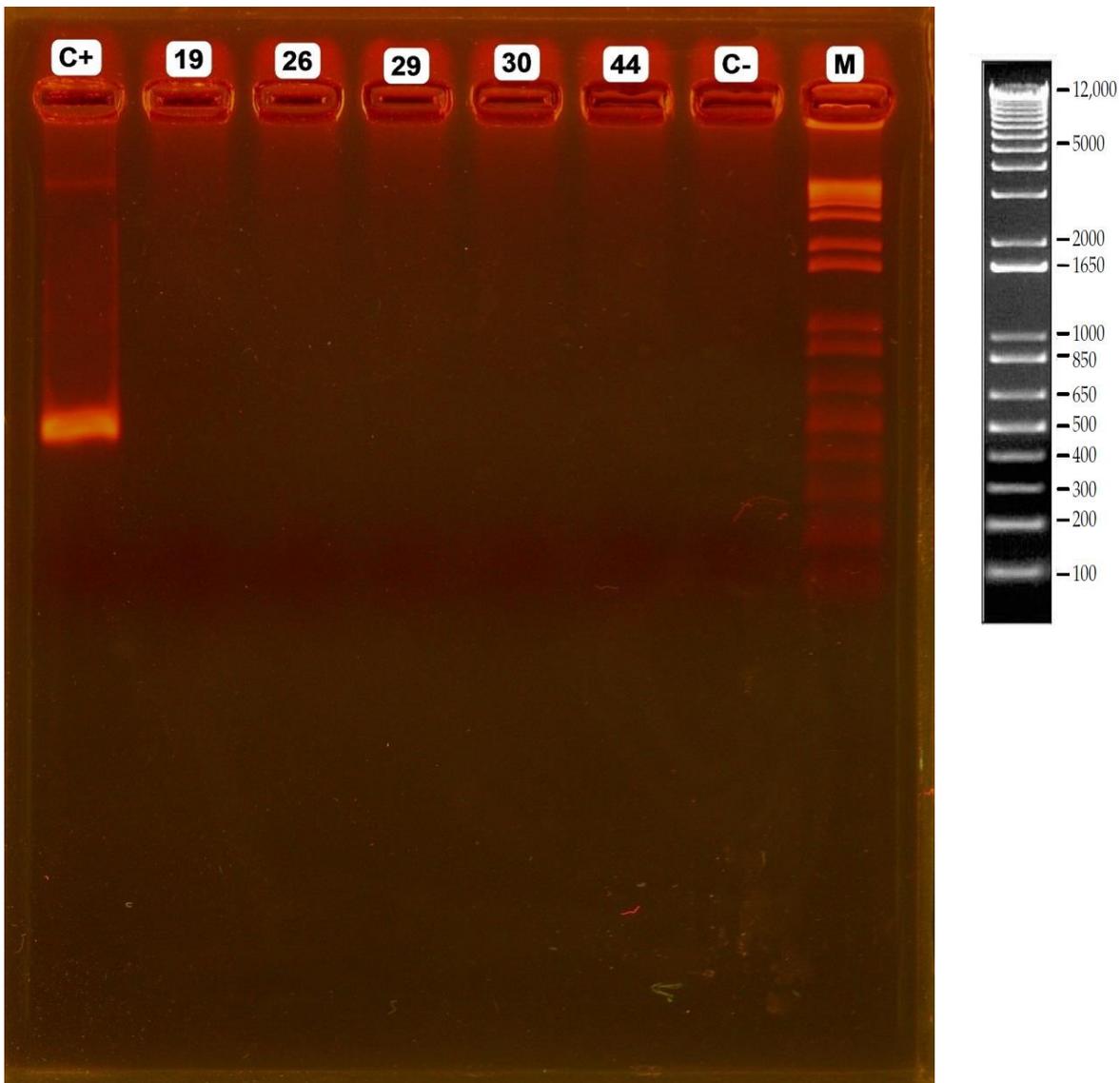
Amostras: 19, 26, 29, 30, 44

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_27

Protocolo da PCR: 65

Protocolo da Eletroforese: 66

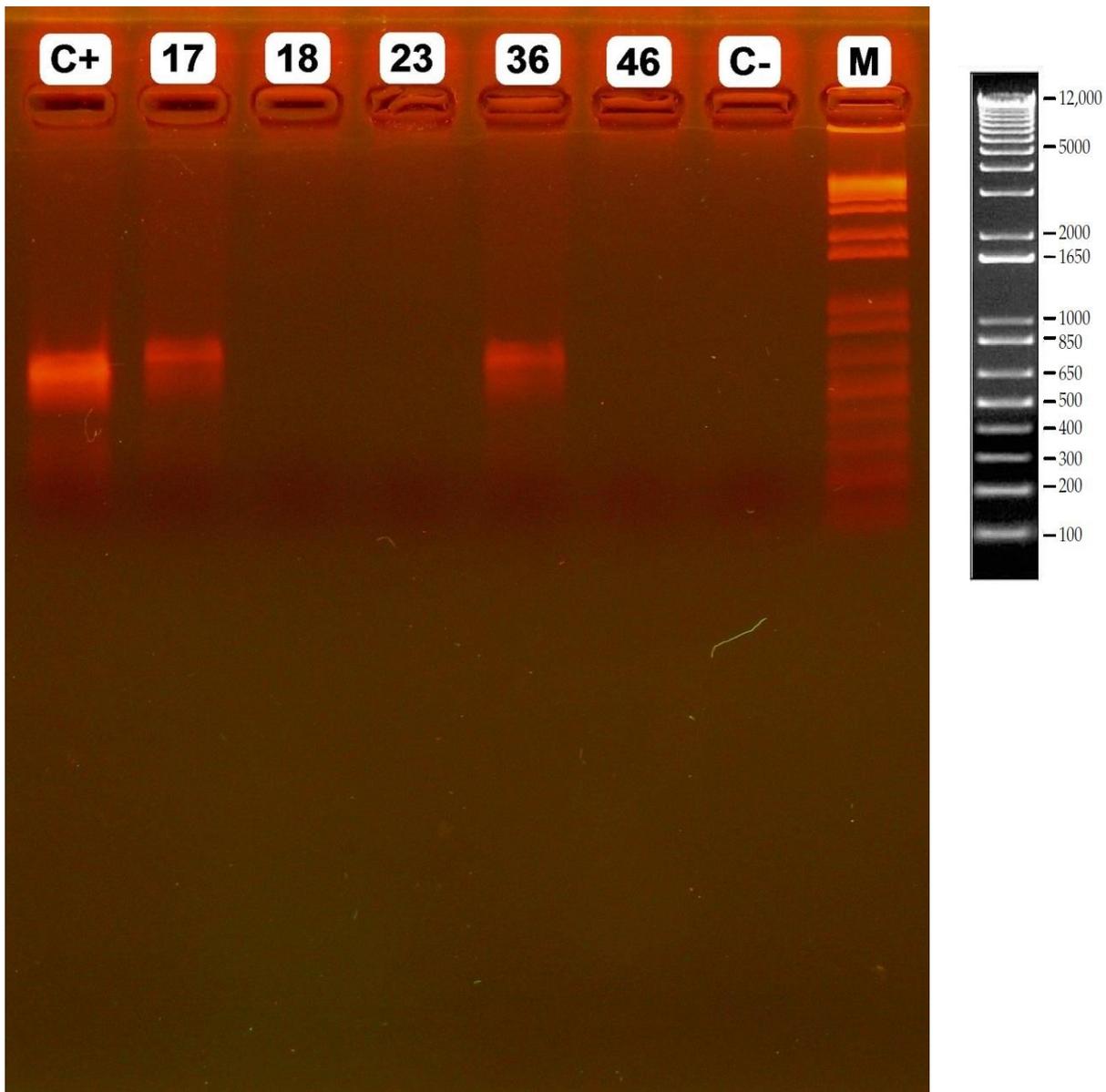
Amostras: 17, 18, 23, 36, 46

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_28

Protocolo da PCR: 67

Protocolo da Eletroforese: 68

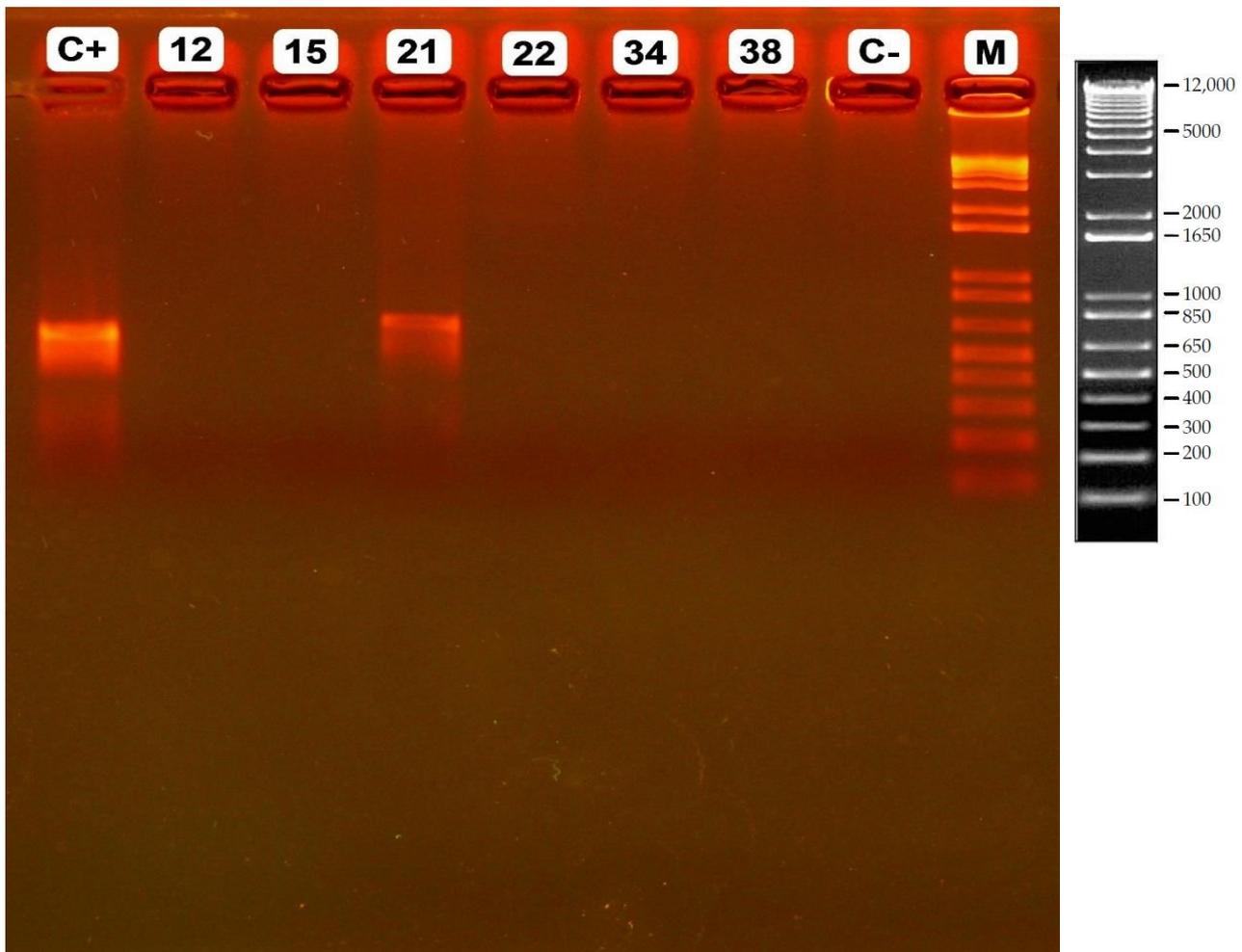
Amostras: 12, 15, 21, 22, 34, 38

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_29

Protocolo da PCR: 69

Protocolo da Eletroforese: 70

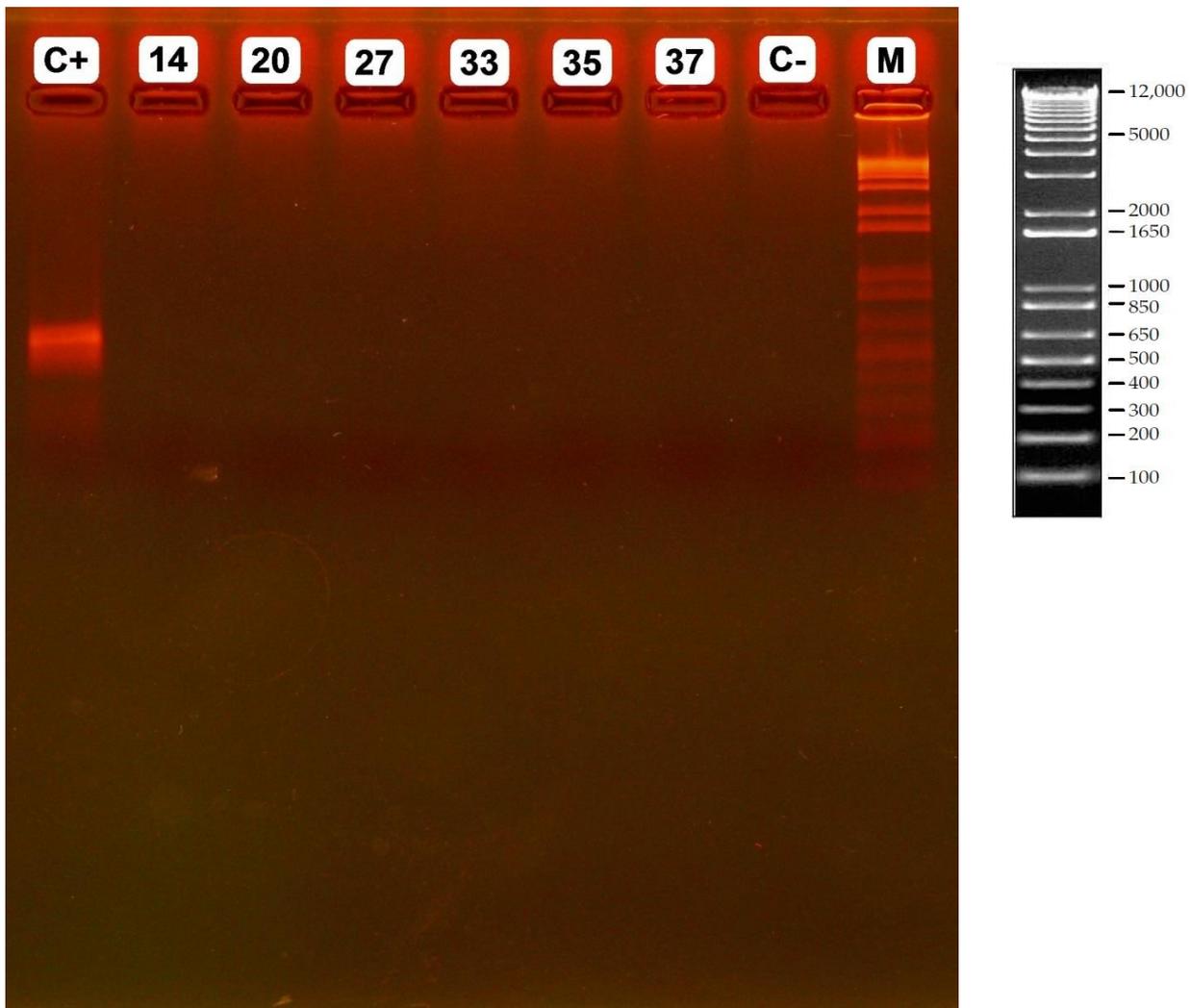
Amostras: 14, 20, 27, 33, 35, 37

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_30

Protocolo da PCR: 71

Protocolo da Eletroforese: 72

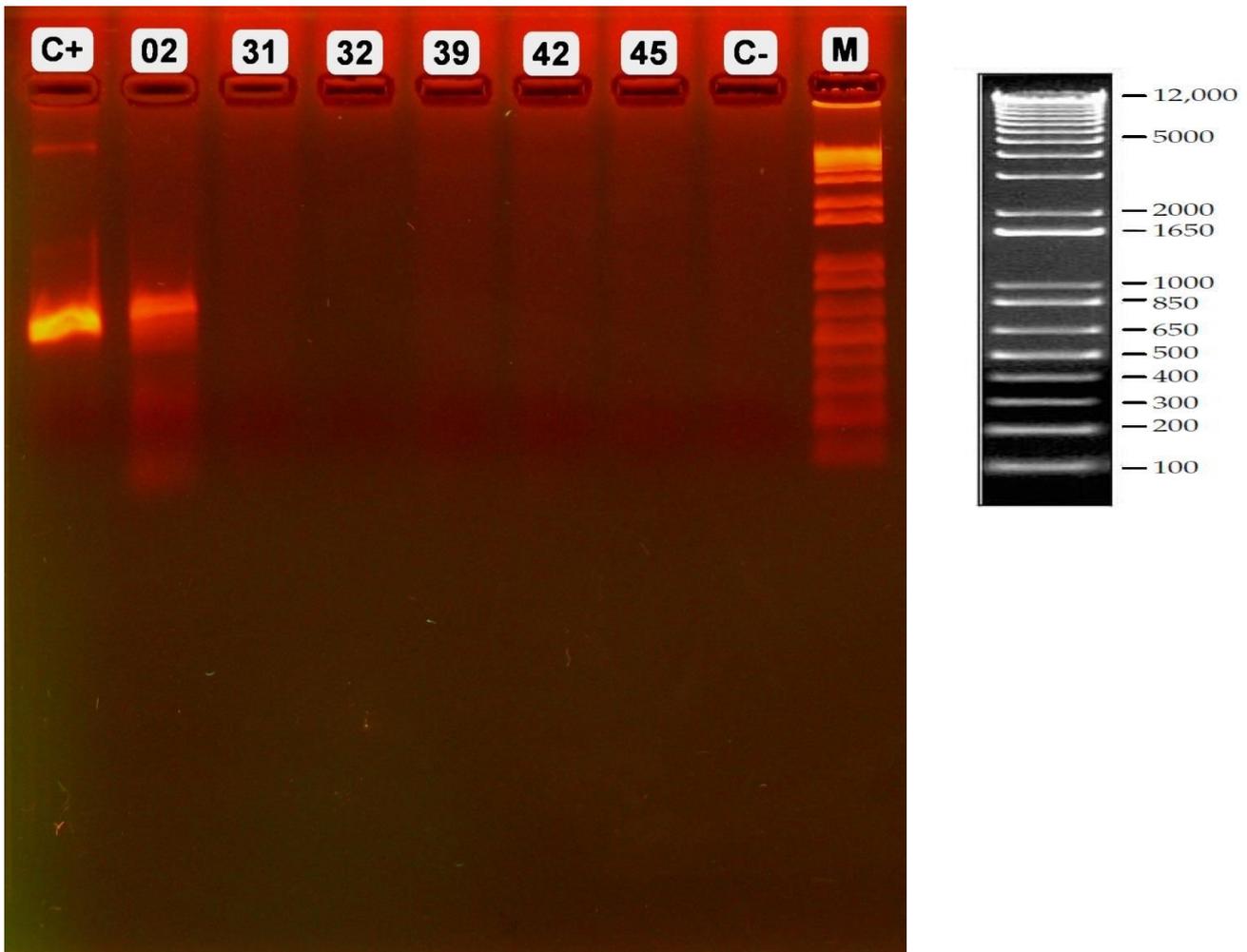
Amostras: 02, 31, 32, 39, 42, 45

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_31

Protocolo da PCR: 73

Protocolo da Eletroforese: 74

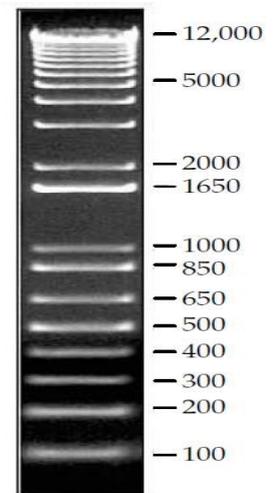
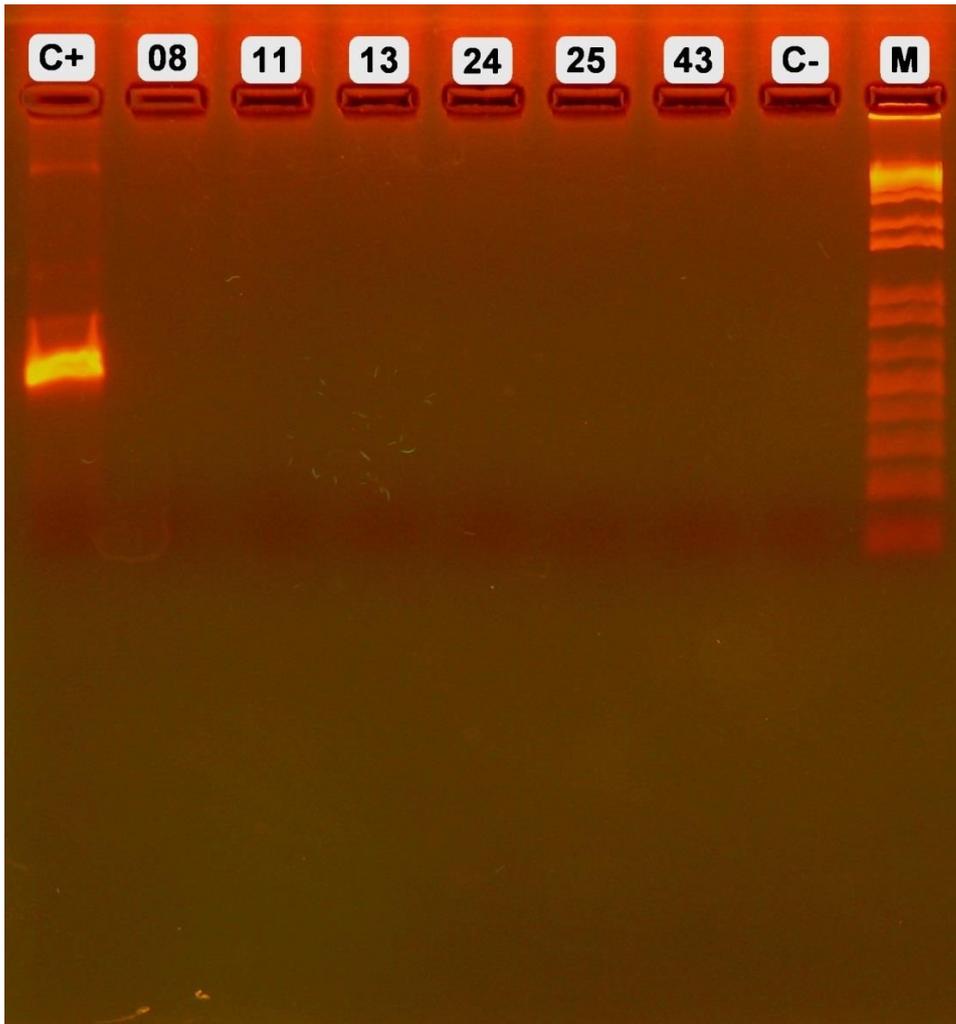
Amostras: 08, 11, 13, 24, 25, 43

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_32

Protocolo da PCR: 75

Protocolo da Eletroforese: 76

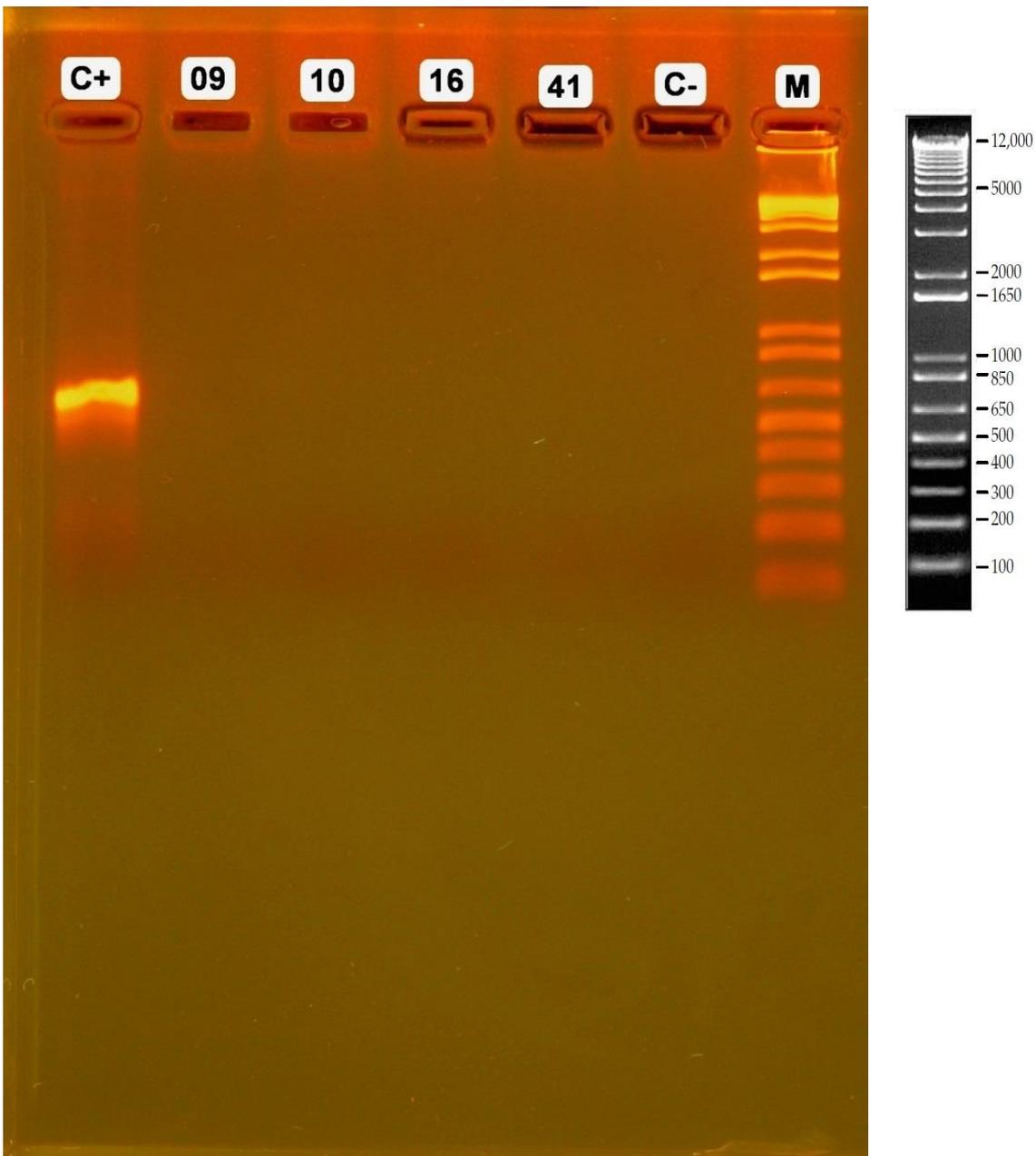
Amostras: 09, 10, 16, 41

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_33

Protocolo da PCR: 77

Protocolo da Eletroforese: 78

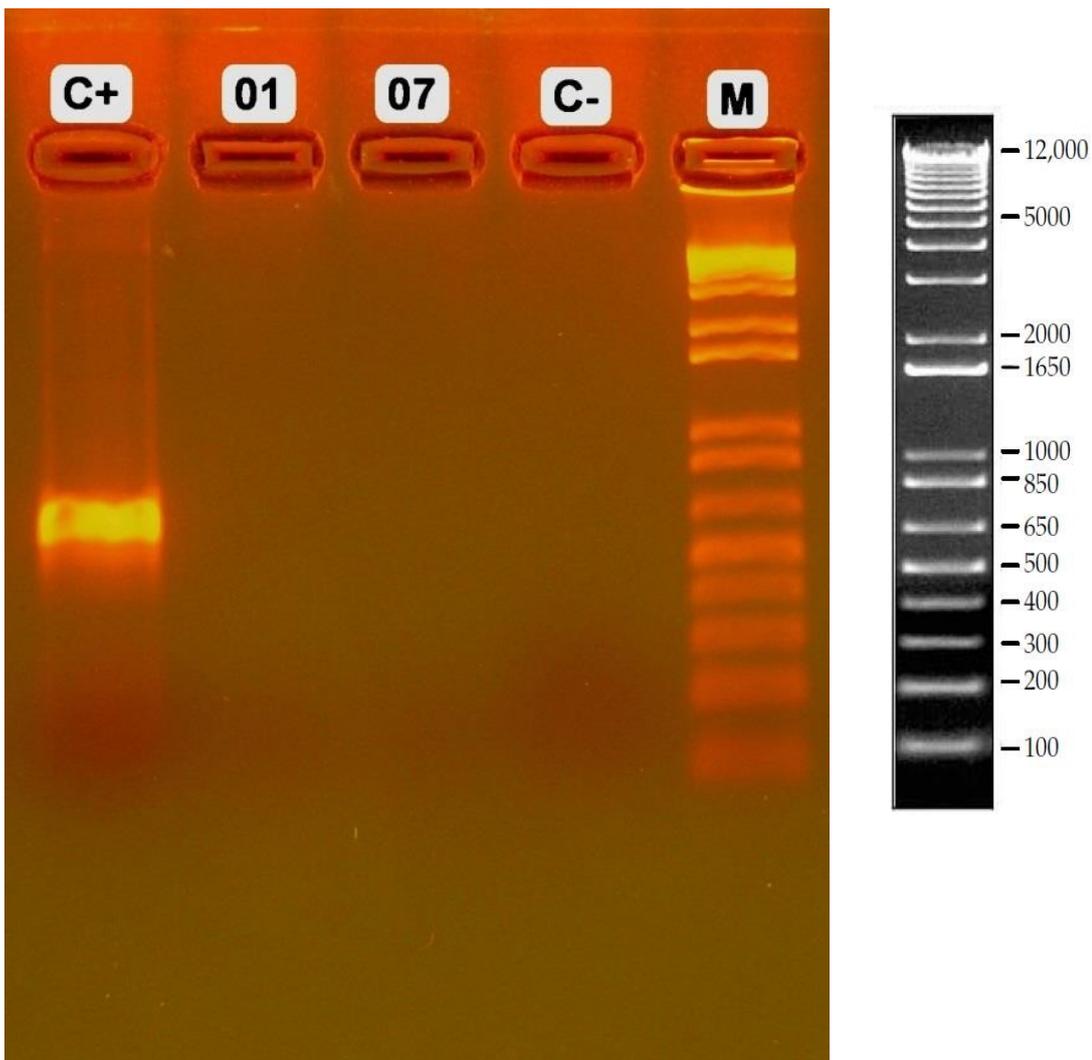
Amostras: 01, 07

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_34

Protocolo da PCR: 79

Protocolo da Eletroforese: 80

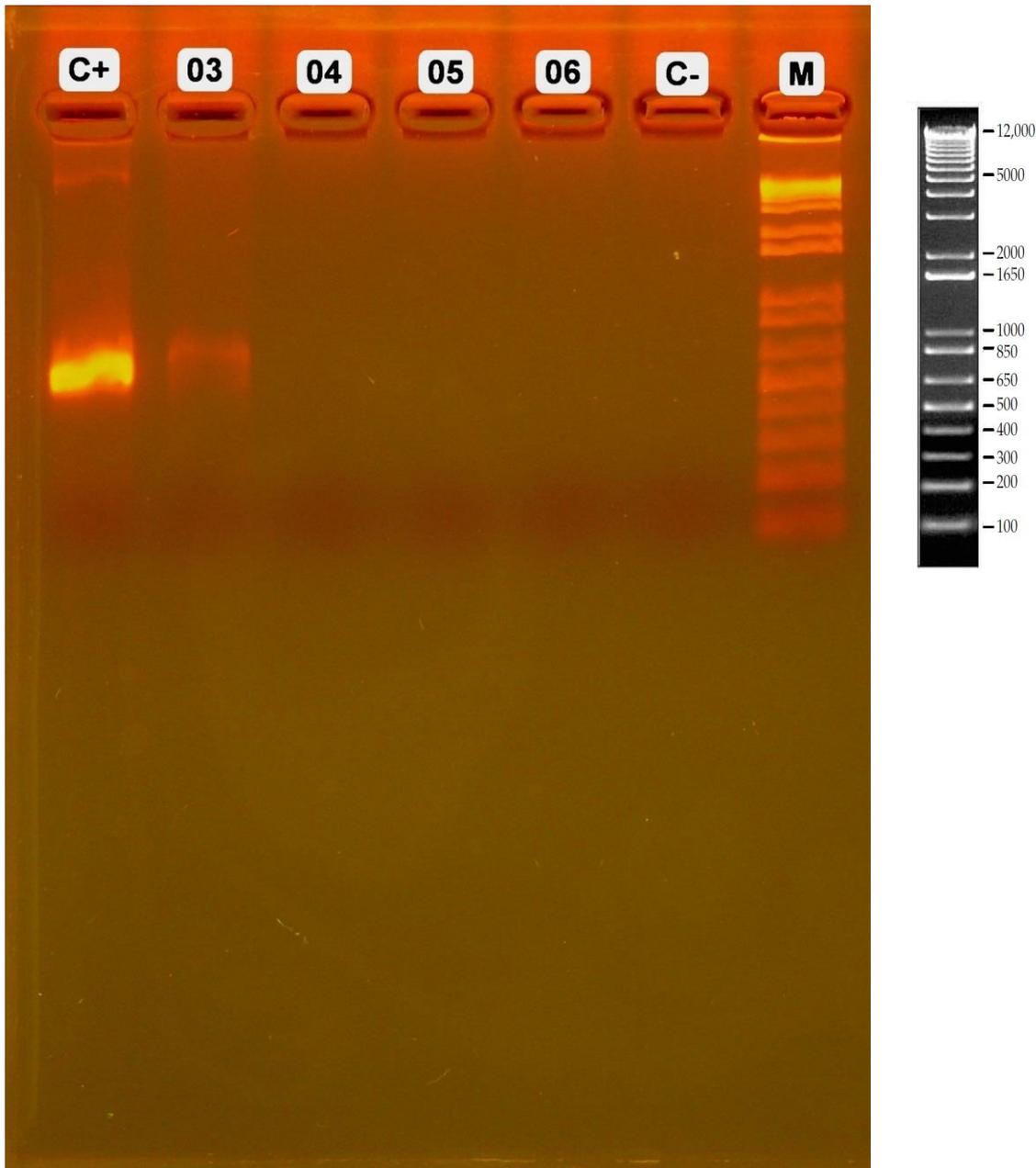
Amostras: 03, 04, 05, 06

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



11.7 RESULTADOS DA PCR CONVENCIONAL PARA AS BACTÉRIAS *Pseudomonas aeruginosa* (TEMPO 2)

Código: gel_35

Protocolo da PCR: 81

Protocolo da Eletroforese: 82

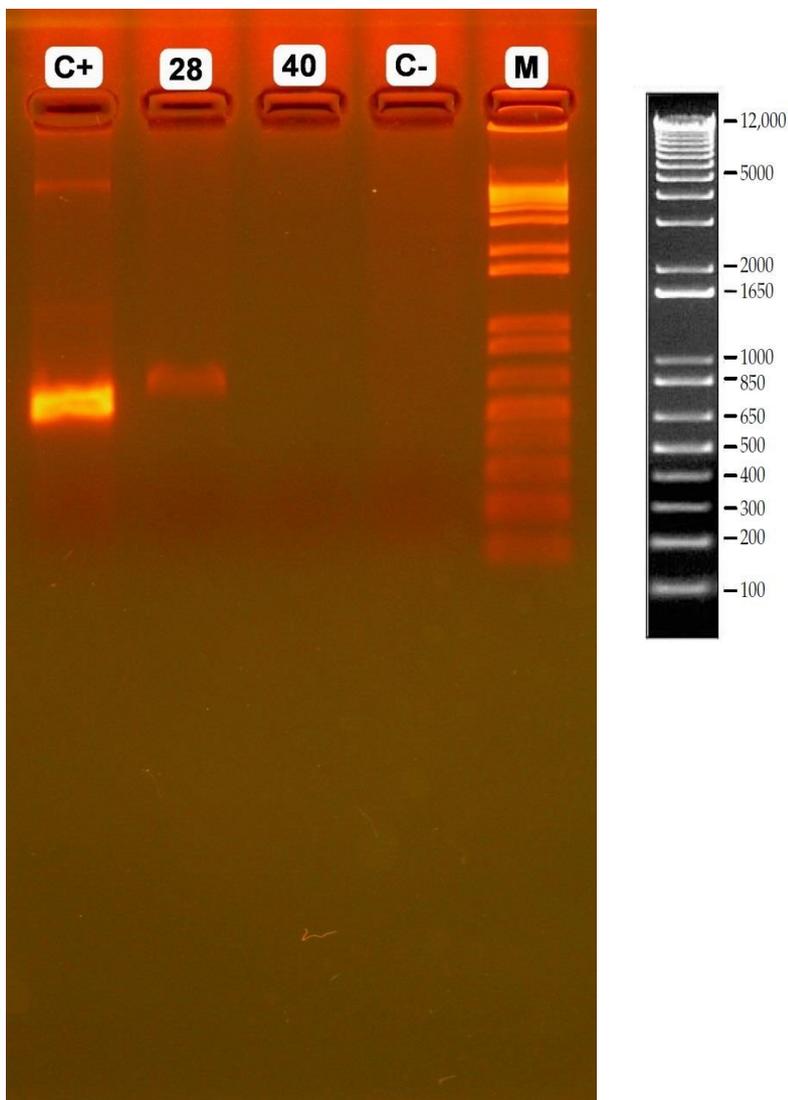
Amostras: 28, 40

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_36

Protocolo da PCR: 83

Protocolo da Eletroforese: 84

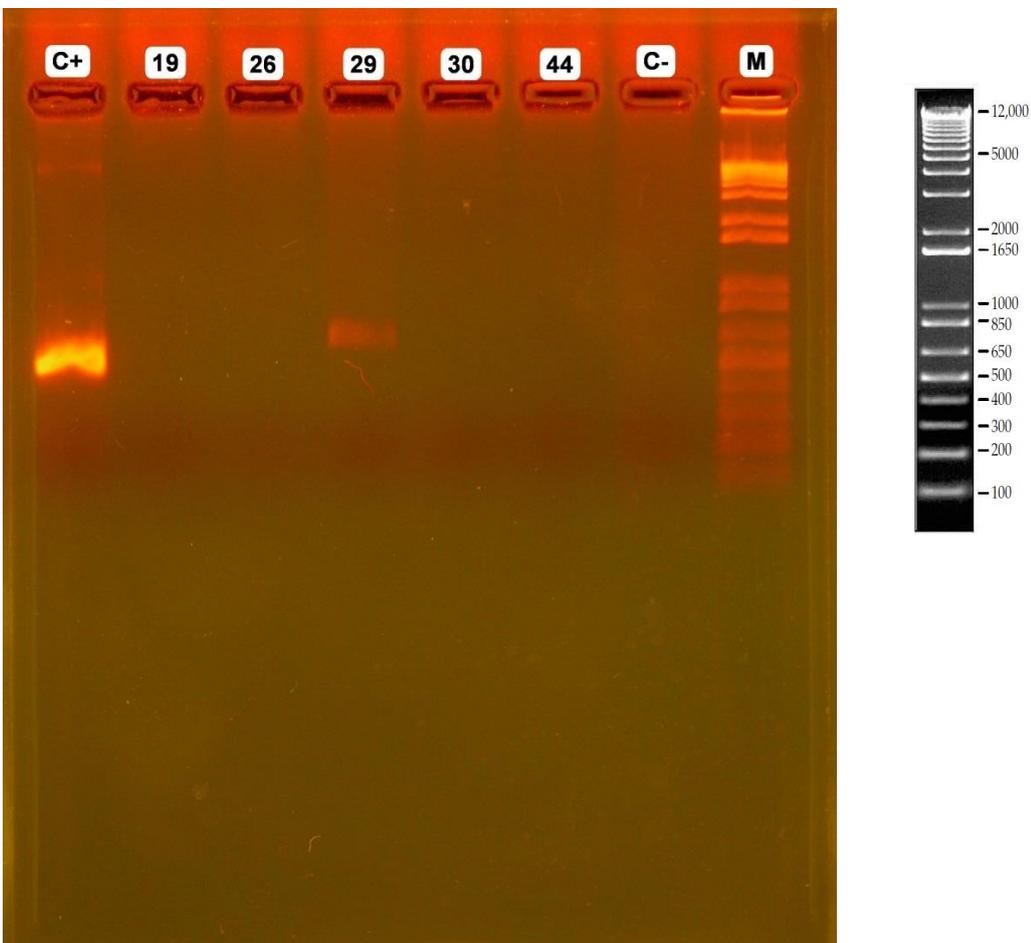
Amostras: 17, 18, 23, 36, 46

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_37

Protocolo da PCR: 85

Protocolo da Eletroforese: 86

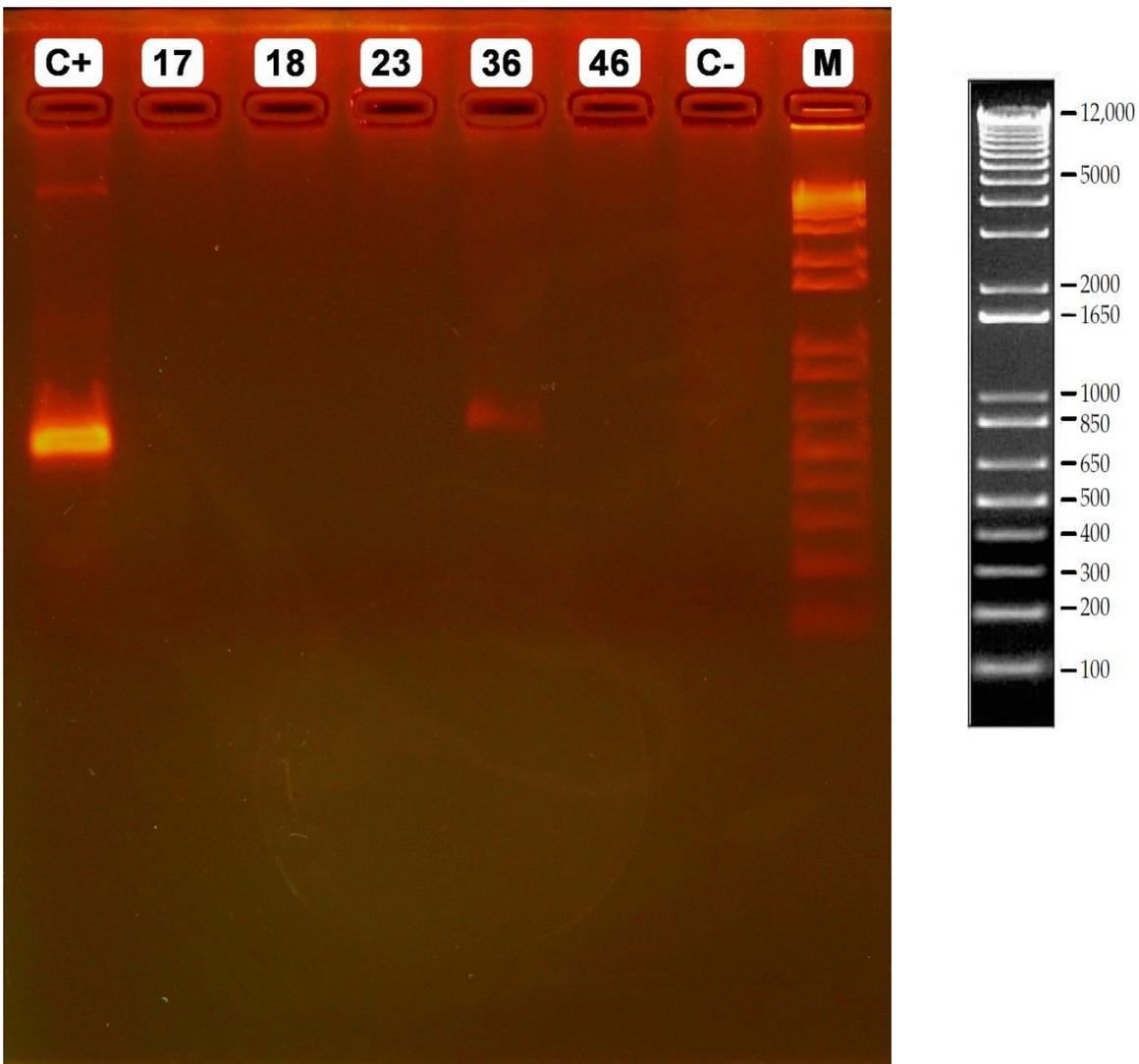
Amostras: 17, 18, 23, 36, 46

C+: controle positivo

C-: controle negativo

M: marcador

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_38

Protocolo da PCR: 87

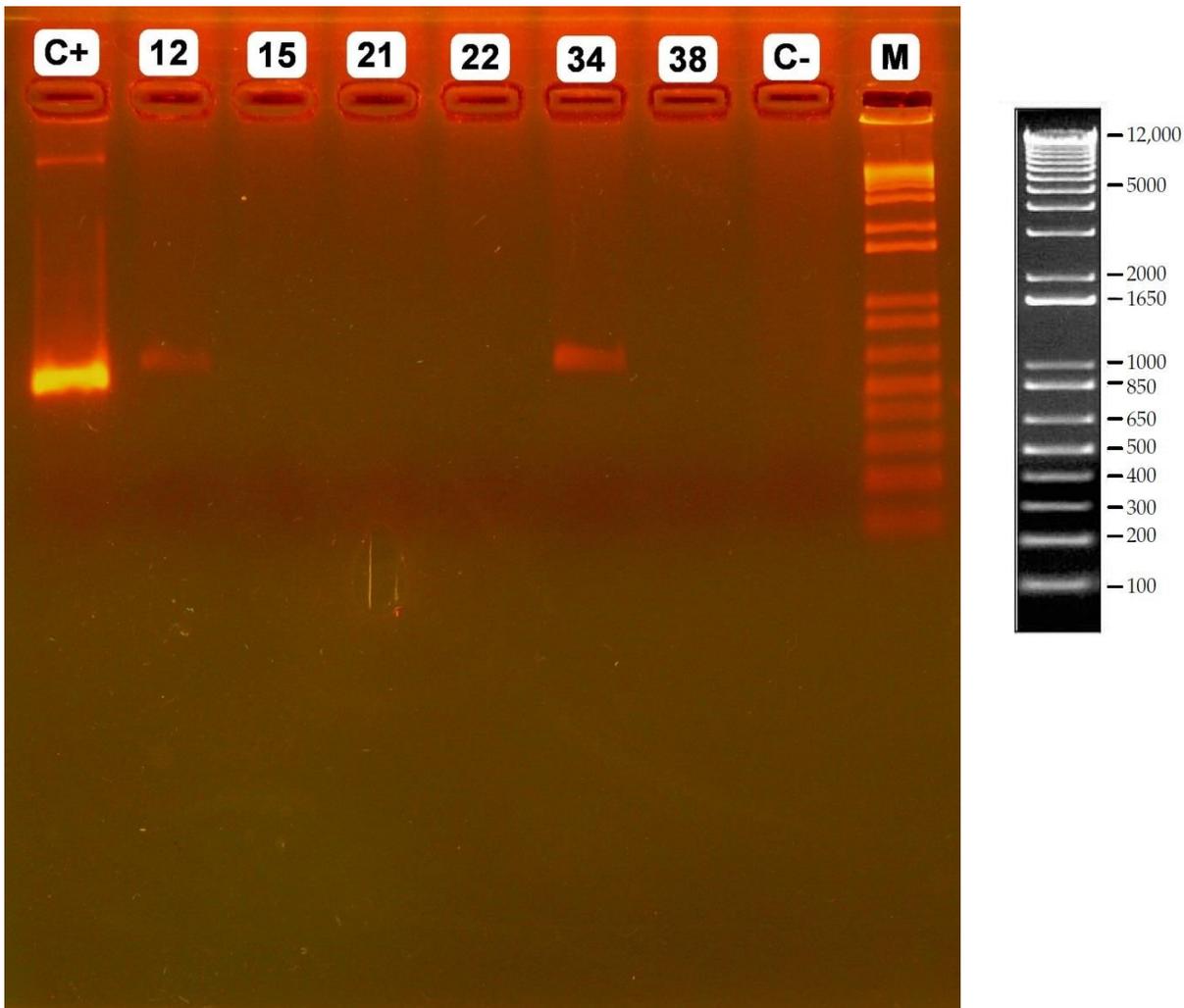
Protocolo da Eletroforese: 88

Amostras: 12, 15, 21, 22, 34, 38

C+: controle positivo

C-: controle negativo

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_39

Protocolo da PCR: 89

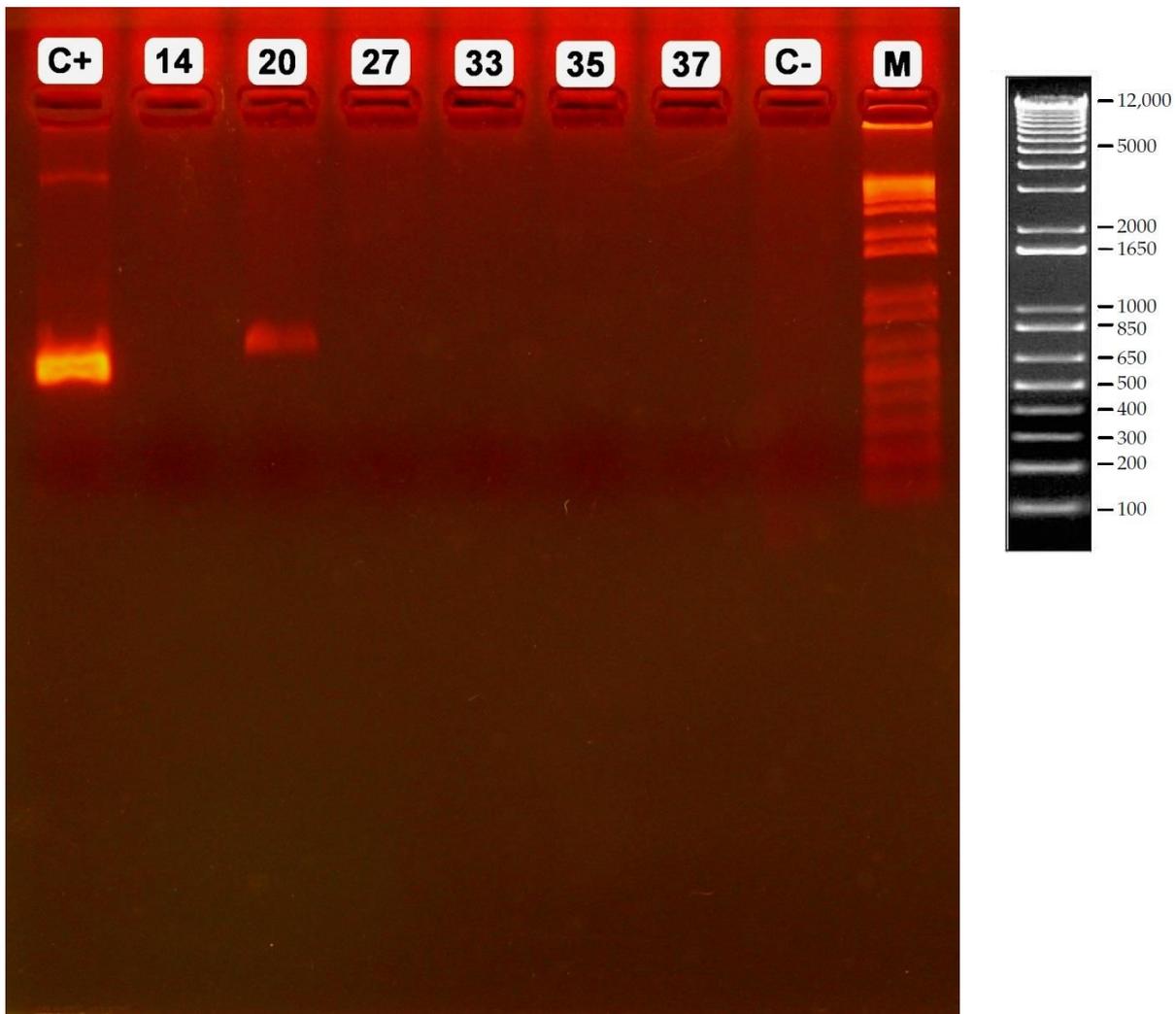
Protocolo da Eletroforese: 90

Amostras: 14, 20, 27, 33, 35, 37

C+: controle positivo

C-: controle negativo

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_40

Protocolo da PCR: 91

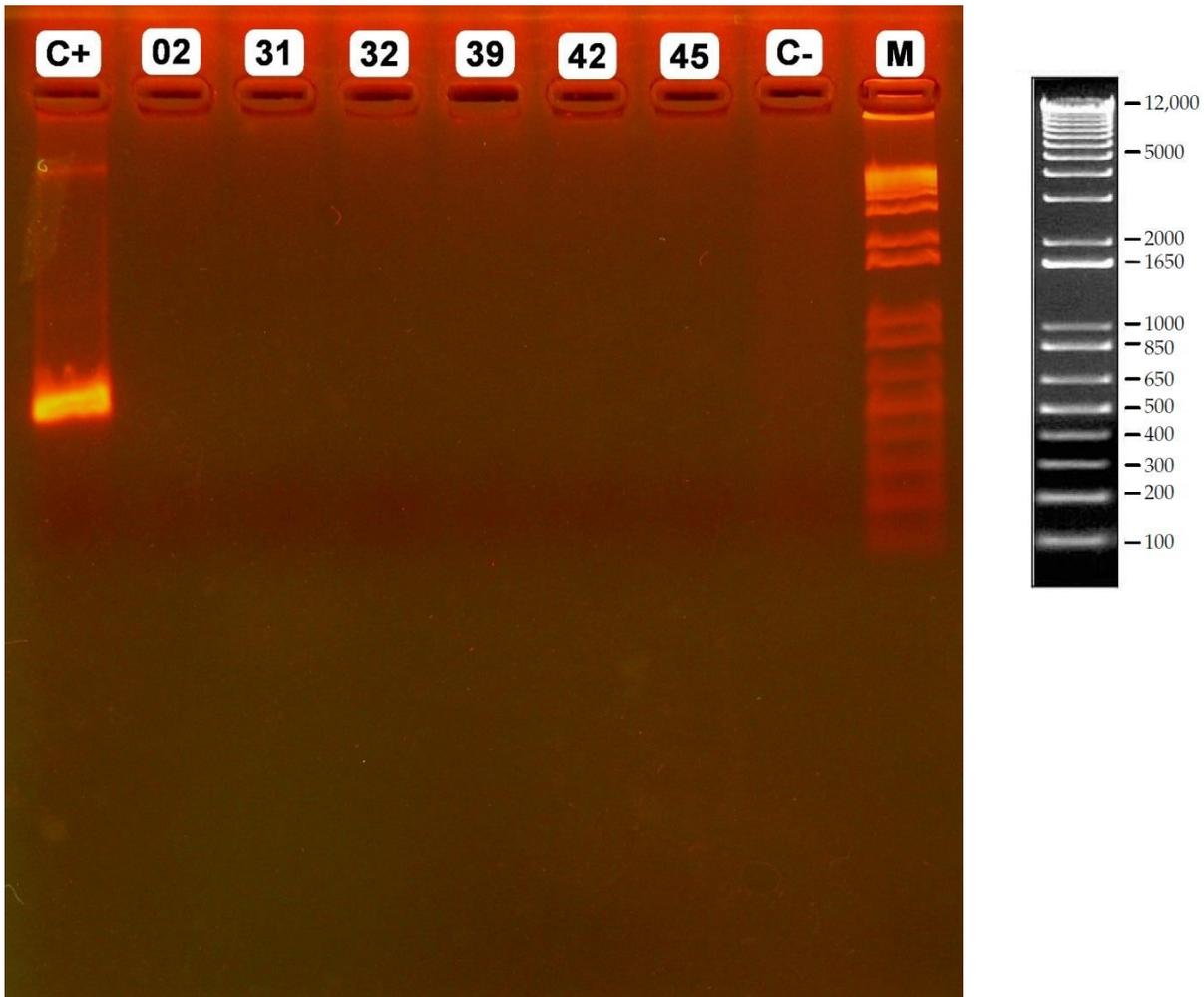
Protocolo da Eletroforese: 92

Amostras: 02, 31, 32, 39, 42, 45,

C+: controle positivo

C-: controle negativo

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de



Código: gel_41

Protocolo da PCR: 93

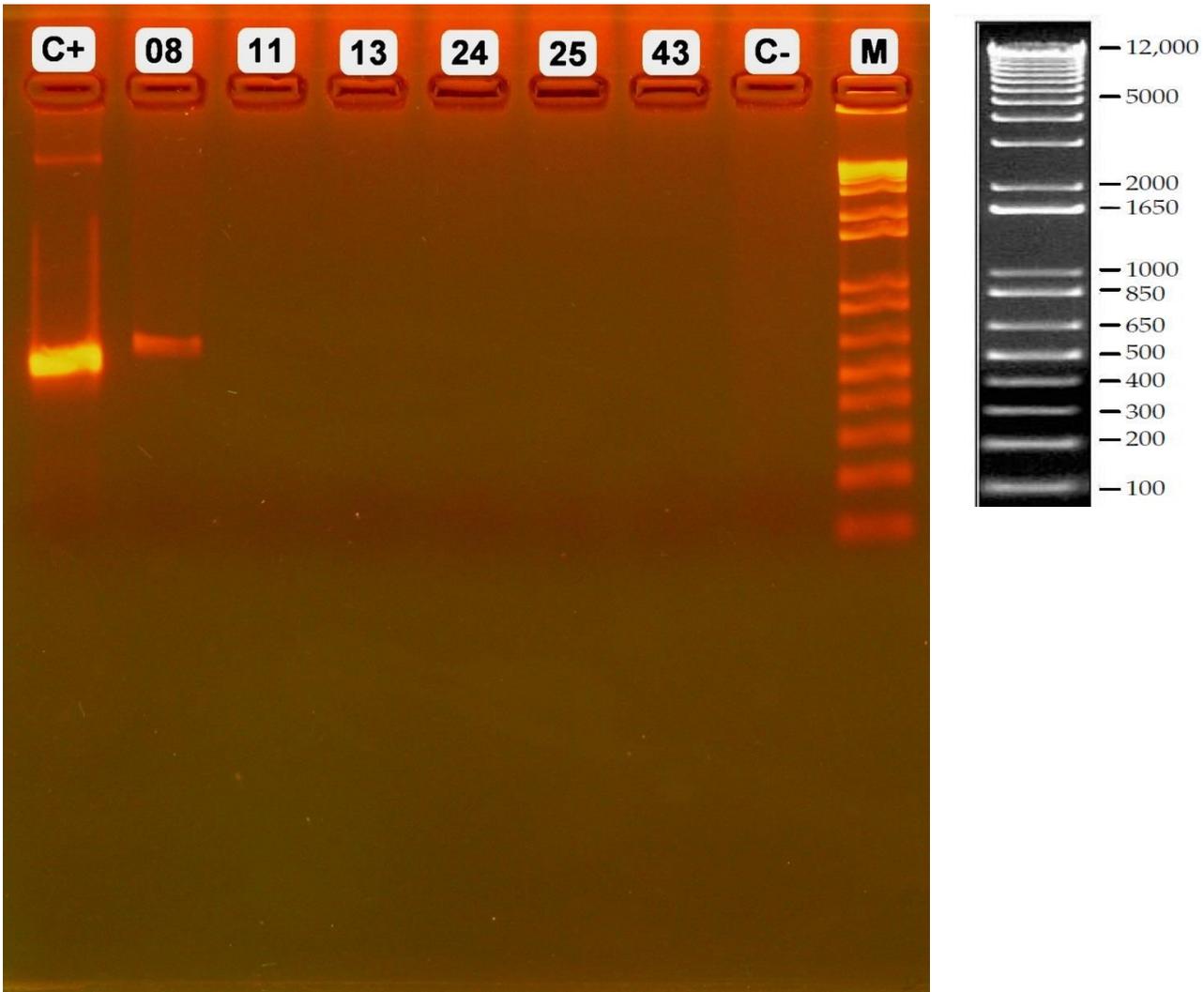
Protocolo da Eletroforese: 94

Amostras: 08 ,11, 13, 24, 25, 43

C+: controle positivo

C-: controle negativo

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_42

Protocolo da PCR: 95

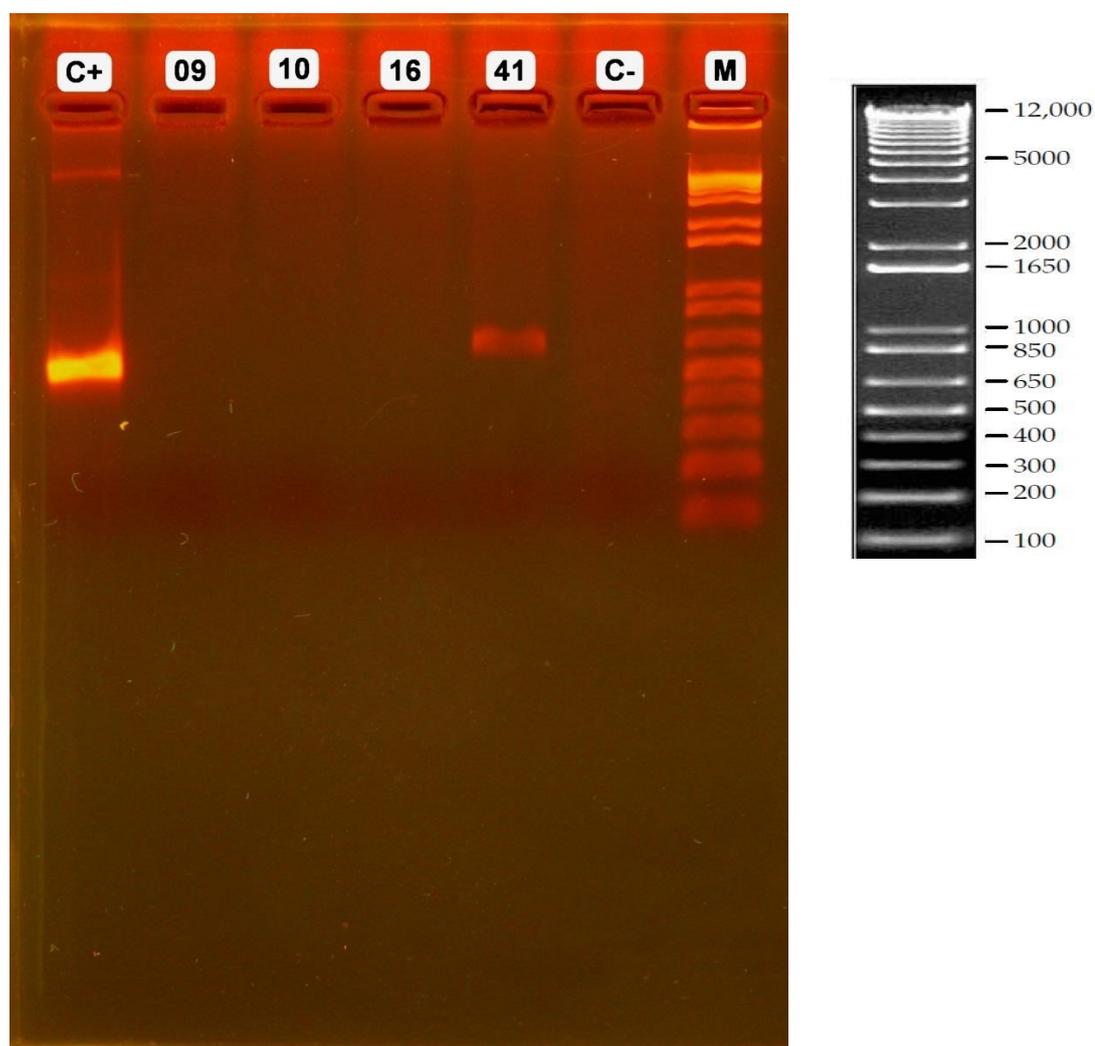
Protocolo da Eletroforese: 96

Amostras: 09, 10, 16, 41

C+: controle positivo

C-: controle negativo

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_43

Protocolo da PCR: 97

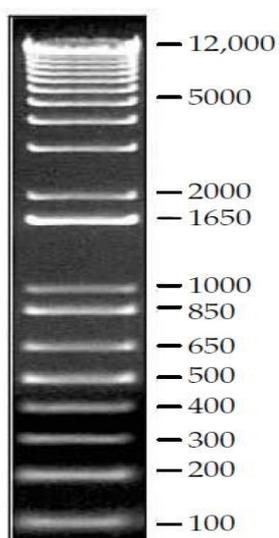
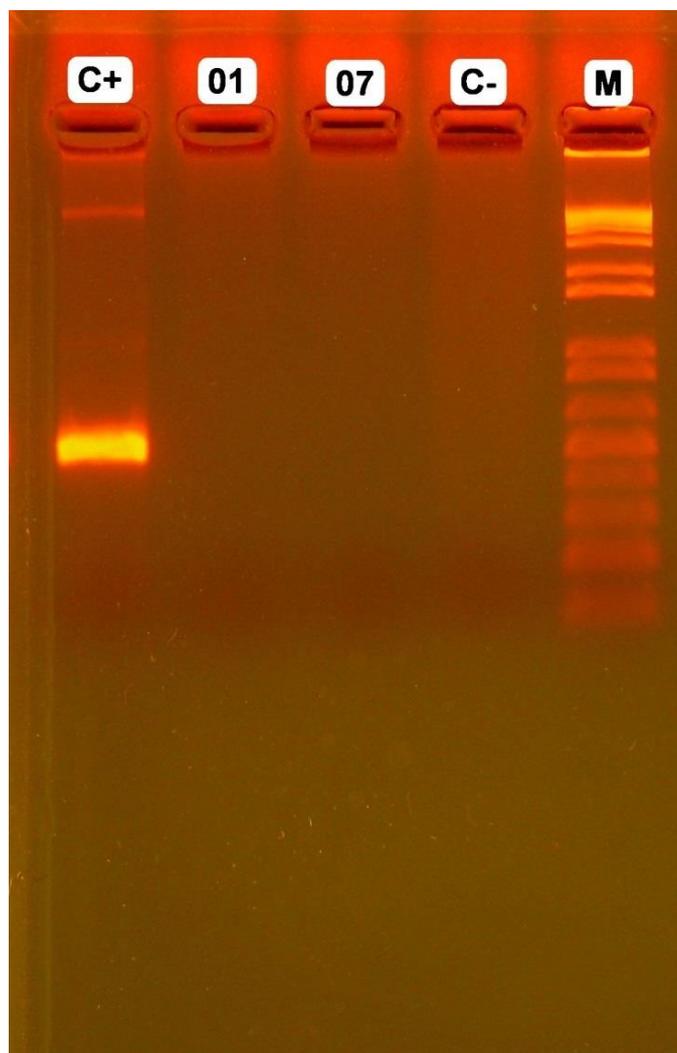
Protocolo da Eletroforese: 97

Amostras: 01, 07

C+: controle positivo

C-: controle negativo

Corrida do gel: 1 hora à 80 V, 700 de corrente.



Código: gel_44

Protocolo da PCR: 99

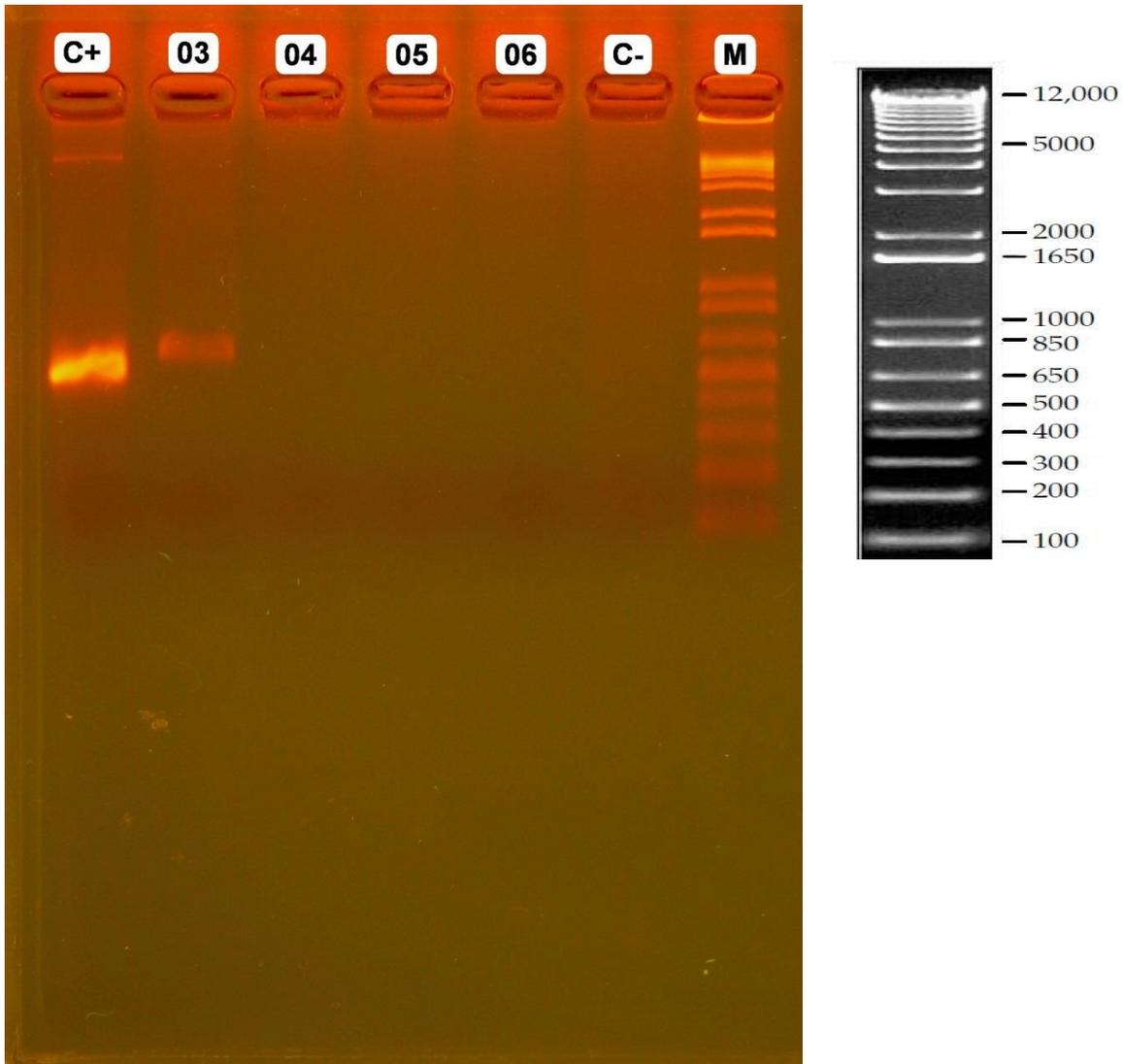
Protocolo da Eletroforese: 100

Amostras : 03, 04, 05 e 06

C+: controle positivo

C-: controle negativo

Corrida do gel: 1 hora à 80V, 700 corrente



11.7 PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS - UEA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA TÍTULO DA PESQUISA: DETECÇÃO DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* E *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA MUCOSITE ORAL EM PACIENTES LEUCÊMICOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO ANTINEOPLÁSICO.

Pesquisador: Daniel Saito

Área Temática: Versão: 1 **CAAE:** 46295215.0.0000.5016 **Instituição**

Proponente: UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS

Patrocinador Principal: Universidade do Estado do Amazonas-UEA

DADOS DO PARECER Número do Parecer: 1.115.925

Data da Relatoria: 18/06/2015

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Detectar a possível associação entre as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e a gravidade da mucosite oral em pacientes em tratamento antineoplásico, utilizando-se a técnica de PCR convencional.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos de participação no estudo serão mínimos ou mesmo ausentes, uma vez que a coleta de amostras consistirá de coleta de amostras de saliva, sem utilização de procedimentos invasivos. Ademais, não haverá alteração na conduta do tratamento ao qual o participante já estará normalmente submetido durante a pesquisa. Benefícios: Não há benefícios diretos aos participantes do estudo

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de relevância científica e social para a Detecção de Pseudomonas aeruginosa e Staphylococcus aureus na mucosite oral induzida pelo tratamento antineoplásico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram depositados na Plataforma Brasil de acordo com resolução 466.

Recomendações: Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Sem pendências.

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

Considerações Finais a critério do CEP:

MANAUS, 19 de Junho de 2015

Assinado por: Manoel Luiz Neto (Coordenador)