

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA
E MEDICINA TROPICAL**

IZABELLA NOBRE QUEIROZ

**DIVERSIDADE DE *Candida* spp. NA CAVIDADE ORAL EM PACIENTES COM
CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO EM TRATAMENTO RADIOTERÁPICO**

Belo Horizonte – MG

2021

IZABELLA NOBRE QUEIROZ

**DIVERSIDADE DE *Candida* spp. NA CAVIDADE ORAL EM PACIENTES COM
CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO EM TRATAMENTO RADIOTERÁPICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:
Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da UFMG, como requisito
parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Virginia Rocha Vilela

Coorientador: Prof. Alberto Leonel Mendoza

Belo Horizonte – MG

2021

Queiroz, Izabella Nobre.
Q3d Diversidade de Candida spp. na cavidade oral em pacientes com Câncer de Cabeça e Pescoço em tratamento radioterápico [manuscrito]. / Izabella Nobre Queiroz. - - Belo Horizonte: 2021. 97f.: il.
Orientador (a): Raquel Virginia Rocha Vilela.
Coorientador (a): Alberto Leonel Mendoza.
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Neoplasias de Cabeça e Pescoço. 2. Candida. 3. Radioterapia. 4. Dissertação Acadêmica. I. Vilela, Raquel Virginia Rocha. II. Mendoza, Alberto Leonel. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WE 707

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS
GERAIS FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE INFECTOLOGIA E MEDICINA
TROPICAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

"DIVERSIDADE DE Candida spp. DA CAVIDADE ORAL EM PACIENTES COM CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO EM TRATAMENTO RADIOTERÁPICO"

IZABELLA NOBRE QUEIROZ

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia 19 de maio de 2021, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS DA SAÚDE - INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL, da Universidade Federal de Minas Gerais, constituída pelos seguintes professores:

PROFA. RAQUEL VIRGÍNIA ROCHA VILELA -

Orientadora UFMG

PROF. ALBERTO LEONEL MENDOZA -

Coorientador MICHIGAN STATE UNIVERSITY

PROF. SERGIO AVELINO MOTA NOBRE

UNIMONTES

PROFA. CRISTIANE ALVES DA SILVA MENEZES

UFMG

Belo Horizonte, 19 de maio de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Cristiane Alves da Silva Menezes, Coordenador(a)**, em 19/05/2021, às 12:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sérgio Avelino Mota Nobre, Usuário Externo**, em 19/05/2021, às 12:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Virginia Rocha Vilela, Professora do Magistério Superior**, em 19/05/2021, às 12:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alberto Leonel Mendoza, Usuário Externo**, em 20/05/2021, às 14:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_confir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0730020** e o código CRC **A1FEB2AA**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitora: Sandra Regina Goulard Almeida

Vice-reitor: Alessandro Fernandes Moreira

Pró-reitor Pós Graduação: Professor Fábio Alves da Silva Júnior

Pró-reitor de Pesquisa: Professor Mario Fernando Montenegro Campos

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E
MEDICINA TROPICAL**

Coordenador: Professor Eduardo Antônio Ferraz Coelho

Subcoordenador: Professor Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Este trabalho é dedicado ao grande amor da minha vida: Hudson.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu marido, Hudson, pelo incentivo e auxílio em realizar essa dissertação. Sem seu apoio, paciência e calma provavelmente não teria conseguido concluí-la. Amo você.

Agradeço a minha família, pai, mãe, irmãos e meus amigos, pelo carinho e amor durante essa caminhada.

Agradeço a professora Raquel, minha orientadora, pelas ideias, discussões e paciência. Houve várias dificuldades nessa caminhada, mas com você todos os problemas acabaram em risadas. Obrigada pelo carinho e ensinamentos.

Agradeço ao professor Leonel, meu coorientador, pelas reuniões, correções e conselhos. Um exemplo de pesquisador e professor. Sem você e sem a parceira com a Michigan State University esta investigação não teria sido possível.

Agradeço ao querido colega Augusto. Pessoa indispensável em várias etapas dessa dissertação e sempre disposta a auxiliar e ensinar.

Agradeço ao setor da Radioterapia e do Laboratório do Hospital da Baleia. Equipe de profissionais competentes que sempre demonstraram carinho e zelo com o próximo. Sempre dispostos a ajudar e auxiliar. Muito obrigada.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, da Faculdade de Medicina da UFMG pela oportunidade dessa pesquisa.

Agradeço a banca avaliadora deste trabalho pelo aceite do convite. É uma honra tê-los na avaliação da minha dissertação.

“Eu sou é eu mesmo. Divêrjo de todo o mundo... Eu quase que nada não sei. Mas desconfio de muita coisa. O senhor concedendo, eu digo: para pensar longe, sou cão mestre — o senhor solte em minha frente uma ideia ligeira, e eu rastreio essa por fundo de todos os matos, amém!”

Guimarães Rosa

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar a diversidade e a prevalência das espécies de *Candida* spp. da cavidade oral de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico. O estudo foi realizado com dois grupos. O grupo controle, composto de indivíduos sem história de câncer, e o grupo caso, incluindo indivíduos com câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico no Hospital da Baleia em Belo Horizonte, Minas Gerais. Em ambos os grupos foram coletadas amostras de região orofaríngea. No grupo controle a amostra foi única e no grupo caso foram feitas duas coletas: a) antes do início da radioterapia e b) entre a 15^a a 20^a fração da radioterapia. O isolamento e a identificação presuntiva foram feitos em placas de CHROMagarCandida® e a identificação final foi feita com a técnica de MALDI-TOF-MS. Um total de 70 indivíduos no grupo caso e 160 no grupo controle foram avaliados. No grupo controle, 41 indivíduos apresentaram pelo menos uma colônia de *Candida* sp., para um total de 47 isolados e oito tipos de espécies diferentes de *Candida* spp. No grupo caso, 33 indivíduos apresentaram pelo menos uma colônia de *Candida* sp., havendo 56 isolados e treze espécies diferentes de *Candida* spp. Na 1^a coleta do grupo caso houve 29 isolados e dez espécies diferentes. Na 2^a coleta do grupo caso houve 27 isolados e nove espécies diferentes de *Candida* spp. Em ambos os grupos a espécie predominante foi *C. albicans*. O grupo controle possuiu 57,45% de *C. albicans* e 42,56% de espécies não albicans e o grupo caso 46,42% de *C. albicans* e 53,59% de espécies não albicans. Houve identificação de outros fungos não *Candida* sp. no grupo caso. Houve maior detecção de colônias de *Candida* spp. durante a realização de radioterapia (valor $p < 0,05$). Concluiu-se que *C. albicans* é a espécie mais prevalente em indivíduos não oncológicos e oncológicos, que indivíduos com câncer de cabeça e pescoço possuem maior diversidade de espécies de *Candida* spp. e que durante a realização de radioterapia é mais fácil de isolar espécies de *Candida* spp.

Palavras-chave: Neoplasias de Cabeça e Pescoço. *Candida*. Radioterapia.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the diversity and prevalence of *Candida* sp. in the oral cavity of patients with head and neck cancer during radiotherapy treatment. The study was carried out with two groups. The control group included individuals with no history of cancer and the case group of individuals with head and neck cancer undergoing radiotherapy treatment at the Hospital da Baleia in Belo Horizonte, Minas Gerais. In both groups, samples from the oropharyngeal region were collected. In the control group, only one sample was used and in the case group, two collections were carried out: before the beginning of radiotherapy and between the 15th and 20th radiotherapy fraction. Isolation and presumptive identification were performed on plates containing CHROMagarCandida® and the final identification was with the MALDI-TOF-MS technique. There were 70 individuals in the case group and 160 in the control group. In the control group, 41 individuals showed at least one colony of *Candida* sp. On the culture plates, with 47 isolates and eight different *Candida* spp. species. In the case group, 33 individuals had at least one colony of *Candida* sp. on the culture plates, with 56 isolates and thirteen different *Candida* spp. species. In the 1st case group collection, there were 29 isolates and ten different types of *Candida* spp. species. In the 2nd case group collection, there were 27 isolates and nine types of different *Candida* spp. species. In both groups the predominant species was *C. albicans*. The control group had 57.45% *C. albicans* and 42.56% non-*albicans* species and the case group 46.42% *C. albicans* and 53.59% non-*albicans* species. Fungi other than *Candida* sp. were also identified in the case group. There was greater isolation of *Candida* sp. during radiotherapy ($p < 0.05$) than that in the control group. The study found that *C. albicans* is the species more prevalent in non-oncological and oncological individuals, that patients with head and neck cancer have greater diversity of *Candida* spp. and that during radiotherapy it is easier to isolate *Candida* spp. species.

Keywords: Head and Neck Neoplasms. *Candida*. Radiotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Corte sagital do trato aero-digestivo superior. Em azul encontra-se a faringe (nasofaringe, orofaringe e hipofaringe).....	25
Figura 2 - Anatomia da cavidade oral.....	26
Figura 3 - Anatomia da orofaringe.....	27
Figura 4 - Corte sagital da orofaringe e laringe.....	27
Figura 5 - Anatomia da orofaringe, laringe e hipofaringe.....	28
Figura 6 - Anatomia da hipofaringe.....	28
Figura 7 - Anatomia da laringe.....	29
Figura 8 - Anatomia da cavidade nasal e seios da face.....	30
Figura 9 - Anatomia das glândulas salivares.....	30
Figura 10 - Distribuição dos linfonodos acometidos no primário oculto de cabeça e pescoço.....	31
Figura 11 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes no Brasil estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma.....	32
Figura 12 - Estruturas microscópicas básicas dos fungos: a, b, c – filamentosos, d – leveduras.....	44
Figura 13 - Candidíase orofaríngea: forma pseudomembranosa (sapinho).....	47
Figura 14 - Candidíase orofaríngea: forma pseudomembranosa (úmida).....	47
Figura 15 - Candidíase orofaríngea: forma eritematosa (atrófica).....	48
Figura 16 - Candidíase orofaríngea: forma queilite angular.....	48
Figura 17 - Tubo germinativo emergindo de um blastoconídio. <i>Candida Albicans</i> (400X).....	50
Figura 18 - Micromorfologia de <i>C. albicans</i> em ágar fubá, destacando-se a presença de grande número de clamidósporos, sésseis e terminais (400X).....	51
Figura 19 - Colônias de <i>C. albicans</i> no meio CHROMagar <i>Candida</i>	53
Figura 20 - Colônias de <i>C. krusei</i> no meio CHROMagar <i>Candida</i>	53
Figura 21 - Colônias de <i>C. tropicalis</i> no meio CHROMagar <i>Candida</i>	53
Figura 22 - Colônias de outras <i>Candidas</i> spp. no meio CHROMagar <i>Candida</i>	54
Figura 23 - Acelerador Linear Elekta Precise do Hospital da Baleia.....	58
Figura 24 - Máscara termoplástica utilizada durante tratamento radioterápico.....	59
Figura 25 - Gráfico de pizza para a diversidade de espécies de <i>Candida</i> spp. de maneira categórica em relação a 1ª e a 2ª coleta do grupo caso.....	79

LISTA DE FIGURAS

- Figura 26** - Análise do número de espécies de *Candida* spp. por coleta (1ª ou 2ª coleta) e por indivíduo no grupo caso.....80
- Figura 27** - Análise do número de espécies de *Candida* spp. por coleta (1ª ou 2ª coleta) e por indivíduo no grupo caso.....81
- Figura 28** - Gráfico de barra da análise da diversidade de espécies de *Candida* spp. nos indivíduos do grupo caso que fizeram quimioterapia.....82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estadiamento T para o câncer de cavidade oral.....	35
Quadro 2 - Estadiamento T para o câncer de orofaringe HPV negativo.....	35
Quadro 3 - Estadiamento T para o câncer de orofaringe HPV positivo.....	35 e 36
Quadro 4 - Estadiamento T para o câncer de laringe, na região da supraglote.....	36
Quadro 5 - Estadiamento T para o câncer de laringe, na região da glote.....	36
Quadro 6 - Estadiamento T para o câncer de laringe, na região da subglote.....	37
Quadro 7 - Estadiamento T para o câncer de hipofaringe.....	37
Quadro 8 - Estadiamento T para o câncer de nasofaringe.....	37
Quadro 9 - Estadiamento N clínico para todos os cânceres de cabeça e pescoço, exceto orofaringe HPV positivo e nasofaringe.....	38
Quadro 10 - Estadiamento N patológico para todos os cânceres de cabeça e pescoço, exceto orofaringe HPV positivo e nasofaringe.....	38
Quadro 11 - Estadiamento N clínico para orofaringe HPV positivo.....	38
Quadro 12 - Estadiamento N patológico para orofaringe HPV positivo.....	39
Quadro 13 - Estadiamento N para nasofaringe.....	39
Quadro 14 - Estadiamento M para todos os cânceres de cabeça e pescoço.....	39
Quadro 15 - Agrupamento TNM para todos os cânceres de cabeça e pescoço, exceto orofaringe HPV positivo e nasofaringe.....	39
Quadro 16 - Agrupamento TNM clínico para os tumores de orofaringe HPV positivo.....	40
Quadro 17 - Agrupamento TNM patológico para os tumores de orofaringe HPV positivo.....	40
Quadro 18 - Agrupamento TNM para os tumores de nasofaringe.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise quantitativa de todos os indivíduos da pesquisa.....	63
Tabela 2 - Análise quantitativa de todos os indivíduos do grupo caso.....	63
Tabela 3 - Análise descritiva das variáveis categóricas de caracterização de todos os indivíduos da pesquisa.....	64
Tabela 4 - Análise descritiva da idade de todos os indivíduos da pesquisa.....	64
Tabela 5 - Análise descritiva das variáveis categóricas de caracterização de todos os indivíduos do grupo caso e controle.....	65
Tabela 6 - Análise descritiva da idade de todos os indivíduos do grupo caso e controle.....	65
Tabela 7 - Análise descritiva das variáveis categóricas exclusivas de caracterização de todos os indivíduos do grupo caso.....	66
Tabela 8 - Análise descritiva das espécies de <i>Candida</i> spp. isoladas de todos os indivíduos do estudo.....	67
Tabela 9 - Análise descritiva de outros fungos não <i>Candida</i> sp. isolados de todos os indivíduos da pesquisa.....	67
Tabela 10 - Análise descritiva das espécies de <i>Candida</i> spp. isoladas dos indivíduos do grupo controle.....	68
Tabela 11 - Análise descritiva de outros fungos não <i>Candida</i> sp. isolados dos indivíduos do grupo controle.....	68
Tabela 12 - Análise descritiva das espécies de <i>Candida</i> spp. isoladas dos indivíduos do grupo caso em ambas as coletas (1ª coleta: antes de início da radioterapia e 2ª coleta: durante realização da radioterapia).....	69
Tabela 13 - Análise descritiva de outros fungos não <i>Candida</i> sp. isolados dos indivíduos grupo caso em ambas as coletas (1ª coleta: antes de início da radioterapia e 2ª coleta: durante realização da radioterapia).....	69
Tabela 14 - Análise descritiva das espécies de <i>Candida</i> spp. isoladas nos indivíduos do grupo caso na 1ª coleta (antes de início de radioterapia).....	70
Tabela 15 - Análise descritiva de outros fungos não <i>Candida</i> sp. isolados dos indivíduos do grupo caso na 1ª coleta (antes de início de radioterapia).....	70
Tabela 16 - Análise descritiva das espécies de <i>Candida</i> spp. isoladas dos indivíduos do grupo caso na 2ª coleta (durante a radioterapia).....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 17 - Análise descritiva de outros fungos não <i>Candida</i> sp. isolados dos indivíduos do grupo caso na 2ª coleta (durante a radioterapia).....	71
Tabela 18 - Comparação da presença de <i>Candida</i> sp. entre o grupo controle e a 1ª coleta do grupo caso (antes do início da radioterapia).....	71
Tabela 19 - Comparação da presença de <i>Candida</i> sp. entre o grupo controle e a 2ª coleta do grupo caso (durante a radioterapia).....	71
Tabela 20 - Comparação da presença de <i>Candida</i> spp. entre a 1ª (antes do início de radioterapia) e a 2ª (durante a radioterapia) coleta do grupo caso.....	72
Tabela 21 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. entre o grupo controle e a 1ª coleta do grupo caso (antes do início de radioterapia).....	72
Tabela 22 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. entre o grupo controle e a 2ª coleta do grupo caso (durante a radioterapia).....	73
Tabela 23 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. entre a 1ª (antes de início de radioterapia) e a 2ª (durante a radioterapia) do grupo caso.....	74
Tabela 24 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. entre o grupo controle e as duas coletas do grupo caso.....	75
Tabela 25 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. de acordo com o sexo no grupo caso.....	76
Tabela 26 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. de acordo com o sexo no grupo controle.....	76
Tabela 27 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. de acordo com o tabagismo no grupo caso.....	77
Tabela 28 - Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. de acordo com o tabagismo no grupo controle.....	78
Tabela 29 - Análise descritiva da diversidade de espécies de <i>Candida</i> spp. de maneira numérica em relação a 1ª e a 2ª coleta do grupo caso.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS

AJCC	American Joint Committee of Cancer
AP-PCR	Arbitrarily Primed-Polymerase Chain Reaction
ASD	Agar Sabouraud Dextrose
ASDC	Agar Sabouraud Dextrose 2% contendo Cloranfenicol
BDA	Agar Batata Dextrose
CCP	Câncer de Cabeça e Pescoço
CEC	Carcinoma de Células Escamosas
COF	Candidíase Orofaríngea
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EBV	Vírus Epstein Barr
EEN	Extensão Extranodal
EUA	Estados Unidos da América
GBD	Global Burden of Disease
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	Papiloma Vírus Humano
INCA	Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva
MALDI-TOF-MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry
NaCl	Cloreto de Sódio
NIH	National Institute of Health
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
QT	Quimioterapia
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RT	Radioterapia
RT 3D	Radioterapia Conformada Tridimensional
TNM	Tumor, Linfonodo, Metástase
TWEEN-80	Monooleato de Sorbitan Etoxilado
UICC	Union International Cancer Control

LISTA DE SIGLAS

G	Gramas
Gy	Gray
Hz	Hertz
kDa	Quilodalton
kV	Kilovolt
mg	Miligramas
mm	Milímetro
MV	Megavolt
ns	Nanossegundo
μ L	Microlítro
μ m	Micrômetro
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. JUSTIFICATIVA	22
3. OBJETIVOS	23
3.1. Objetivo geral	23
3.2. Objetivos específicos	24
4. HIPÓTESES	24
5. REVISÃO DA LITERATURA	25
5.1. Câncer de cabeça e pescoço: definições e anatomia	25
5.2. Câncer de cabeça e pescoço: epidemiologia	31
5.3. Câncer de cabeça e pescoço: estadiamento e tratamento	33
5.4. Radioterapia: conceitos, ação, danos e relação com câncer de cabeça e pescoço	41
5.5. Fungos e o gênero <i>Candida</i> sp. na cavidade oral	43
5.6. Candidíase orofaríngea e radioterapia	46
5.7. Identificação das espécies de <i>Candida</i> sp.	49
6. MÉTODOS	57
6.1. Amostragem	57
6.2. Tratamento oncológico	58
6.3. Isolamentos de <i>Candida</i> sp.	59
6.4. Identificação com a técnica MALDI-TOF-MS	60
6.5. Cálculo amostral	61
6.6. Cálculo estatístico	62
7. RESULTADOS	63
7.1. Características dos indivíduos	64
7.2. Análise descritiva das espécies de <i>Candida</i> spp	67
7.3. Comparação da colonização de <i>Candida</i> sp. entre os grupos	71
7.4. Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. entre os grupos	72
7.5. Comparação das espécies de <i>Candida</i> spp. de acordo com variáveis de caracterização	75
7.6. Análise da diversidade das espécies de <i>Candida</i> spp. no grupo caso	78
7.7. Análise da diversidade das espécies de <i>Candida</i> spp. nos indivíduos grupo caso que realizaram quimioterapia	82

SUMÁRIO

8. DISCUSSÃO	83
9. LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS	87
10. CONCLUSÕES	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
ANEXOS	94
ANEXO A: Instrumento de coleta de dados do grupo controle.....	94
ANEXO B: Instrumento de coleta de dados do grupo caso.....	95
ANEXO C: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o grupo controle.....	96
ANEXO D: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o grupo caso.....	97

1. INTRODUÇÃO

Câncer de cabeça e pescoço (CCP) é o nome dado ao conjunto de tumores que se originam em qualquer região anatômica da cabeça e pescoço (PAI e WESTRA, 2009).

O tratamento de pacientes com CCP é complexo e varia de acordo com o sítio primário da doença, o estágio e os achados patológicos. O tratamento pode incluir cirurgia, radioterapia (RT) e/ou quimioterapia (QT). Uma modalidade única de tratamento, com cirurgia ou RT, é geralmente recomendada para 30% a 40% dos pacientes em estágio inicial (estádio I ou II). A terapia combinada é geralmente recomendada para aproximadamente 60% dos pacientes com doença local ou regionalmente avançada. A RT representa uma modalidade de tratamento, tanto em estágios iniciais, quanto avançados. Ela pode ser realizada de forma isolada, após cirurgia (adjuvante) ou concomitante a QT (NCCN, 2020).

Espécies de *Candida* spp. estão presentes na flora da cavidade oral. Sob condições fisiológicas e patológicas específicas, elas podem mudar as suas funções de comensais para patógenos. *Candida albicans* é a principal residente comensal da flora da área genital e da mucosa digestiva, identificada em cerca de 10% a 20% dos adultos saudáveis, seguido por *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. *Candida krusei*, *Candida famata*, *Candida lusitanae*, *Candida guilliermondii* e *Candida dubliniensis* são raras e transitórias na mucosa digestiva (BENSADOUN et al., 2011). *Candida parapsilose* é um comensal da pele saudável, mas não das mucosas. *Candida dubliniensis* foi identificada na candidíase orofaríngea em humanos infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Entre todas essas espécies, *Candida albicans* é a responsável pela grande maioria das infecções orofaríngeas clínicas (> 80%) (BENSADOUN et al., 2011).

Alguns estudos têm relatado a diversificação de espécies de *Candida* spp., assim como o aumento da frequência de colonização de espécies como *Candida albicans* e *Candida tropicalis* durante o tratamento radioterápico (PAULA et al., 1990; DAHIYA et al., 2003; REDDING et al., 2004; BELAZI et al., 2004; JHAM et al., 2007; DE FREITAS et al., 2013; GUNJESH et al., 2017).

Dados recentes sobre a frequência das espécies de *Candida* sp. em pacientes com câncer de cabeça e pescoço são limitados e com achados variados; com poucos estudos utilizando métodos confirmatórios.

2. JUSTIFICATIVA

Os pacientes com câncer de cabeça e pescoço submetidos aos tratamentos oncológicos (cirurgia, RT e/ou QT) apresentam freqüentemente mucosite e candidíase orofaríngea, que geram desconforto para o paciente e até mesmo a suspensão do tratamento oncológico.

A suspensão do tratamento oncológico traz vários prejuízos importantes, como a demora na conclusão de todo o tratamento, aumento dos custos relacionados ao transporte do paciente, ao uso de medicamentos e diminuição de controle local do câncer.

O estudo da diversidade e prevalência das espécies de *Candida* sp. na cavidade oral desses pacientes gerará dados epidemiológicos dos pacientes de um serviço oncológico de referência em Belo Horizonte, Minas Gerais (Hospital da Baleia). Esses dados contribuirão para protocolos e melhora do cuidado do paciente, além de permitir estudos futuros.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Avaliar a diversidade e prevalência de *Candida* sp. na cavidade oral de pacientes com CCP em tratamento radioterápico no Hospital da Baleia, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

3.2. Objetivos Específicos

- Distinguir e caracterizar o perfil de indivíduos para estabelecimento de dois grupos: controle (não oncológicos) e caso (pacientes com CCP em tratamento radioterápico no Hospital da Baleia, em Belo Horizonte, Minas Gerais).
- Amostrar e construir um banco de microorganismos fúngicos isolados da cavidade oral de indivíduos do grupo caso e do grupo controle.
- Mensurar a diversidade de *Candida* spp. em amostras amplas da cavidade oral obtidas de indivíduos do grupo caso e controle.
- Correlacionar os resultados microbiológicos ao perfil dos indivíduos do grupo caso, com e sem associação do grupo controle.
- Correlacionar os resultados microbiológicos em indivíduos do grupo caso em dois momentos de coleta: antes e durante a radioterapia.

4. HIPÓTESES

- *Candida* sp. coloniza a cavidade oral de indivíduos portadores e não portadores de CCP.
- Pacientes portadores de CCP apresentam diversidade e prevalência de espécies de *Candida* sp. distintas de indivíduos não portadores do câncer.
- A RT altera o ambiente da cavidade oral, predispondo a alterações da diversidade de *Candida* sp.

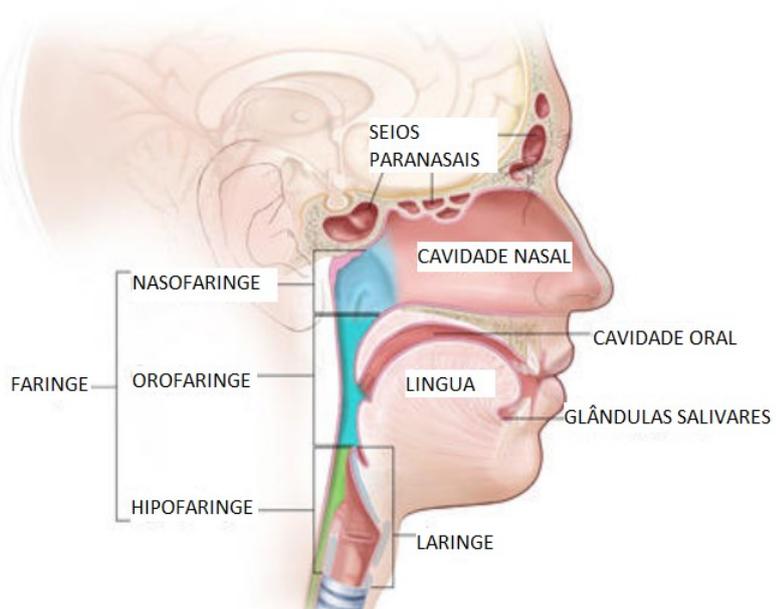
5. REVISÃO DA LITERATURA

5.1. Câncer de cabeça e pescoço: definições e anatomia

O CCP corresponde a um grupo heterogêneo de neoplasias malignas que surgem em várias estruturas anatômicas da região da cabeça e pescoço, como os ossos, os tecidos moles, as glândulas salivares, as membranas mucosas e a pele. A grande maioria dessas neoplasias origina-se no epitélio da região da cabeça e pescoço, de modo que o termo CCP geralmente é utilizado para descrever todos os cânceres que surgem da superfície mucosa do trato aerodigestivo superior (PAI e WESTRA, 2009). Essa definição é a utilizada pela *American Joint Committee of Cancer (AJCC)*, que ainda define as seguintes regiões da CCP (LYDIATT et al., 2017) (Figura 1):

- 1) Cavidade oral;
- 2) Faringe (que compreende a nasofaringe, orofaringe e hipofaringe);
- 3) Laringe;
- 4) Seios paranasais e cavidade nasal;
- 5) Glândulas salivares maiores e menores.

Figura 1 – Corte sagital do trato aerodigestivo superior. Em azul encontra-se a faringe (nasofaringe, orofaringe e hipofaringe).



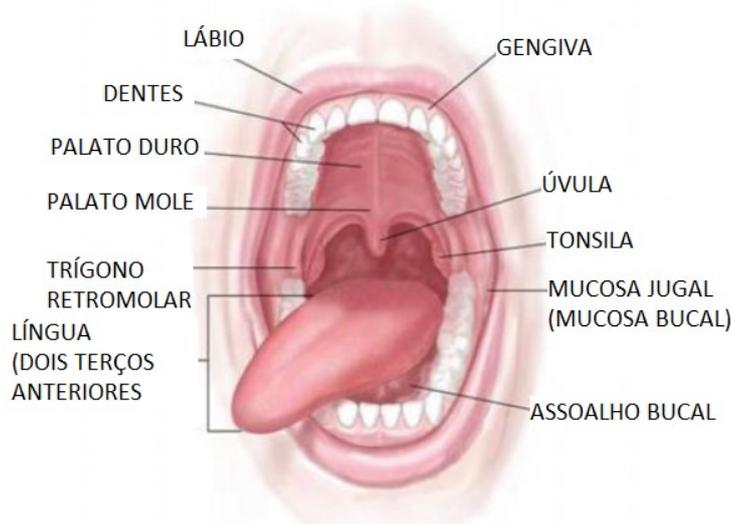
Fonte: Adaptado do NCI, 2017.

Algumas regiões da cabeça e pescoço possuem sub-regiões e algumas estruturas específicas (LEE, RIAZ e LU, 2015; HALPERIN et al., 2018; TEPPER, FOOTE E MICHALSKI, 2019).

A região da cavidade oral apresenta as seguintes estruturas (Figura 2):

- 1) Lábios (inferior e superior);
- 2) Dois terços anteriores da língua (anterior as papilas circunvaladas);
- 3) Gengivas (superior e inferior);
- 4) Mucosa jugal (revestimento interno das bochechas e lábios) (direita e esquerda);
- 5) Assoalho bucal;
- 6) Palato duro;
- 7) Trígono retromolar (pequena área de gengiva atrás dos últimos molares).

Figura 2 – Anatomia da cavidade oral.



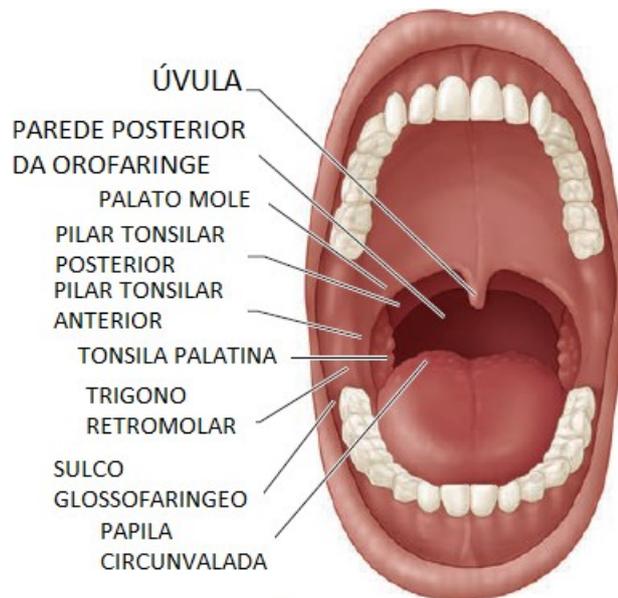
Fonte: Adaptado de Lee, Riaz e Lu, 2015.

A faringe é um tubo oco que mede cerca de 10 cm de comprimento e que se inicia atrás da região do nariz e termina no início do esôfago. Ela é dividida em três partes: a nasofaringe, a orofaringe e a hipofaringe. A nasofaringe é a parte superior da faringe e está logo atrás da região nasal (Figura 1). A orofaringe é a parte média da faringe e possui as seguintes estruturas (Figuras 3, 4 e 5):

- 1) Palato mole;
- 2) Tonsilas palatinas (ou amígdalas) (direita e esquerda);

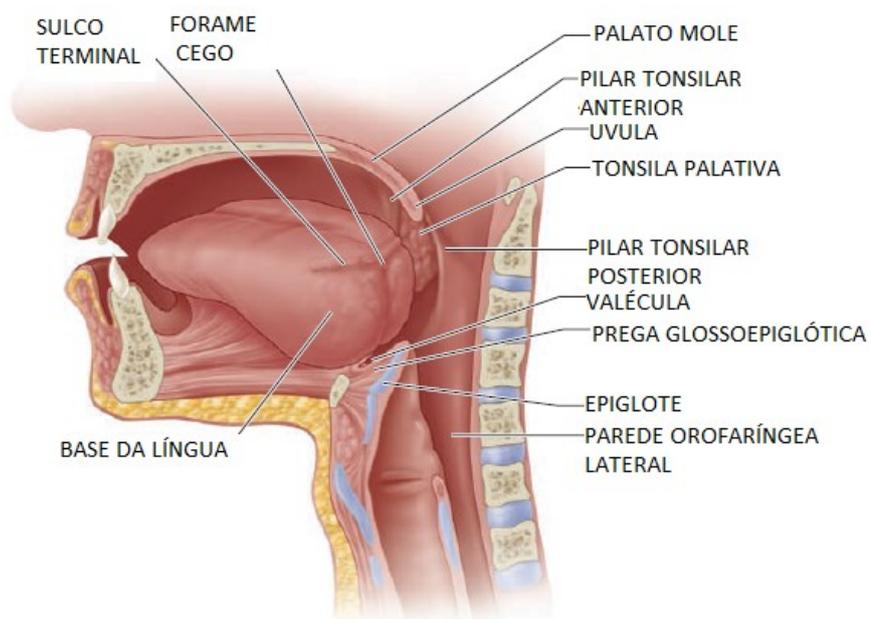
- 3) Pilares palatinos (ou pilares amigdalianos);
- 4) Base da língua (ou um terço posterior da língua) (ou tonsilas linguais) (posterior as papilas circunvaladas);
- 5) Parede faríngea.

Figura 3 – Anatomia da orofaringe.



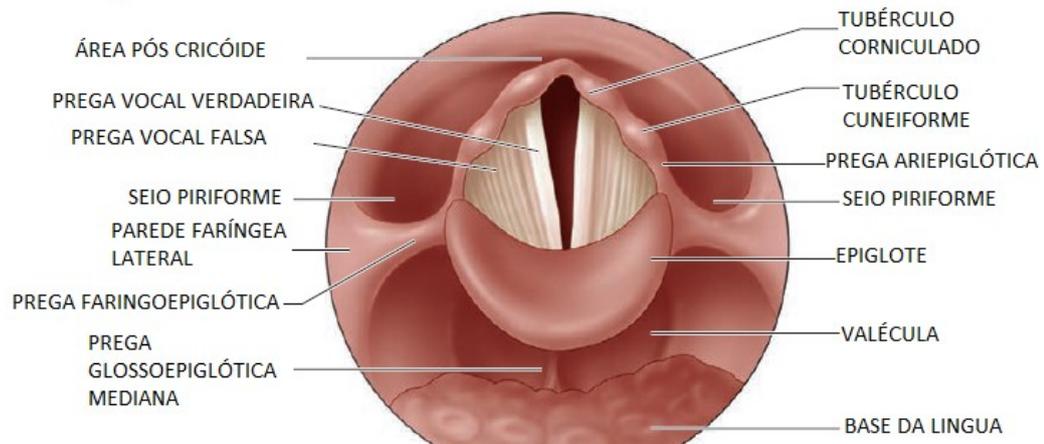
Fonte: Adaptado de Tepper, Foote e Michalski, 2019.

Figura 4 – Corte sagital da orofaringe e laringe.



Fonte: Adaptado de Tepper, Foote e Michalski, 2019.

Figura 5 – Anatomia da orofaringe, laringe e hipofaringe.

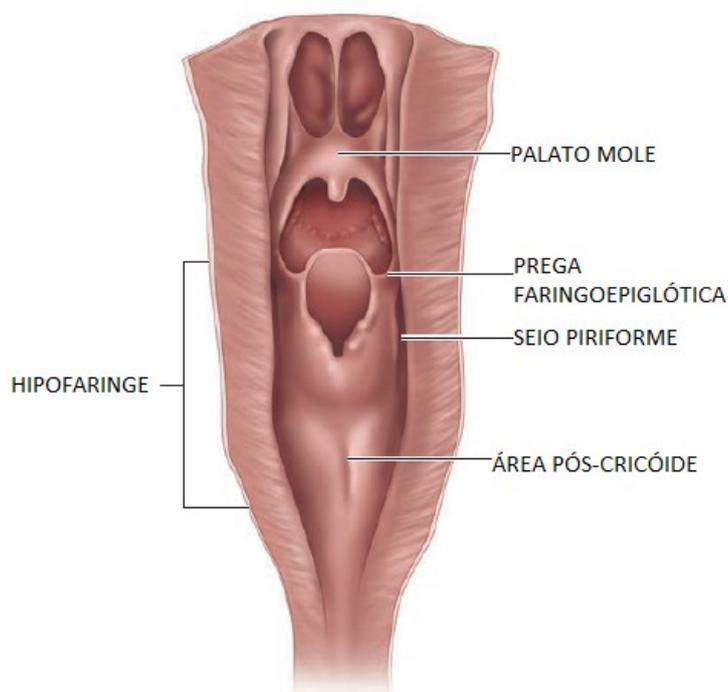


Fonte: Adaptado de Tepper, Foote e Michalski, 2019.

A hipofaringe é a parte inferior da faringe, localizada entre a borda superior do osso hióide e até a borda inferior da cartilagem cricóide e apresenta as seguintes sub-regiões (Figura 5 e 6):

- 1) Seios piriformes;
- 2) Área pós-cricóide;
- 3) Parede hipofaríngea lateral e posterior.

Figura 6 – Anatomia da hipofaringe.



Fonte: Adaptado de Tepper, Foote e Michalski, 2019.

A laringe é a região onde é produzida a voz (local das cordas vocais), e é uma região curta formada por um conjunto de cartilagens logo abaixo do tubo faríngeo. Ela é dividida em três sub-regiões: supraglote (região acima da glote), glote e infraglote (região abaixo da glote). A sub-região da supraglote possui as seguintes estruturas (Figuras 4, 5 e 7):

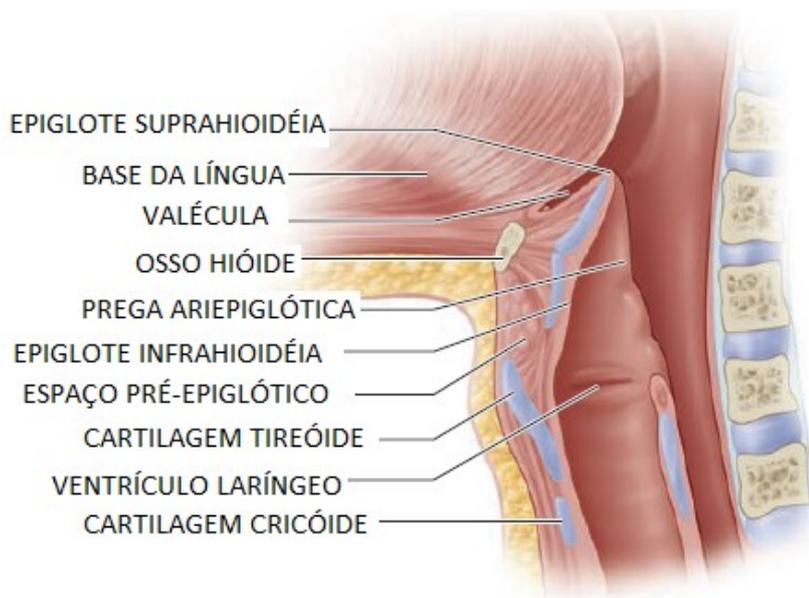
- 1) Epiglote supra-hióidea e infra-hióidea;
- 2) Pregas ariepiglóticas (direita e esquerda);
- 3) Cartilagens aritenóides (direita e esquerda);
- 4) Pregas vestibulares (ou falsas cordas vocais) (direita e esquerda).

A sub-região da glote é a sub-região que contém as cordas vocais e possui as seguintes estruturas:

- 1) Cordas vocais verdadeiras (direita e esquerda);
- 2) Comissura anterior;
- 3) Comissura posterior.

A sub-região da infraglote estende-se do limite inferior da sub-região da glote até o limite inferior da cartilagem cricóide.

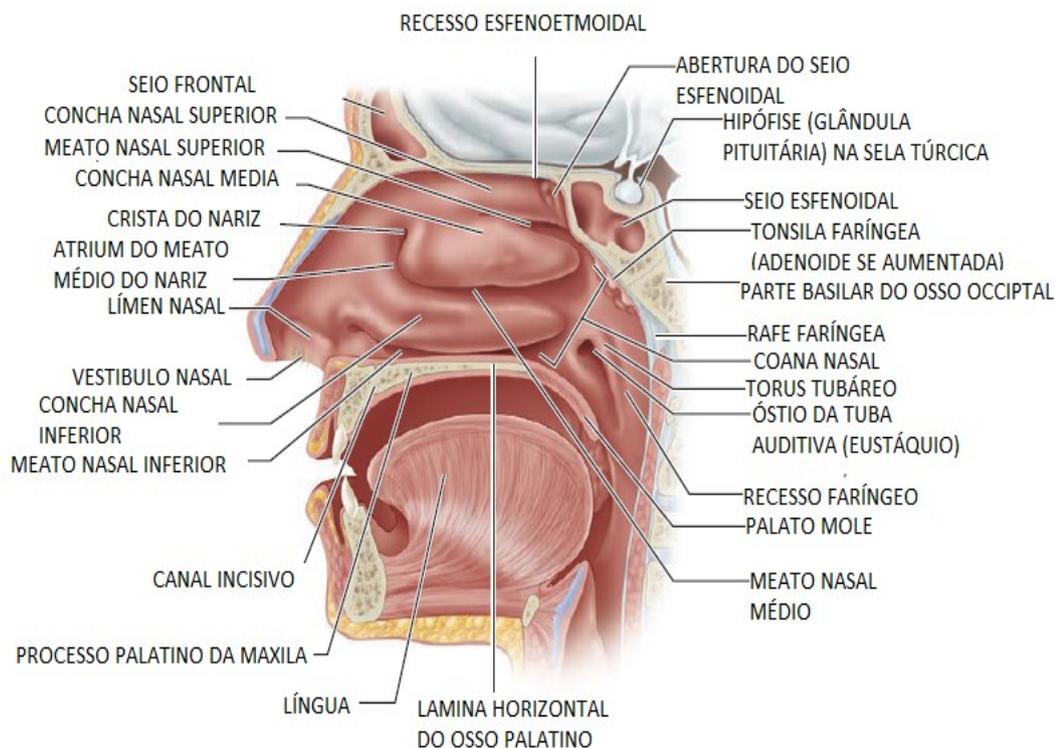
Figura 7 – Anatomia da laringe.



Fonte: Adaptado de Tepper, Foote e Michalski, 2019.

Os seios paranasais são pequenos espaços ociosos nos ossos da região craniana e a cavidade nasal é o espaço ocioso dentro do nariz (Figura 8).

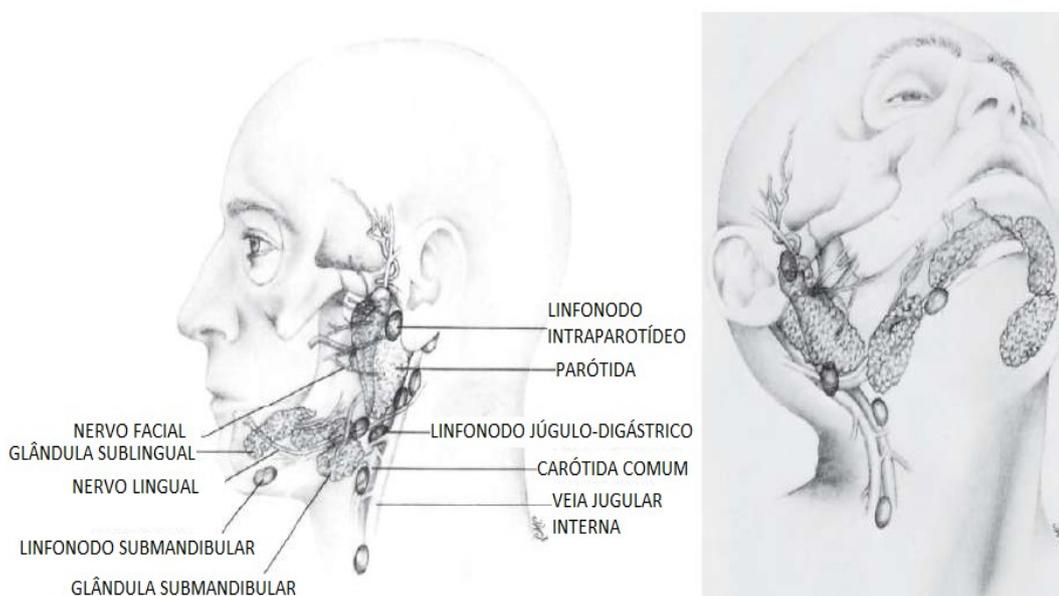
Figura 8 – Anatomia da cavidade nasal e seios da face.



Fonte: Adaptado de Tepper, Foote e Michalski, 2019.

As glândulas salivares produzem saliva e estão localizadas principalmente no assoalho bucal e próximo ao osso maxilar (Figura 9).

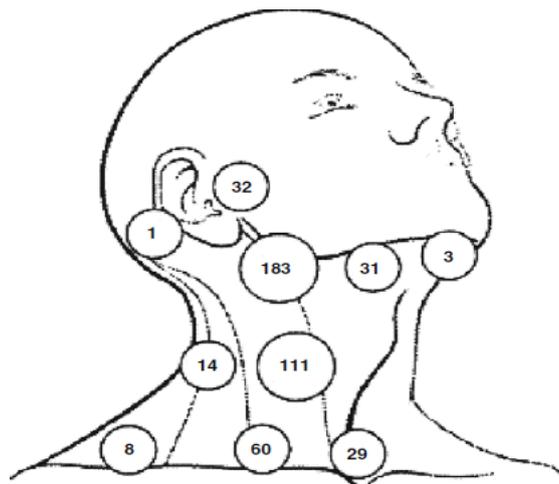
Figura 9 – Anatomia das glândulas salivares.



Fonte: Adaptado de Halperin et al, 2018.

Algumas vezes as células cancerosas podem ser encontradas nos linfonodos (ou gânglios linfáticos) (LFN) do pescoço, não havendo evidência de câncer em outras partes da cabeça e pescoço. Quando isso acontece, o câncer é chamado primário oculto de cabeça e pescoço (Figura 10) (KENNEL et al, 2019).

Figura 10 – Distribuição dos linfonodos acometidos no primário oculto de cabeça e pescoço.



Fonte: Adaptado de Lee, Riaz e Lu, 2015.

5.2. Câncer de cabeça e pescoço: epidemiologia

O estudo *Global Burden of Disease* (GBD) estimou 890.000 novos casos de CCP (cavidade oral, faringe e laringe) no mundo todo em 2017, correspondendo a 5,3% de todos os cânceres (excluindo os cânceres de pele não melanoma). Entre os CCP, os de cavidade oral foram os mais freqüentes, seguido pelos cânceres de laringe. Foi estimada uma mortalidade de 507.000 indivíduos relacionadas ao CCP, correspondendo a 5,3% de todas as mortes por câncer no mundo (GLOBAL BURDEN OF DISEASE CANCER COLLABORATION, 2019; AUPÉRIN, 2020). Em 2018, o CCP correspondeu ao 7º câncer mais comum no mundo (CHOW, 2020).

No período de 1997 a 2017, as taxas de incidência para os cânceres de nasofaringe e de laringe no mundo diminuíram, enquanto que a incidência para os cânceres de cavidade oral e de faringe aumentaram. Há variações geográficas nas taxas de incidência, sendo que os cânceres de cavidade oral apresentam a maior incidência no Sul da Ásia, seguido por América do Norte, Europa e

Australásia (AUPÉRIN, 2020).

No Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), estimam-se 11.180 casos novos de câncer da cavidade oral (localização primária em lábios, cavidade oral, glândulas salivares e orofaringe) em homens e 4.010 em mulheres para cada ano do biênio 2020-2022. Esses valores correspondem a um risco estimado de 10,69 casos novos a cada 100 mil homens (ocupando a quinta posição entre todos os cânceres em homens no Brasil) e de 3,71 para cada 100 mil mulheres (ocupando a décima terceira entre todos os cânceres em mulheres no Brasil). Em relação ao câncer de laringe, estima-se 6.470 casos novos em homens e 1.180 em mulheres para cada ano do biênio 2020-2022 no Brasil. O risco estimado será de 6,20 casos novos a cada 100 mil homens e de 1,06 casos novos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2019) (Figura 11).

Figura 11 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes no Brasil estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma*.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%	Homens	Mulheres	Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e reto	20.520	9,1%			Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.590	7,4%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
<u>Cavidade oral</u>	11.180	5,0%			Glândula tireoide	11.950	5,4%
Esófago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
<u>Laringe</u>	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema nervoso central	5.220	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: INCA, 2019.

Nos Estados Unidos da América (EUA), no ano de 2020, foi estimado 65.630 novos casos de CCP, nas localidades de cavidade oral, faringe e laringe, correspondendo a 3,6% de todos os novos casos de câncer no país. Foi estimada uma mortalidade de 14.620 mortes por CCP no período (NCCN, 2020; SIEGEL, MILLER, JEMAL, 2020).

O carcinoma de células escamosas (CEC) ou alguma variante do mesmo é o tipo histológico mais freqüente nos CCP, correspondendo a cerca de 90% dos

mesmos. O uso de álcool e de tabaco são fatores de riscos mais bem estabelecidos para os cânceres de cavidade oral, hipofaringe, laringe e orofaringe não Papiloma Vírus Humano (HPV) positivo. Devido ao trato aero - digestivo ser exposto a esses cancerígenos (álcool e tabaco), os pacientes com CCP possuem risco aumentado de desenvolver outras neoplasias malignas nas regiões de cabeça e pescoço, esôfago, pulmão e outros locais (NCCN, 2020; AUPÉRIN, 2020).

O HPV é uma causa estabelecida de cânceres escamosos de orofaringe, principalmente de amígdala e base de língua. Uma pequena parcela de cânceres escamosos de cavidade oral, laringe, nasofaringe e glândulas salivares também possuem relação com o HPV. A incidência de CCP HPV positivo está em crescimento em países desenvolvidos, como os EUA, enquanto que a de CCP HPV negativo (relacionado a álcool e tabaco) está decréscimo nesses países. Pacientes com CCP HPV positivo tendem a ser jovens, entretanto a incidência de pacientes mais velhos com CCP HPV positivo na região de orofaringe tem aumentado. Infecção oral por HPV 16 é fator de risco para câncer de orofaringe. Os HPV 18, 33 e 35 são responsáveis pela fração restante dos cânceres. Expressão dos oncogenes HPV E6 e E7 inativam as proteínas supressoras de tumores p53 e pRb, respectivamente, o que gera instabilidade genômica e o desenvolvimento do câncer. O perfil genético dos CCP HPV positivo é diferente dos CCP HPV negativo. Pacientes com CCP HPV positivo localmente avançado possuem melhor taxa de resposta ao tratamento e sobrevida do que CCP HPV negativo. A resposta ao tratamento é aumentada tanto em paciente recebendo QT e RT, como RT isolada (COORDES et al., 2015; NCCN, 2020; CHOW, 2020).

5.3. Câncer de cabeça e pescoço: estadiamento e tratamento

O local anatômico específico da doença, o estágio, os achados patológicos e as condições clínicas do paciente guiam o tratamento. Uma modalidade única de tratamento, com cirurgia ou RT é recomendada para os pacientes que se encontram no estágio inicial (estadio I ou II) (cerca de 30 a 40% dos CCP). Cirurgia e RT resultam em sobrevida similar para a grande maioria dos CCP, entretanto a cirurgia é preferida para a maioria dos CCP de cavidade oral e de seios da face, enquanto a RT, isolada ou concomitante a QT, é usualmente

preferida para todos os estádios de câncer de nasofaringe. As taxas de sobrevivência em longo prazo para pacientes tratados no estágio inicial é de 70 a 90% (NCCN, 2020; CHOW, 2020).

A terapia combinada (cirurgia e/ou RT e/ou QT) é geralmente recomendada para os pacientes com doença local ou regionalmente avançada ao diagnóstico (60% dos CCP) (NCCN, 2020). A doença localmente avançada traz um alto risco de recorrência local (15 a 40%) e de metástases à distância, com um prognóstico reservado (sobrevivência global em 5 anos, menor que 50%). A ressecção cirúrgica é preferida para o câncer de cavidade oral, em conjunto com a dissecação eletiva do pescoço, seguida de RT adjuvante ou quimiorradioterapia adjuvante (depende da avaliação de fatores de risco). Em outros locais, a cirurgia é geralmente recomendada para tumores primários menores e acessíveis. Essa modalidade cirúrgica também pode ser considerada em pacientes com tumores ressecáveis que têm pobre resposta após QT de indução e para doença persistente ou recorrente no sítio primário ou nos linfonodos regionais após quimiorradioterapia definitiva. Quando a ressecção cirúrgica é inviável ou resultaria em funcionamento em longo prazo ruim, a quimiorradioterapia é o tratamento curativo indicado (NCCN, 2020; CHOW, 2020).

QT com Cisplatina em alta dose (100mg por metro quadrado de área de superfície corporal, administrado por via intravenosa a cada 21 dias por três ciclos), simultaneamente com RT, é o tratamento padrão para quimiorradioterapia definitiva, com benefícios de sobrevivência para os pacientes com bom estado geral. Entretanto, devido aos efeitos tóxicos de curto e longo prazo associados à cisplatina, seu uso é predominantemente reservado para pacientes não idosos, que não possuem importantes doenças coexistentes. Para pacientes menos aptos e para pacientes nos quais as altas doses de cisplatina estão associadas com efeitos adversos inaceitáveis, terapias sistêmicas alternativas ainda não foram elucidadas, mas estão sendo investigadas (NCCN, 2020; CHOW, 2020).

O AJCC utiliza o sistema de estadiamento TNM (tumor, linfonodo, metástase), juntamente com o sistema *Union International Cancer Control* (UICC), para classificar a doença e determinar o tratamento para o CCP. O estadiamento muda de acordo com o sítio anatômico. O estadiamento T modifica-se de acordo com o sítio primário e extensão da doença. O estadiamento N corresponde ao estadiamento linfonodal e é igual para os cânceres de cavidade oral, laringe,

hipofaringe e orofaringe. O estadiamento M corresponde à metástase à distância (Quadros 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 e 18) (LYDIATT et al., 2017; AMIN et al., 2017; CHOW, 2020).

Quadro 1: Estadiamento T para o câncer de cavidade oral	
T	Definição
Tx	Não avaliável
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor ≤ 2 cm e até 5 mm de profundidade de invasão
T2	Tumor ≤ 2 cm e 5-10 mm de profundidade de invasão, ou Tumor > 2 cm e ≤ 4 cm e até 10 mm de profundidade de invasão
T3	Tumor > 2 cm e ≤ 4 cm e > 10 mm de profundidade de invasão ou Tumor > 4 cm e ≤ 10 mm de profundidade de invasão
T4a	<u>Doença localizada moderadamente avançada:</u> Tumor > 4 cm e profundidade de invasão > 10 mm ou Invasão de estruturas adjacentes apenas (através do osso cortical da mandíbula ou maxila ou envolve o seio maxilar ou a pele da face)
T4b	<u>Doença localizada muito avançada:</u> Invasão do espaço mastigatório, placas pterigoideas ou base do crânio, ou circunferencialmente a artéria carótida interna

Quadro 2: Estadiamento T para o câncer de orofaringe HPV negativo	
T	Definição
Tx	Não avaliável
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor ≤ 2 cm
T2	Tumor > 2 cm e ≤ 4 cm
T3	Tumor > 4 cm ou extensão para a superfície lingual da epiglote
T4a	Invasão de laringe, musculatura extrínseca da língua, pterigoide medial, palato duro ou mandíbula (extensão mucosa para a superfície lingual da epiglote a partir do tumor primário da base da língua e valécula não constitui invasão de laringe)
T4b	Invasão da musculatura pterigoide lateral, placas pterigoideas, nasofaringe lateral ou base de crânio, ou encarcera a artéria carótida

Quadro 3: Estadiamento T para o câncer de orofaringe HPV positivo	
T	Definição
T0	Sem evidência de tumor primário (linfonodo cervical p16 positivo)
T1	Tumor ≤ 2 cm

T2	Tumor > 2 cm e ≤ 4 cm
Quadro 3 continuação: Estadiamento T para o câncer de orofaringe HPV positivo	
T3	Tumor > 4 cm ou extensão para a superfície lingual da epiglote
T4	Invasão de alguma das estruturas seguintes: laringe, musculatura profunda / extrínseca da língua (Genioglosso, Hioglosso, Palatoglosso e Estiloglosso), pterigoide medial, palato duro, mandíbula, músculo pterigoide lateral, placas pterigoides, nasofaringe lateral, base de crânio ou encarcera a carótida

Quadro 4: Estadiamento T para o câncer de laringe, na região da supraglote	
T	Definição
Tx	Não avaliável
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor limitado a 1 sub-sítio da supraglote com mobilidade da corda vocal normal
T2	Tumor invade a mucosa de mais de 1 sub-sítio da supraglote ou glote ou alguma região fora da supraglote (mucosa da base da língua, valécula, parede medial do seio piriforme), sem fixação da laringe
T3	Tumor limitado à laringe com fixação da corda vocal e/ou invasão de uma das seguintes estruturas: área pós-cricóide, espaço pré-epiglótico, espaço paraglótico e/ou córtex interno da cartilagem tireoidiana
T4a	Invasão da cartilagem tireóide e/ou estruturas além da laringe, como traqueia, partes moles do pescoço, incluindo musculatura extrínseca profunda da base da língua, alça muscular, tireóide ou esôfago
T4b	Invasão do espaço pré-vertebral; engloba a artéria carótida ou estruturas mediastinais

Quadro 5: Estadiamento T para o câncer de laringe, na região da glote	
T	Definição
Tx	Não avaliável
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor limitado à corda vocal com mobilidade normal da mesma (pode envolver comissura anterior ou posterior)
T1a	Extensão para 1 corda vocal
T1b	Extensão para ambas as cordas vocais
T2	Tumor invade a supraglote e/ou subglote e/ou com mobilidade diminuída da corda vocal
T3	Tumor limitado à laringe com fixação da corda vocal e/ou invasão do espaço paraglótico e/ou invasão do córtex interno da cartilagem tireoidiana
T4a	Invasão além do córtex interno da cartilagem tireóide e/ou estruturas além da laringe, como traqueia, partes moles do pescoço incluindo musculatura extrínseca profunda da base da língua, alça muscular, tireóide ou esôfago
T4b	Invasão do espaço pré-vertebral; engloba a artéria carótida ou estruturas mediastinais

Quadro 6: Estadiamento T para o câncer de laringe, na região da subglote	
T	Definição
Tx	Não avaliável
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor limitado à subglote
T2	Tumor se estende à corda vocal com mobilidade normal ou diminuída
T3	Tumor limitado à laringe com fixação da corda vocal e/ou invasão do córtex interno da cartilagem tireóidea
T4a	Invasão das cartilagens tireóide ou cricoide e/ou estruturas além da laringe como traqueia, partes moles do pescoço, incluindo musculatura extrínseca profunda da base da língua, alça muscular, tireóide ou esôfago
T4b	Invasão do espaço pré-vertebral; engloba a artéria carótida ou estruturas mediastinais

Quadro 7: Estadiamento T para o câncer de hipofaringe	
T	Definição
Tx	Não avaliável
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor limitado a um sub-sítio da hipofaringe e/ou < 2cm
T2	Tumor se estende a mais de um sub-sítio ou sítios adjacentes ou mede entre 2 e 4 cm, sem fixação da hemilaringe
T3	Tumor > 4 cm ou com fixação da hemilaringe ou extensão para esôfago
T4a	Invasão das cartilagens tireóide ou cricóide, osso hióide, glândula tireóide ou de tecidos de partes moles do compartimento central
T4b	Invasão do espaço pré-vertebral; engloba a artéria carótida ou estruturas mediastinais

Quadro 8: Estadiamento T para o câncer de nasofaringe	
T	Definição
Tx	Não avaliável
T0	Sem evidência de tumor primário, mas com linfonodo cervical Epstein Barr (EBV) positivo
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor confinado à nasofaringe com ou sem extensão para orofaringe, fossa nasal, mas sem extensão parafaríngea
T2	Tumor com extensão parafaríngea, infiltração do pterigoide medial, pterigoide lateral e/ou músculos pré-vertebrais
T3	Tumor invade estruturas ósseas da base do crânio e/ou envolve seios paranasais ou estruturas pterigoideas
T4	Tumor com extensão intracraniana e/ou envolvimento de nervos cranianos, fossa infratemporal, hipofaringe, órbita, glândula parótida e/ou infiltração além da superfície

	lateral do músculo pterigóideo lateral
Quadro 9: Estadiamento N clínico para todos os cânceres de cabeça e pescoço, exceto orofaringe HPV positivo e nasofaringe	
N	Definição
Nx	Não avaliável
N0	Sem metástases para linfonodos regionais
N1	Metástase em 1 linfonodo ipsilateral ≤ 3 cm e sem extensão extranodal (EEN)
N2a	Metástase em 1 linfonodo único ipsilateral > 3 cm e ≤ 6 cm e sem extensão extranodal
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos ipsilaterais, nenhum > 6 cm e sem extensão extranodal
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum > 6 cm e sem extensão extranodal
N3a	Metástase em linfonodos > 6 cm sem extensão extranodal
N3b	Metástase em qualquer linfonodo com extensão extranodal

Quadro 10: Estadiamento N patológico para todos os cânceres de cabeça e pescoço, exceto orofaringe HPV positivo e nasofaringe	
N	Definição
Nx	Não avaliável
N0	Sem metástases para LFN regionais
N1	Metástase em 1 linfonodo ipsilateral ≤ 3 cm e sem extensão extranodal
N2a	Metástase em 1 linfonodo ipsilateral ≤ 3 cm e com extensão extranodal, ou Metástase em 1 linfonodo único ipsilateral > 3 cm e ≤ 6 cm e sem extensão extranodal
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos ipsilaterais, nenhum > 6 cm e sem extensão extranodal
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum > 6 cm e sem extensão extranodal
N3a	Metástase em linfonodos > 6 cm sem extensão extranodal
N3b	Metástase em 1 linfonodo ipsilateral > 3 cm e com extensão extranodal, ou Metástase em múltiplos linfonodos ipsilaterais, bilaterais ou contralaterais com extensão extranodal, ou Metástase em 1 linfonodo único contralateral de qualquer tamanho com extensão extranodal

Quadro 11: Estadiamento N clínico para orofaringe HPV positivo	
N	Definição
Nx	Não avaliável
N0	Sem metástases para LFN regionais
N1	Metástase em linfonodos cervicais ipsilaterais ≤ 6 cm
N2	Metástase em linfonodos cervicais contralaterais ou bilaterais ≤ 6 cm
N3	Metástase em linfonodos cervicais ipsilaterais > 6 cm

Quadro 12: Estadiamento N patológico para orofaringe HPV positivo	
N	Definição
Nx	Não avaliável
N0	Sem metástases para linfonodos regionais
N1	Metástase em ≤ 4 linfonodos regionais
N2	Metástase em > 4 linfonodos regionais

Quadro 13: Estadiamento N para nasofaringe	
N	Definição
Nx	Não avaliável
N0	Sem metástases para linfonodos regionais
N1	Metástase em linfonodos cervicais unilateral e/ou retrofaríngeos unilaterais ou bilateral, com ≤ 6 cm, acima da borda caudal da cartilagem cricóide
N2	Metástase em linfonodos cervicais bilaterais ≤ 6 cm, acima da borda caudal da cartilagem cricóide
N3	Metástase em linfonodos cervicais > 6 cm e/ou extensão abaixo da borda caudal da cartilagem cricóide

Quadro 14: Estadiamento M para todos os cânceres de cabeça e pescoço	
M	Definição
M1	Ausência de metástases à distância
M2	Presença de metástases à distância

Quadro 15: Agrupamento TNM para todos os cânceres de cabeça e pescoço, exceto orofaringe HPV positivo e nasofaringe			
Estádio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
	T1-T3	N1	M0
IVa	T1-T3	N2	M0
	T4a	N0-N2	M0
IVb	Qualquer	N3	M0
	T4b	Qualquer	M0
IVc	Qualquer	Qualquer	M1

Quadro 16: Agrupamento TNM clínico para os tumores de orofaringe HPV +			
Estádio	T	N	M
I	T0-T2	N0/N1	M0
II	T0-T2	N2	M0
	T3	N0-N2	M0
III	T1-T3	N3	M0
	T4	Qualquer	M0
IV	Qualquer	Qualquer	M1

Quadro 17: Agrupamento TNM patológico para os tumores de orofaringe HPV +			
Estádio	T	N	M
I	T0-T2	N0/N1	M0
II	T0-T2	N2	M0
	T3-T4	N0/N1	M0
III	T3-T4	N2	M0
IV	Qualquer	Qualquer	M1

Quadro 18: Agrupamento TNM para os tumores de nasofaringe			
Estádio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T1	N1	M0
	T2	N0/N1	M0
III	T1/T2	N2	M0
	T3	N0-N2	M0
IVa	T4	N0-N2	M0
	Qualquer	N3	M0
IVb	Qualquer	Qualquer	M1

Geralmente, estádios iniciais (I e II) correspondem a tumores pequenos, sem envolvimento linfonodal importante. Estádios avançados (III e IV) correspondem à doença localmente avançada com invasão das estruturas adjacentes ou com vários linfonodos acometidos. A metástase à distância também é definida como estágio IV (LYDIATT et al., 2017; AMIN et al., 2017; CHOW, 2020).

Em 2017, o AJCC e o UICC introduziram um sistema de estadiamento separado para câncer de orofaringe HPV positivo, devido o reconhecimento do melhor prognóstico para esse subgrupo. Para avaliação da presença ou ausência de HPV é necessário técnicas para avaliação do Ácido Desoxirribonucléico (DNA) do HPV ou da carga viral, como a hibridização in situ ou a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), ou imunohistoquímica para detectar a expressão p16 (marcador para positividade do HPV) (LYDIATT et al., 2017; AMIN et al., 2017; CHOW, 2020).

Os dados atuais são insuficientes para recomendar mudanças no tratamento ou um tratamento menos intensivo para o CCP HPV positivo. Os CCP orofaringe HPV positivos localmente avançados possuem taxa de sobrevida em longo prazo superior a 80% e assim há a preocupação em relação aos efeitos colaterais em longo prazo do tratamento e a qualidade de vida dos pacientes (CHOW, 2020).

5.4. Radioterapia: conceitos, ação, danos e relação com câncer de cabeça e pescoço

Após o descobrimento dos raios X por Wilhelm Conrad Röntgen em 1895 e do rádio por Marie e Pierre Curie em 1898, iniciou-se, no final do século 19, o uso da radioterapia para o tratamento de doenças. No início do século 20 já era uma possibilidade de tratamento para os cânceres (TEPPER, FOOTE E MICHALSKI, 2019).

A radioterapia é uma modalidade clínica que faz uso de radiações ionizantes para tratamento de pacientes com neoplasias malignas (e ocasionalmente doenças benignas). O objetivo da radioterapia é fornecer uma dose definida de irradiação com precisão em um volume de tumor definido com o mínimo possível de dano ao tecido saudável circundante, resultando assim na erradicação do tumor, alta qualidade de vida para o paciente e prolongamento da sobrevida ou palição dos sintomas a um custo razoável. Além de esforços curativos, a radioterapia desempenha um papel importante no manejo da palição e na prevenção dos sintomas da doença: a dor pode ser aliviada, a patência luminal pode ser restaurada, a integridade do esqueleto pode ser preservada e a função do órgão pode ser restabelecida com morbidade mínima (HALPERIN et

al., 2018)

Os efeitos biológicos da radiação ionizante são em grande parte resultados de danos ao DNA, que são causados diretamente (efeito direto) (corresponde a 40% do efeito biológico total) pela ionização dentro da molécula de DNA ou indiretamente (efeito indireto) (corresponde a 60% do efeito biológico total) através da ação de radicais livres formados como resultado de ionizações locais em água. A hidroxila é o principal radical livre oxidante e ele é formado através da radiólise da água. A hidroxila reage com moléculas orgânicas e origina os radicais livres (HALPERIN et al., 2018).

As formas gerais de danos ao DNA são danos à base, ligações cruzadas no DNA e em proteínas, quebras de fita simples, quebras de fita dupla e combinações complexas de todos esses danos. As células normais de mamíferos reparam uma proporção significativa dos danos ao DNA induzidos por radiação. Conseqüências biológicas de longo prazo são os resultados dessas lesões, que são irreparáveis ou mal reparadas. A célula tentará reparar a lesão de DNA induzida por radiação por meio de várias vias. Quebra das fitas de dupla hélice do DNA pode ser irreversível, levando à morte celular (HALPERIN et al., 2018).

A radiação pode gerar dois tipos de efeitos nos tecidos: tipo agudo e tipo tardio. O efeito agudo, também chamado de precoce, ocorre algumas semanas após o início das sessões de RT. O efeito tardio ocorre após meses ou anos de término de RT. Os tecidos que apresentam alto índice de proliferação celular (tecidos de resposta rápida), como a pele, mucosas, tecido hematopoiético, apresentam suscetibilidade para os efeitos do tipo precoce. Os tecidos que apresentam baixa atividade mitótica (tecidos de resposta lenta), como tecido neural e renal, são mais susceptíveis aos efeitos tardios (HALPERIN et al., 2018; TEPPER, FOOTE E MICHALSKI, 2019).

Há dois tipos de modalidade de radioterapia: a braquiterapia e a teleterapia. A braquiterapia, do grego *brachys*, que significa “contato”, é a radioterapia na qual a fonte de radiação é colocada diretamente (em contato) com o tecido ou órgão a ser irradiado. A fonte de radiação da braquiterapia vem de um isótopo radioativo instável que gera raios gama. A teleterapia, do latim *tele*, que significa “a uma distância”, é a radioterapia externa, na qual há uma distância da fonte radioativa e o tecido ou órgão a ser irradiado. A fonte de radiação da teleterapia vem de aparelhos, como o acelerador linear e o aparelho de Cobalto,

que geram raio-X (HALPERIN et al., 2018; TEPPER, FOOTE E MICHALSKI, 2019).

Na abordagem oncológica, a RT possui papel no tratamento do CCP localizado e localmente avançado. Nas últimas duas décadas houve grande progresso na RT dos CCP, através de melhora das técnicas utilizadas para o tratamento e nas indicações e no controle dos efeitos colaterais. No geral, o resultado em longo prazo do tratamento dos CCP é aceitável. Entretanto, durante e após o tratamento, vários efeitos colaterais podem surgir, de gravidade variável (HALPERIN et al., 2018; TEPPER, FOOTE E MICHALSKI, 2019).

Os principais efeitos agudos que podem surgir durante a RT são a mucosite, disfagia, odinofagia, esofagite, disfonia, alteração do paladar, radiodermite, xerostomia, perda de peso e infecções (locais ou sistêmicas). Os principais efeitos tardios são fibrose, osteorradionecrose, xerostomia, ototoxicidade e disfunção tireoidiana (HALPERIN et al., 2018; TEPPER, FOOTE E MICHALSKI, 2019).

5.5. Fungos do gênero *Candida* sp. na cavidade oral

Os fungos são organismos eucariontes (núcleo delimitado por membrana), unicelulares ou multicelulares, e heterotróficos (incapazes de produzir seu próprio alimento). Eles estão dispersos no meio ambiente, em vegetais, ar, solo e água. Há mais de 400 mil espécies descritas, sendo que menos de 150 foram diagnosticadas como patógenos dos mamíferos, incluindo humanos. As leveduras são fungos unicelulares capazes de colonizar o homem e animais e, quando há a perda do equilíbrio parasita-hospedeiro podem causar várias doenças infecciosas com formas clínicas localizadas ou disseminadas (ANVISA, 2004). De modo contrário, fungos filamentosos, também chamados de bolores, normalmente, não fazem parte da microbiota animal e assim o ser humano não é um reservatório importante para esses tipos de fungos. As portas de entrada desses fungos no hospedeiro são geralmente as vias aéreas superiores ou a quebra na barreira epidérmica após traumatismos com objetos perfuro-cortantes (ANVISA, 2004).

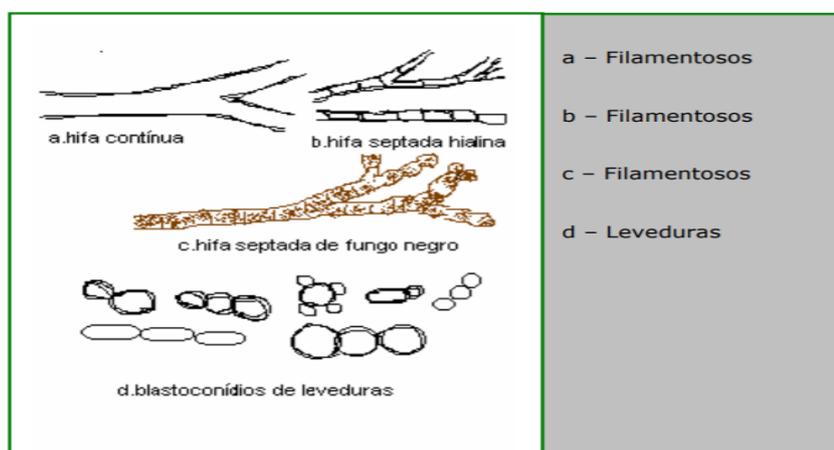
Os fungos de interesse médico são de dois tipos morfológicos (fenótipo): leveduras (unicelulares) e fungos filamentosos (multicelulares) (Figura 12). Há um subgrupo dentro dos fungos filamentosos, chamados fungos dimórficos, que se

apresentam sob ambas as formas (levedura ou filamentosos), dependendo principalmente da temperatura, mas também sob a influência do teor de CO₂ e das condições nutricionais (ANVISA, 2004).

As leveduras têm como estrutura primária células que se reproduzem por brotamento (único ou múltiplo), geralmente de forma arredondada ou oval. Estas células são esporos de origem assexual e se chamam blastoconídios. Alguns gêneros de leveduras reproduzem-se por fissão. Os fungos filamentosos possuem como elemento constituinte básico a hifa, que pode ser septada ou não septada (cenocítica). A partir da hifa geram-se os esporos, que permitem a propagação das espécies. Em grande parte dos fungos, os esporos podem ser chamados de conídios (quando nascem diretamente delas ou sobre estruturas ligadas a elas) (ANVISA, 2004).

Esses conceitos fundamentais representam a base para a identificação de um fungo. A classificação de fungo filamentosos é feita, geralmente, pelas características morfológicas (fenótipo), macroscópicas (aspecto, cor, textura da colônia, etc.), e microscópicas (cor e forma da hifa, presença ou não de septos, arranjo e tipo de esporos, etc.), e da velocidade de crescimento (lenta, moderada ou rápida). A identificação de leveduras é feita, principalmente, por características fisiológicas, pois a morfologia destes tipos de fungos não é muito diversificada e não permite distinção entre espécies e até entre gêneros (ANVISA, 2004).

Figura 12 – Estruturas microscópicas básicas dos fungos: a, b, c – filamentosos, d – leveduras.



Fonte: ANVISA, 2004.

Dentre as centenas de espécies de fungos existentes, as leveduras do gênero *Candida* sp. são os maiores causadores de infecção hospitalar oportunística, representando um risco sério para pacientes com doenças graves e para aqueles em situação pós-operatório. Há ainda outras leveduras, presentes nos vegetais, ar atmosférico, água e na pele e no trato gastrointestinal dos seres humanos, que também podem causar quadros infecciosos, como os gêneros *Rhodotorula* sp., *Pichia* sp. (*Hansenula* sp.) e *Trichosporon* sp., e outros (ANVISA, 2004).

Fungos filamentosos, existentes no meio ambiente, também podem causar infecção em pacientes suscetíveis. O gênero *Aspergillus* sp. (*Aspergillus terreus*, *A. flavus*, *A. fumigatus* e *A. niger*) é o mais descrito como fungo oportunista, principalmente em pacientes neutropênicos e transplantados de medula óssea, sendo que a inalação de esporos é a via mais comum de transmissão (ANVISA, 2004).

O gênero *Candida* sp. está composto por leveduras pertencentes ao filo Ascomycota, que fazem parte da microbiota do corpo humano e de animais, colonizando a pele e mucosas dos tratos digestivo e urinário, bucal e vaginal. Atualmente, há cerca de duzentas leveduras do gênero *Candida* sp., sendo que cerca de 15 espécies são nocivas ao ser humano. O principal fator de surgimento de infecções pelo gênero *Candida* sp. é a perda de equilíbrio parasita-hospedeiro devido alterações na barreira tecidual, na microbiota do hospedeiro e no sistema imunológico (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

As infecções por *Candida* sp. variam desde manifestações superficiais (pele e mucosas), como a candidíase vulvovaginal e candidíase orofaríngea (COF), a infecções sistêmicas graves e com risco de vida, como a candidíase disseminada e fungemia (candidemia). Os fatores de risco para o desenvolvimento de candidemia são: tratamento prolongado em unidades de terapia intensiva, cateteres venosos centrais, cirurgia gastrointestinal, politrauma, idade avançada, imunossupressão grave, neutropenia, tumores sólidos, malignidades hematológicas e outros (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

Das espécies do gênero *Candida* sp. a *Candida albicans* é a mais prevalente em casos de candidíase. Ela é um fungo polimórfico leveduriforme, colonizando a orofaringe, a região genital e a mucosa gastrointestinal de cerca de 30 a 70% dos indivíduos saudáveis (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

A maioria das infecções de *Candida* sp. são causadas por apenas cinco espécies: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

Nas últimas décadas, a incidência de infecções por *Candida albicans*, diminuiu, enquanto a incidência de infecções por *Candida* não-*albicans* aumentou. Nos países do Norte, a *Candida glabrata* é encontrada com mais frequência, o que pode ser atribuído ao aumento do uso de fluconazol no tratamento de infecções por *Candida* sp. (*Candida glabrata* é intrinsecamente resistente ao fluconazol) (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

Algumas espécies de *Candida* spp. foram associadas a certos grupos de risco, sugerindo que diferenças em suas abordagens de colonização e de sobrevivência promovem infecções apenas em circunstâncias bem definidas. As *Candida glabrata* e *Candida tropicalis* são mais comumente descritas em pacientes com neoplasias hematológicas ou de órgãos sólidos e com neutropenia. As infecções por *Candida krusei* ocorrem principalmente em pacientes que foram submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas. As infecções por *Candida parapsilosis* estão associadas a pacientes neonatos e a cateteres (provavelmente devido seu papel na microbiota da pele) (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

5.6. Candidíase orofaríngea (COF) e radioterapia

A COF é uma desordem comum em paciente durante e após tratamento oncológico. Ela é precedida por um estágio de colonização da mucosa oral por *C. albicans*, cuja frequência foi estimada entre 12% a 96%, dependendo dos estudos. Dados recentes sobre a frequência da COF em paciente oncológicos são limitados e provavelmente a prevalência da COF é subestimada. Os estudos apresentam grandes variações, devido grande disparidade na população estudada e nos critérios de diagnóstico. No geral, a prevalência reportada nos tumores sólidos é de 5-60%, no transplante autólogo de medula óssea é de 20-80% e nos pacientes com HIV é de 20% (com terapia retroviral) (BENSADOUN et al., 2011)

A COF pode se apresentar como uma infecção dolorosa que afeta a qualidade de vida, podendo estender-se ao esôfago ou resultar em infecção

sistêmica. As principais formas clínicas descritas são a pseudomembranosa (sapinho), a eritematosa (atrófica) e a queilite angular (BENSADOUN et al., 2011). Elas podem afetar a língua (glossite), a cavidade oral (estomatite) e a comissura labial (queilite) (BENSADOUN et al., 2011).

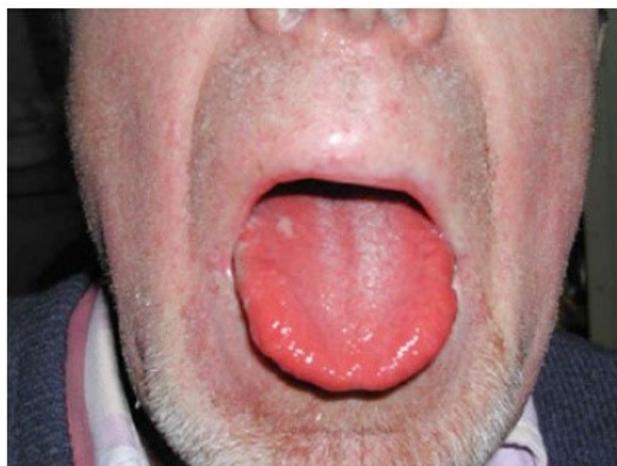
A forma pseudomembranosa (Figura 13 e 14) é caracterizada pela presença de lesões brancas, muitas vezes confluentes, que repousam sobre uma base eritematosa. Essas lesões podem surgir em todas as regiões da cavidade oral, incluindo a língua, a mucosa bucal, o palato duro e mole e o tecido faríngeo (BENSADOUN et al., 2011).

Figura 13 – Candidíase orofaríngea: forma pseudomembranosa (sapinho).



Fonte: Bensadoun et al., 2011.

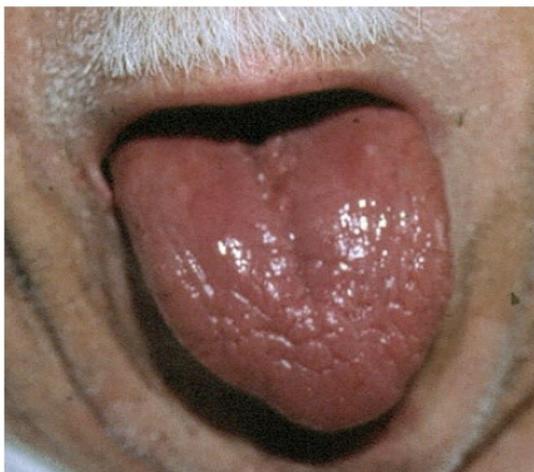
Figura 14 – Candidíase orofaríngea: forma pseudomembranosa (úmida).



Fonte: Bensadoun et al., 2011.

A forma eritematosa (Figura 15) é caracterizada por um eritema difuso da mucosa oral afetada. As membranas mucosas podem parecer secas, vermelhas e vitrificadas. Quando envolve a língua, geralmente está localizada no meio da parte superior (dorso) da língua e há perda das papilas linguais, com presença de eritema, podendo ter uma lesão de contato palatal (lesão em beijo) (BENSADOUN et al., 2011).

Figura 15 – Candidíase orofaríngea: forma eritematosa (atrófica).



Fonte: Bensadoun et al., 2011.

A forma queilite angular (Figura 16) pode vir independentemente ou com outras lesões de COF, sendo que a fonte de infecção nos cantos da boca vem da colonização oral. O envolvimento da comissura labial pode se apresentar como eritematoso e às vezes hiperqueratótico com fissuras e sensibilidade (dor nos cantos da boca) (BENSADOUN et al., 2011).

Figura 16 – Candidíase orofaríngea: forma queilite angular.



Fonte: Bensadoun et al., 2011.

A COF possui vários sintomas: nenhuma ou mínimas reclamações, sensação de queimação e de boca seca, odinofagia, disgeusia (muitas vezes descrita como um sabor metálico na boca) e cheiro de infecção fúngica (BENSADOUN et al., 2011).

A mucosite oral (feridas e úlceras na mucosa oral) é uma das toxicidades mais significativas associadas com a RT no tratamento do CCP. A RT gera lesão na barreira mucosa oral, permitindo a colonização e a infecção microbiana, levando assim ao aumento da lesão tecidual. A candidíase oral, após a colonização da mucosa por espécies de *Candida* sp., é a infecção mais comum em pacientes com CCP recebendo RT. Um em cada três pacientes tem probabilidade de desenvolver candidíase oral durante o tratamento radioterápico (GUNJEST et al., 2017).

Existe uma grande variação (17-52,5%) na epidemiologia da candidíase oral induzida por RT em diferentes estudos no que diz respeito à incidência. A principal razão para a grande variabilidade na incidência é em parte devido à dificuldade em distinguir candidíase oral (especialmente candidíase pseudomembranosa) da mucosite oral induzida por radiação e porque as reações da mucosa induzidas por radiação podem ser sobrepostas por candidíase oral, fazendo assim o diagnóstico diferencial ainda mais desafiador (GUNJEST et al., 2017).

A RT tem efeitos prejudiciais na função da glândula salivar (diminui sua função), favorecendo com isso, um ambiente ideal para o crescimento excessivo de fungos oportunistas, e levando assim a uma detecção fácil e aumentada das taxas de cultura positiva para *Candida* sp. (GUNJEST et al., 2017).

Candida albicans é descrita como a espécie de *Candida* sp. predominante. Entretanto, no relatório de estudos recentes foram descritos aumento na incidência de *Candida* não-*albicans* nos pacientes que recebem RT (GUNJEST et al., 2017).

5.7. Identificação das espécies de *Candida* sp.

O diagnóstico laboratorial de fungos pode ser feito através da observação direta nas amostras biológicas, isolamento em culturas, testes biológicos e uso de técnicas moleculares (ZAITZ et al., 2010).

O exame direto, ou observação direta, é um método rápido presuntivo, de baixo custo, que não permite a identificação do gênero ou da espécie do fungo. O isolamento em meio de cultura é necessário para o processo de diagnóstico e identificação do fungo. No caso do gênero *Candida* sp. a cultura e a identificação da espécie pode demorar de 5 a 21 dias para obtenção de uma identificação definitiva (ZAITZ et al., 2010).

As espécies do gênero *Candida* sp. crescem em meios de composição simples, como o Agar Sabouraud Dextrose (ASD), desenvolvendo colônias glabras, de coloração branca ou bege, úmidas e cremosas, às vezes rugosa e seca, com odor característico. Na microscopia óptica, a formação de células globosas, alongadas ou ovaladas, medindo cerca de 3 por 7µm a 3 por 14µm, Gram-positivas, algumas apresentando brotamentos e pseudo-hifas podem ser observadas (LACAZ et al., 2002; RIBEIRO et al, 2014; SIDRIM e ROCHA, 2004).

A prova de formação de tubo germinativo possibilita a identificação presuntiva das espécies *C. albicans* e *C. dubliniensis* (tubo germinativo positivo) de outras espécies de leveduras (tubo germinativo negativo). As leveduras são colocadas em soro animal ou humano, a 37°C durante cerca de 2 a 3 horas. O tubo germinativo é uma projeção alongada, que emerge da levedura, e possui metade da largura e comprimento de três a quatro vezes o diâmetro da célula mãe. Essa técnica é um excelente teste para a identificação presuntiva de *C. albicans* e *C. dubliniensis*, sendo que o índice de positividade é de 94 a 97%. As outras espécies de *Candida* spp., como *C. tropicalis*, não produzem tubo germinativo verdadeiro (que não apresenta constrição no ponto de origem), podendo apresentar prolongamentos que são pseudo-hifas (área de constrição próximo a célula mãe) (Figura 17) (SIDRIM, ROCHA, 2004).

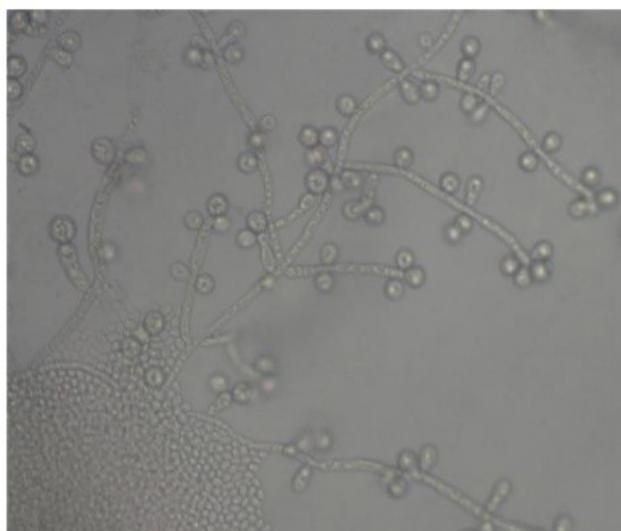
Figura 17 – Tubo germinativo emergindo de um blastoconídio. *Candida Albicans* (400X).



Fonte: Elisei, 2009.

O microcultivo de levedura em ágar fubá Tween-80 (Monooleato de Sorbitan Etoxilado) ou ágar arroz com Tween-80 possibilita o estudo micromorfológico e tem o objetivo de diferenciar as estruturas de reprodução assexuada, formadas durante o crescimento do fungo in vitro. Quando cultivados em baixa tensão de oxigênio, há estímulo para a produção de pseudo-hifas, clamidoconídios e blastoconídios. A presença de clamidoconídios terminais é característica de *C. albicans* ou de *C. dubliniensis*, sendo que mais de 90% dos isolados de *C. albicans* produzem clamidoconídios terminais (Figura 18) (LACAZ et al., 2002; SIDRIM, ROCHA, 2004; RIBEIRO et al, 2014).

Figura 18 – Micromorfologia de *C. albicans* em ágar fubá, destacando-se a presença de grande número de clamidósporos, sésseis e terminais (400X).



Fonte: Elisei, 2009.

Os testes bioquímicos para a identificação das leveduras são baseados fundamentalmente nas provas (testes) de assimilação de carboidratos e nitrogênio (auxonograma) e na prova de fermentação de carboidratos (zimograma). O princípio da prova de assimilação de carboidratos e nitrogênio se baseia na capacidade da levedura de crescer aerobicamente na presença de fonte única de energia (carboidrato ou nitrogênio). A prova de fermentação de carboidratos fundamenta-se na capacidade das leveduras, na ausência de oxigênio, de fermentar determinados carboidratos produzindo gás carbônico (SIDRIM, ROCHA, 2004).

Com o objetivo de reduzir o trabalho e o tempo que são necessários na identificação das leveduras pelos métodos clássicos (Agar Sabouraud Dextrose - ASD, pesquisa em tubo germinativo, microcultivo em ágar fubá com Tween-80, o crescimento a 42°C com ASD) a indústria criou kits de identificação e meios de cultivo que apresentam sensibilidade e especificidade variáveis (SIDRIM, ROCHA, 2004).

Desde 1950, há vários meios de cultivo capazes de fornecer o crescimento de colônias de cores distintas, de acordo com espécie de levedura, com reduzidas sensibilidade e especificidade. Na década de 90 foi lançado o CHROMagar *Candida*® (CHROMagar Company, França), um método com sensibilidade e especificidade superior a 99% para *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* (SIDRIM, ROCHA, 2004).

O meio CHROMagar *Candida* (CHROMagar Company, França) é um meio de isolamento e identificação presuntivo para as espécies *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*. Esse meio contém antibiótico Clorafenicol para inibir bactérias e é utilizado para isolamento de leveduras e fungos filamentosos (sem resposta cromogênica definida). O meio é composto por substratos cromogênicos, fazendo com que as colônias de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* produzam diferentes cores e assim permite a identificação direta dessas espécies na placa de isolamento primário. Devido às diferenças nas cores e morfologias das colônias o meio facilita a identificação de culturas mistas ou contaminantes bacterianos. As colônias de *C. albicans* produzem cor verde a verde claro (Figura 19). As de *C. krusei* de cor rosa claro a rosa pink, fosca, podendo desenvolver borda esbranquiçada (Figura 20). As de *C. tropicalis* de cor azul metálico a azul escuro (Figura 21). Outras espécies de leveduras podem criar colônias com sua cor natural (creme) ou colônias de cor malva a malva escura (por exemplo, *C. glabrata* e outras espécies) devendo ser identificadas por outras metodologias (Figura 22). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis* e outras espécies que não *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, não podem ser diferenciadas por esse meio (BEIGHTON et al., 1995; LABORCLIN, 2020).

Figura 19 – Colônias de *C. albicans* no meio CHROMagar Candida



Fonte: Laborclin, 2000.

Figura 20 – Colônias de *C. krusei* no meio CHROMagar Candida



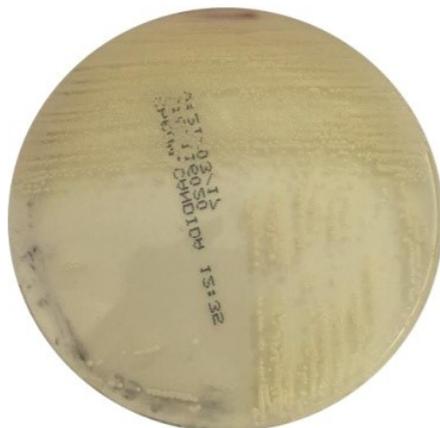
Fonte: Laborclin, 2000.

Figura 21 – Colônias de *C. tropicalis* no meio CHROMagar Candida



Fonte: Laborclin, 2000.

Figura 22 – Colônias de outras espécies de *Candidas* spp. no meio CHROMagar Candida



Fonte: Laborclin, 2000.

Sistemas para triagem de *C. albicans* são métodos bioquímicos que permitem diferenciar *C. albicans* e “leveduras não *albicans*”, produzindo resultados rápidos (cerca de 30 minutos) com sensibilidade e especificidade acima de 95%. Exemplos de alguns sistemas de triagem são: *C. albicans* screen® (Carr-Scarborough), Bacti-Card *Candida*® (Remel) e MUREX *Candida albicans*® (Murex Diagnostics) (SIDRIM, ROCHA, 2004).

Atualmente, vários laboratórios microbiológicos utilizam sistemas manuais ou automatizados que realizam os testes de identificação bioquímica de leveduras. Esses sistemas baseiam-se, essencialmente, em provas de assimilação de carboidratos. Os sistemas manuais mais utilizados são o API 20C® (BioMérieux), o ID 32C® (BioMérieux), e o Auxacolor® (Sanofi Diagnostics-Pasteur). Entretanto, os fabricantes desses recomendam a realização de provas adicionais para a correta identificação (SIDRIM, ROCHA, 2004).

Os métodos de identificação de leveduras fundamentados em características fenotípicas e bioquímicas apresentam certas deficiências como o fato de alguns grupos de leveduras possuírem poucas variações morfológicas e o fato de consumirem tempo entre o isolamento até o diagnóstico final. Assim, o desenvolvimento de métodos sensíveis, rápidos, seguros e específicos tornou-se essencial (RIBEIRO et al., 2004).

Atualmente, novas técnicas de identificação de leveduras utilizando de métodos moleculares têm sido descritas e os avanços na área da biologia molecular levaram ao aprimoramento de técnicas moleculares para genotipagem

de leveduras patogênicas (MAROL e YUCESDY, 2007).

Na década de 1980, Kary Banks Mullis descreve a técnica PCR, que consiste na replicação de seqüência específica de DNA utilizando equipamentos termocicladores. Para realizar essa técnica é necessário acrescentar seqüências iniciadoras complementares (chamados de *primers*) (DNAs iniciadores) às amostras de material genético, desoxirribonucleotídeos e DNA-polimerase (enzima que faz a replicação do DNA) termo resistente. Através da variação cíclica de temperatura, gerada pelo termociclador, ocorre à desnaturação das fitas complementares de DNA, o anelamento de *primers* com suas regiões específicas de cada fita e a replicação do fragmento pela enzima DNA-polimerase. Após realizar alguns ciclos do processo, obtêm-se milhares de cópias da seqüência gênica selecionada. A técnica PCR pode ser utilizada para várias aplicações, como clonagem e manipulação de genes e DNA mutagênese e análise funcional de genes, detecção de patógenos, diagnóstico e monitoramento de doenças hereditárias (MOUSAVI et al., 2007; SHOKOHI et al., 2010).

Após 1990, surgiu uma técnica derivada da PCR que utiliza de iniciadores mais curtos e de seqüência arbitrária para comandar a reação de amplificação, não sendo mais necessário o conhecimento prévio da seqüência a ser amplificada. Williams e colaboradores (1990) patentearam a técnica com o nome de *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) e o grupo de pesquisa Welsh & McClelland (1990) propôs outro nome, chamando a técnica de *Arbitrarily Primed-Polymerase Chain Reaction* (AP-PCR). Atualmente, técnicas moleculares como RAPD e AP-PCR são utilizadas na identificação de espécies do gênero *Candida* sp. (BAUTISTA-MUÑOZ et al., 2003; PINTO et al., 2004).

A literatura indica que as técnicas de tipagem molecular com DNA são as técnicas com melhores resoluções para identificação de isolados de *Candida* sp. e têm sido utilizados com grande freqüência para investigações epidemiológicas no desenvolvimento de medidas de controle dessas infecções (SOLL et al., 2000; BARTIE et al., 2001; MIHRENDI et al., 2006; SANTOS et al., 2010).

A técnica *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry* (MALDI-TOF-MS) ou, em português, Ionização/dessorção a laser assistida por matriz acoplada a espectrometria de massa por tempo de voo, foi descoberta pelo japonês Koichi Tanaka, da Shimadzu Corporation, que recebeu o prêmio Nobel de química em 2002. Essa técnica utiliza conceitos proteômicos e

fornece resultados precisos em um tempo curto.

No MALDI-TOF-MS o material biológico (que deseja ser estudado) é colocado em uma matriz sólida polimérica, que é irradiada com raios laser de nitrogênio. Essa irradiação faz com que a amostra sofra uma vaporização e que suas moléculas sejam ionizadas. Os vapores são aspirados e direcionados a um detector que mede o tempo de chegada dos íons até o dispositivo. Os resultados são apresentados na forma de gráficos e picos específicos (espectros de massa de acordo com sua razão massa/carga e com picos que indicam quantidades variáveis de cada substância) e são analisados por um computador que possui um software específico que compara e interpreta esses resultados com um banco de dados existente. Cada microorganismo/molécula possui um padrão específico, semelhante a uma impressão digital humana.

O MALDI-TOF-MS tem sido utilizado na identificação de peptídeos e proteínas e na identificação de microrganismos (GOULART e RESENDE, 2013). Quando utilizado para a identificação de microrganismos, grande quantidade de moléculas, como ácidos nucleicos, carboidratos, proteínas e lipídios, são detectados ao mesmo tempo, gerando um espectro característico de cada espécie (ASSIS, JULIANO e JULIANO, 2011).

Os bancos de dados da descrição de espectro de massa de microrganismos são atualizados constantemente e sua credibilidade já está demonstrada por estudos que compararam o MALDI-TOF-MS com outras ferramentas utilizadas na identificação de microrganismos. Os estudos indicaram que a exatidão da espécie obtida foi de 98 a 99% com o MALDI-TOF-MS, quando comparado com provas bioquímicas automatizadas ou outros métodos (ASSIS, JULIANO e JULIANO, 2011).

6. MÉTODOS

6.1. Amostragem

Foi realizado um estudo prospectivo, do tipo transversal, com dois grupos. O grupo controle foi composto de indivíduos sem história de câncer (n=160) e o grupo caso foi composto por pacientes oncológicos portadores de câncer de cabeça e pescoço (n=70) em tratamento com radioterapia no Hospital da Baleia em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Em ambos os grupos foram coletados dados clínicos (Anexo A e B) referentes a sexo, idade, cor de pele, escolaridade, tabagismo e etilismo. No grupo caso houve ainda a coleta de dados referentes ao tipo histológico do tumor, localização e sub localização do tumor na região da cabeça e pescoço, ao estadiamento oncológico, ao tratamento oncológico prévio e a presença de quimioterapia concomitante.

Em ambos os grupos foram coletadas amostras de região orofaríngea (swab). No grupo controle a amostra de região orofaríngea foi coletada em um único momento, na requisição dos dados clínicos. No grupo caso, as coletas das amostras foram realizadas em dois momentos, antes do início da radioterapia, na requisição de dados, e entre a 15^a a 20^a fração de radioterapia.

O grupo controle foi composto por indivíduos maiores de 18 anos, sem história prévia de terem tido qualquer câncer, que freqüentavam o serviço de radioterapia do Hospital da Baleia, a maioria sendo acompanhantes de pacientes em tratamento oncológicos.

O grupo caso foi composto por pacientes oncológicos, em tratamento no setor de radioterapia do Hospital da Baleia, primário localizado em algum dos seguintes locais: nasofaringe, cavidade oral, orofaringe, laringe, hipofaringe, glândulas salivares; ou ser primário oculto de cabeça e pescoço. Pacientes com idade inferior a 18 anos, *performance status* inferior a 70%, que eram metastáticos ou considerados paliativos, ou que apresentaram progressão de doença durante tratamento, foram excluídos da pesquisa.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital da Baleia e seguiu os princípios preconizados para experimentação em seres humanos. Os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo C e D).

6.2. Tratamento oncológico

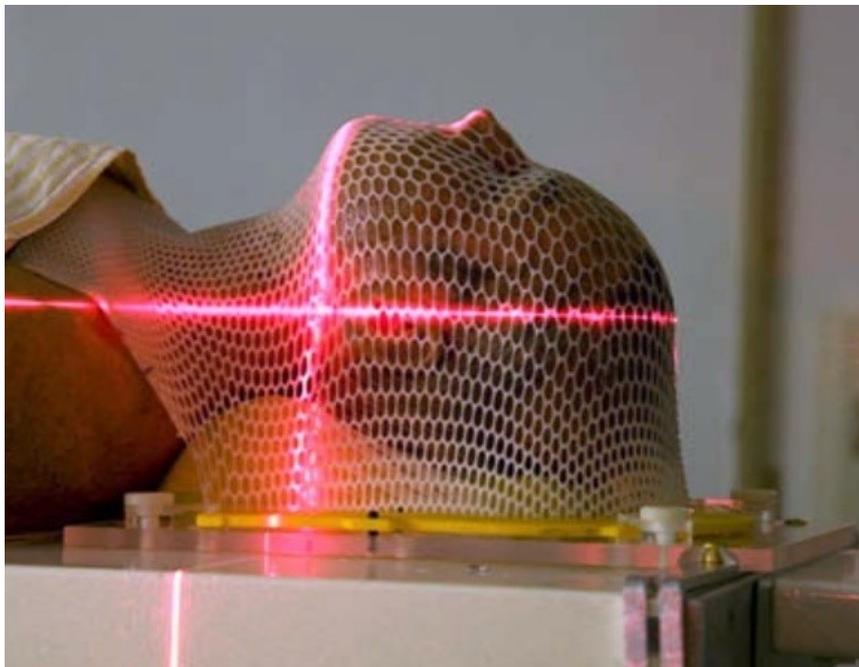
Todos os pacientes do grupo caso receberam radioterapia local na região da cabeça e pescoço (campo cervico-facial) com dose total entre 60Gy (tratamento adjuvante) a 70Gy (tratamento radical), em 30 a 35 frações de tratamento, sendo uma fração diária e cinco frações por semana, a depender se o tratamento é radical ou adjuvante. A técnica de radioterapia utilizada foi a Radioterapia Conformada Tridimensional (RT 3D) (baseado em planejamento com tomografia computadorizada), com energia de fótons de 6MV, em acelerador linear Elekta Precise (Figura 22). Os pacientes eram submetidos à imobilização da região da cabeça e pescoço com máscara termoplástica durante a irradiação (Figura 23). Semanalmente era realizado portal de posicionamento do paciente.

Figura 23 – Acelerador Linear Elekta Precise do Hospital da Baleia.



Fonte: Hospital da Baleia, 2021.

Figura 24 – Máscara termoplástica utilizada durante tratamento radioterápico.



Fonte: Hospital da Baleia, 2021.

Os pacientes poderiam ter sido submetidos à cirurgia e poderiam ter recebido quimioterapia concomitante. Caso eles recebessem quimioterapia essa corresponderia a Cisplatina intravenosa a cada 21 dias.

O grupo caso foi orientado com protocolos habituais do serviço de radioterapia do Hospital da Baleia quanto à higienização de cavidade oral, a alimentação e a hidratação de pele e lábios, antes do início da radioterapia. Eram avaliados semanalmente pelo médico assistente e caso necessário receberam tratamentos específicos para os efeitos colaterais relacionados à radioterapia, inclusive para candidíase clínica. Caso fosse necessário uso de antifúngicos era realizado a amostragem da cavidade oral do paciente e posteriormente a prescrição dos medicamentos necessários. Caso o uso fosse necessário antes da 15ª fração de radioterapia, esse paciente era excluído do estudo.

6.3. Isolamento de *Candida* sp.

O isolamento das espécies de *Candida* sp. foi feito a partir de amostras

coletadas por fricção no sítio anatômico orofaríngeo com um swab e solução salina estéril (Cloreto de Sódio - NaCl, 0,85%), como diluente. O isolamento e a identificação presuntiva foram feitos retirando alíquotas (100 µL) de cada amostra e colocando em placas contendo CHROMagar *Candida*®, que foram incubadas a 37°C por 24 a 48 horas. Se as placas não mostrassem crescimento de colônias no final da incubação, a incubação se estendeu por mais 24 horas. As colônias foram previamente diferenciadas pela cor e textura, coletadas, e em seguida identificadas com a técnica MALDI-TOF-MS.

6.4. Identificação com a técnica MALDI-TOF-MS

Para controlar a contaminação por bactérias os isolados de *Candida* sp. foram devidamente identificados e transferidos para um meio de Agar Sabouraud Dextrose 2% contendo Cloranfenicol (ASDC) (Hardy Diagnostics, Santa Maria, CA) e incubados a 37°C ou 30°C durante 2 a 5 dias, de acordo com as necessidades de crescimento. Depois da incubação, os isolados investigados foram sub cultivados em placas de Agar Batata Dextrose (BDA) (Becton Dickinson Franklin Lakes, NJ) e incubado a 30°C por 5 dias antes da análise MALDI-TOF-MS.

Colônias contendo leveduras de *Candida* spp. coletadas do BDA foram colocados em tubos Eppendorf contendo 500 µl de etanol a 70% mais 0,5 mg de pérolas de zircônia de 0,1 mm de diâmetro (BioSpec Products, Bartlesville, OK). Em seguida, os isolados de fungos leveduriformes foram emulsificados usando uma vara de material estéril e posteriormente agitados em vórtex por 15 minutos em alta velocidade (Daigger Vortex Genie 2, Scientific Industries, Bohemia NY) e centrifugados a 9.500G por 2 minutos. O sobrenadante foi descartado por pipetagem para remover qualquer resíduo de etanol e o pellet formado foi ressuspensão em 50 µl de ácido fórmico a 70% e agitado em vórtex por 5 minutos, seguido de centrifugação por 10 segundos e adição de acetonitrila. Os tubos foram agitados em vórtex por 5 minutos, centrifugados a 9.500G por 2 minutos e o sobrenadante imediatamente foi analisado pelo MALDI-TOF-MS. Todos os procedimentos até a correta localização dos sobrenadantes que foram analisados no MALDI-TOF-MS placa-alvo foram realizados em uma cabine de biossegurança classe II.

Para cada corrida, o espectrômetro de massa foi calibrado para pesos com uma faixa de 3,6-16,9 kDa antes do teste de amostra usando o padrão de teste bacteriano (Bruker Daltonics, Billerica, MA) de acordo com as recomendações do fabricante. *Aspergillus ustus* (CBS 261.67T) também foi usado como padrão da extração de proteína e controle de análise MALDI-TOF-MS para cada execução. O controle *A. ustus* foi identificado com uma pontuação de 1,8 ou superior. Pontuações abaixo de 1,8 para a cepa de controle podem sugerir um procedimento de extração subótimo e, portanto, o procedimento (extração de proteína de *A. ustus* e isolados testados) foi repetido. Quatro pontos na placa-alvo foram usados para cada isolado fúngico. A plataforma MALDI-TOF-MS utilizada foi o espectrômetro de massa MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Billerica, MA). Os espectros foram capturados em modo linear positivo em uma faixa de massa de 2–20 kDa, com frequência de laser de 60 Hz (IS1: 20kV; IS2: 18kV; lente: 6kV; tempo de retardo de extração: 100 ns). Os espectros foram adquiridos no modo automático, acumulando um máximo de 240 perfis (6 × 40 disparos de laser de diferentes posições do ponto alvo). A identificação do organismo foi realizada com a configuração padrão do software (Biotyper RTC v. 3.1, Bruker Daltonics) usando o banco de dados de referência de fungos do *National Institute of Health* (NIH, USA) (contém o perfil de várias proteínas de 81 gêneros e 172 espécies de isolados de fungos filamentosos e de leveduras). Os espectros de identificação são definidos com pontuações entre 0 e 3 (Biotyper RTC v. 3.1, Bruker Daltonics). De acordo com Bruker Daltonics (2014), uma pontuação de $\geq 2,0$ indica um bom nível de identificação de bactérias e fungos, enquanto pontuações entre 1,7 e 2,0 sugerem uma relação estreita com um gênero e espécie em particular (LAU et al., 2013; ALIZADEH et al., 2017; ZVEZDANOVA et al., 2019).

6.5. Cálculo amostral

Para estimar o tamanho de amostra para comparar as espécies de *Candida* spp. presentes na cavidade oral de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico (grupo caso) no Hospital da Baleia, em Belo Horizonte, Minas Gerais, com um grupo controle de pessoas sem história de câncer (grupo controle) foi utilizada a metodologia proposta por Fleiss (1986).

A fórmula para cálculo amostral de acordo, de acordo com Fleiss (1986) é

a seguinte:

$$N = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{d^2}$$

Sendo que “Z α ” é a abscissa da curva normal padrão, fixado um nível de confiança; “Z β ” é a abscissa da curva normal padrão, fixado um poder de teste. Já o “d” é o tamanho do efeito para comparação entre dois grupos. Cohen (1988) sugere que os valores de “d” de 0,2, 0,5 e 0,8 representam tamanhos de efeito pequeno, médio e grande, respectivamente. Dessa forma, considerando um tamanho de efeito médio (d = 0,5), um nível de significância de 5% (Z α = 1,96) e um poder de teste de 80% (Z β = 0,84), era necessário ter 63 indivíduos em cada grupo.

6.6. Cálculo estatístico

O banco de dados foi composto por 31 variáveis e 235 indivíduos, sendo que 73 eram do grupo caso e 160 eram do grupo controle. Destaca-se que três pacientes do grupo caso foram excluídos da pesquisa, totalizando no grupo caso 70 pacientes. Os pacientes coletados que não apresentaram crescimento de colônias no CHROMagar *Candida*® foram atribuídos nos resultados como não colonizados.

Na análise descritiva das variáveis categóricas (variáveis qualitativas) foram utilizadas as freqüências absolutas e relativas. Já na descrição das variáveis numéricas (variáveis quantitativas) foram utilizadas medidas de posição, tendência central e dispersão.

Foi utilizado o Teste de McNemar (AGRESTI, 2002) para verificar se as distribuições de frequências da presença de *Candida* sp. e se as espécies de *Candida* spp. sofreram mudanças significativas entre as coletas, no grupo caso. Já para as comparações entre os grupos (caso e controle) e com as variáveis de caracterização, foi utilizado o Teste Qui-Quadrado (AGRESTI e KATERI, 2011).

O software utilizado nas análises foi o R (versão 4.0.2).

7. RESULTADOS

Dos 160 indivíduos coletados no grupo controle, 41 indivíduos apresentaram pelo menos uma colônia de *Candida* spp. por placa no CHROMagar *Candida*®, sendo que houveram 47 isolados de diferentes espécies de *Candida* spp. nesse grupo. Houve 8 tipos de espécies diferentes de *Candida* spp. no grupo controle (Tabela 1).

Dos 70 indivíduos coletados no grupo caso, 33 indivíduos apresentaram pelo menos uma colônia de *Candida* spp. por placa no CHROMagar *Candida*®, sendo que houveram 56 isolados de diferentes espécies de *Candida* spp. nesse grupo (Tabela 1). Na 1ª coleta (antes o início de radioterapia) houve 24 pacientes que apresentaram colônias de *Candida* spp. no CHROMagar *Candida*®, havendo 29 isolados de *Candida* spp. Houve 10 tipos de espécies diferentes de *Candida* spp. no grupo caso, na 1ª coleta. Na 2ª coleta (durante a realização de radioterapia) houve 25 pacientes que apresentaram colônias de *Candida* spp. no CHROMagar *Candida*®, havendo 27 isolados de *Candida* spp. Houve 9 tipos de espécies diferentes de *Candida* spp. no grupo caso, na 2ª coleta (Tabelas 2).

Dos 70 indivíduos coletados do grupo caso, 5 indivíduos apresentaram isolamento de outros fungos não relacionado ao gênero *Candida* sp. Esses outros fungos não foram incluídos nas análises estatísticas.

Tabela 1 – Análise quantitativa de todos os indivíduos da pesquisa

Variável	Grupo Controle	Grupo Caso
Indivíduos totais	160	70
Indivíduos com isolamento de alguma colônia	41	33
Nº de isolados de <i>Candida</i> spp.	47	56
Nº de espécies diferentes de <i>Candida</i> spp. isoladas	8	13

Tabela 2 - Análise quantitativa de todos os indivíduos do grupo caso

Variável	1ª coleta	2ª coleta
Indivíduos totais	70	70
Indivíduos com isolamento de alguma colônia	24	25
Nº de isolados de <i>Candida</i> spp.	29	27

Nº de espécies diferentes de <i>Candida</i> spp. isoladas	10	9
---	----	---

7.1. Características dos indivíduos

As tabelas 3 e 4 apresentam a análise descritiva das variáveis categóricas de caracterização de todos os indivíduos da pesquisa, sendo que 30,43% eram do grupo caso e 69,57% eram do grupo controle. Mais da metade dos indivíduos eram do sexo feminino (54,35%); a maioria (56,96%) tinha a cor parda, possuíam ensino médio completo (26,52%) e não eram tabagistas (73,91%) e etilistas (73,04%).

Tabela 3 - Análise descritiva das variáveis categóricas de caracterização de todos os indivíduos da pesquisa.

Variável		N	%
Grupo	Caso	70	30,43%
	Controle	160	69,57%
Sexo	Feminino	125	54,35%
	Masculino	105	45,65%
Cor	Amarelo	4	1,74%
	Branco	52	22,61%
	Pardo	131	56,96%
	Negro	40	17,39%
	Prefiro não declarar	3	1,30%
Escolaridade	Analfabeto	10	4,35%
	Desconhece	2	0,87%
	Ensino fundamental completo	33	14,35%
	Ensino fundamental incompleto	51	22,17%
	Ensino médio completo	61	26,52%
	Ensino médio incompleto	12	5,22%
	Ensino superior completo	32	13,91%
	Ensino superior incompleto	15	6,52%
	Especialização	13	5,65%
Pós-doutorado	1	0,43%	
Tabagismo	Não	170	73,91%
	Sim	60	26,09%
Etilismo	Não	168	73,04%
	Sim	62	26,96%

N = número de indivíduos.

% = porcentagem de indivíduos.

Tabela 4 - Análise descritiva da idade de todos os indivíduos da pesquisa.

Variável	N	Média	D.P.	Mín.	1ºQ	2ºQ	3ºQ	Máx.
Idade	230	46,70	15,81	18,00	33,00	48,00	59,00	83,00

N = número de indivíduos.

D.P. = Desvio padrão.

Mín = mínimo

1ºQ. = primeiro quartil

2ºQ. = primeiro quartil

3ºQ. = primeiro quartil

Máx. = máximo

As tabelas 5 e 6 apresentam a análise descritiva das variáveis categóricas de caracterização dos indivíduos do grupo caso e controle. No grupo caso a maioria era do sexo masculino (85,71%), com média de idade de 58,04 anos, tinha a cor parda (64,29%), possuíam ensino médio incompleto (38,57%), eram tabagistas (58,57%) e não eram etilistas (58,57%). No grupo controle a maioria era do sexo feminino (71,88%), com média de idade de 41,74 anos, tinha a cor parda (53,75%), possuíam ensino médio completo (31,88%), não eram tabagistas (88,13%) e não eram etilistas (79,38%).

Tabela 5 - Análise descritiva das variáveis categóricas de caracterização de todos os indivíduos do grupo caso e controle.

Variável		Caso		Controle	
		N	%	N	%
Sexo	Feminino	10	14,29%	115	71,88%
	Masculino	60	85,71%	45	28,13%
Cor	Amarelo	0	0,00%	4	2,50%
	Branco	9	12,86%	43	26,88%
	Pardo	45	64,29%	86	53,75%
	Negro	16	22,86%	24	15,00%
	Prefiro não declarar	0	0,00%	3	1,88%
Escolaridade	Analfabeto	7	10,00%	3	1,88%
	Desconhece	2	2,86%	0	0,00%
	Ensino fundamental completo	19	27,14%	14	8,75%
	Ensino fundamental incompleto	27	38,57%	24	15,00%
	Ensino médio completo	10	14,29%	51	31,88%
	Ensino médio incompleto	4	5,71%	8	5,00%
	Ensino superior completo	1	1,43%	31	19,38%
	Ensino superior incompleto	0	0,00%	15	9,38%
	Especialização	0	0,00%	13	8,13%
Pós-doutorado	0	0,00%	1	0,63%	
Tabagismo	Não	29	41,43%	141	88,13%
	Sim	41	58,57%	19	11,88%
Etilismo	Não	41	58,57%	127	79,38%
	Sim	29	41,43%	33	20,63%

N = número de indivíduos.

% = porcentagem de indivíduos.

Tabela 6 - Análise descritiva da idade de todos os indivíduos do grupo caso e controle.

Variável	Grupo	N	Média	D.P.	Mín.	1ºQ	2ºQ	3ºQ	Máx.
Idade	Caso	70	58,04	10,33	32,00	52,00	58,50	65,00	83,00
	Controle	160	41,74	15,25	18,00	28,00	39,50	55,50	73,00

N = número de indivíduos.

D.P. = Desvio padrão.

Mín = mínimo

1ºQ. = primeiro quartil

2ºQ. = primeiro quartil

3ºQ. = primeiro quartil

Máx. = máximo

A tabela 7 apresenta a análise descritiva das variáveis categóricas exclusivas de caracterização dos indivíduos do grupo caso. A maioria recebeu quimioterapia concomitante (84,23%) e não realizaram tratamentos prévios (82,86%). O local mais comum de acometimento foi à orofaringe (44,29%), seguido por laringe (21,43%) e cavidade oral (17,14%). A sub-região da cabeça e pescoço mais comum foi à base da língua (orofaringe) (22,58%), seguido pela amígdala (orofaringe) (19,35%) e a glote (laringe) (14,52%). A maioria dos pacientes possuía o tipo histológico CEC (95,71%) e possuía estadiamento oncológico avançado, predominantemente IVA (41,43%) e IVB (21,43%).

Tabela 7 - Análise descritiva das variáveis categóricas exclusivas de caracterização de todos os indivíduos do grupo caso.

	Variável	N	%
Quimioterapia	Não	11	15,71%
	Sim	59	84,29%
Tratamentos Prévios (Cirurgia)	Não	58	82,86%
	Sim	12	17,14%
Região da Cabeça e Pescoço	Cavidade oral	12	17,14%
	Hipofaringe	4	5,71%
	Laringe	15	21,43%
	Nasofaringe	2	2,86%
	Orofaringe	31	44,29%
	Primário oculto	6	8,57%
Sub Região da Cabeça e Pescoço	Amígdala	12	19,35%
	Assoalho bucal	2	3,23%
	Base de língua	14	22,58%
	Glótica	9	14,52%
	Língua	3	4,84%
	Palato mole	4	6,45%
	Rebordo alveolar	1	1,61%
	Seio piriforme	4	6,45%
	Supraglote	6	9,68%
	Trígono retromolar	6	9,68%
Valécula	1	1,61%	
Estadiamento Clínico	II	9	12,86%
	III	16	22,86%
	IVA	29	41,43%
	IVB	15	21,43%
	Recidivado	1	1,43%
Tipo Histológico	Carcinoma Espinocelular (CEC)	67	95,71%
	Carcinoma pouco diferenciado	1	1,43%
	Linfoepitelioma	1	1,43%
	Neoplasia pouco diferenciada	1	1,43%

N = número de indivíduos.

% = porcentagem de indivíduos.

7.2. Análise descritiva das espécies de *Candida* spp.

A tabela 8 apresenta a análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas de todos os indivíduos do estudo. Houve predomínio de *C. albicans* (51,46%), seguido por *C. parapsilosis* (11,65%) e *C. glabrata* (9,71%) e *C. tropicalis* (6,80%).

Tabela 8 - Análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas de todos os indivíduos do estudo.

Espécie	N	%
<i>Candida albicans</i>	53	51,46%
<i>Candida parapsilosis</i>	12	11,65%
<i>Candida glabrata</i>	10	9,71%
<i>Candida tropicalis</i>	7	6,80%
<i>Candida dubliniensis</i>	6	5,83%
<i>Candida lusitanae</i>	4	3,88%
<i>Candida guilliermondii</i>	4	3,88%
<i>Candida krusei</i>	2	1,94%
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	1	0,97%
<i>Candida kefyr</i>	1	0,97%
<i>Candida orthopsilosis</i>	1	0,97%
<i>Candida catenulata</i>	1	0,97%
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	1	0,97%

N = número de determinada espécie.

% = porcentagem de determinada espécie.

A tabela 9 apresenta outros fungos não relacionados com *Candida* sp. identificados durante esse estudo. Foram identificadas as leveduras *Lodderomyces elongisporus*, *Ogataea polymorpha*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichosporon asahii* e o fungo filamentososo do gênero *Aspergillus* sp.

Tabela 9 - Análise descritiva de outros fungos não *Candida* sp. isolados de todos os indivíduos da pesquisa.

Fungo	N	%
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	3	33,33%
<i>Ogataea polymorpha</i>	2	22,22%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	22,22%
<i>Trichosporon asahii</i>	1	11,11%
<i>Aspergillus</i> sp.	1	11,11%

N = número de determinado fungo.

% = porcentagem de determinado fungo.

A tabela 10 apresenta a análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas dos indivíduos do grupo controle. Houve predomínio de *C. albicans* (57,45%), seguido por *C. parapsilosis* (12,77%), *C. dubliniensis* (8,51%) e *C. tropicalis* (8,51%).

Tabela 10 - Análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas dos indivíduos do grupo controle.

Espécie	N	%
<i>Candida albicans</i>	27	57,45%
<i>Candida parapsilosis</i>	6	12,77%
<i>Candida dubliniensis</i>	4	8,51%
<i>Candida tropicalis</i>	4	8,51%
<i>Candida glabrata</i>	3	6,38%
<i>Candida krusei</i>	1	2,13%
<i>Candida lusitanae</i>	1	2,13%
<i>Candida guilliermondii</i>	1	2,13%

N = número de determinada espécie.

% = porcentagem de determinada espécie.

A tabela 11 apresenta outros fungos não *Candida* sp. isolados dos indivíduos da pesquisa do grupo controle. Foram identificadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichosporon asahii*.

Tabela 11 - Análise descritiva de outros fungos não *Candida* sp. isolados dos indivíduos do grupo controle.

Fungos	N	%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	66,67%
<i>Trichosporon asahii</i>	1	33,33%

N = número de determinado fungo.

% = porcentagem de determinado fungo.

A tabela 12 apresenta à análise descritiva das espécies de *Candida* spp. em todos os indivíduos do grupo caso em ambas as coletas (1ª coleta: antes de início da RT e 2ª coleta: durante realização da RT). Houve predomínio de *C. albicans* (46,43%), seguido por *C. parapsilosis* (10,71%) e *C. glabrata* (10,71%) e *C. tropicalis* (7,14%). Houve a identificação de cinco espécies não *C. albicans* não existentes no grupo controle, as *C. albicans* variante africana, *C. kefyr*, *C. orthopsilosis*, *C. catenulata* e *Zygoascus meyeri* (*C. hellenica* var. *hellenica*).

Tabela 12 - Análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas dos indivíduos do grupo caso em ambas as coletas (1ª coleta: antes de início da radioterapia e 2ª coleta: durante realização da radioterapia).

Espécie	N	%
<i>Candida albicans</i>	26	46,43%
<i>Candida parapsilosis</i>	6	10,71%
<i>Candida tropicalis</i>	6	10,71%
<i>Candida glabrata</i>	4	7,14%
<i>Candida guilliermondii</i>	3	5,36%
<i>Candida lusitaniae</i>	3	5,36%
<i>Candida dubliniensis</i>	2	3,57%
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	1	1,79%
<i>Candida kefyr</i>	1	1,79%
<i>Candida krusei</i>	1	1,79%
<i>Candida orthopsilosis</i>	1	1,79%
<i>Candida catenulata</i>	1	1,79%
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	1	1,79%

N = número de determinada espécie.

% = porcentagem de determinada espécie.

A tabela 13 apresenta outros fungos não *Candida* sp. isolados dos indivíduos da pesquisa do grupo caso nas duas coletas (1ª coleta: antes de início da RT e 2ª coleta: durante realização da RT). Houve identificação das leveduras *Lodderomyces elongisporus* e *Ogataea polymorpha* e do fungo filamentososo do gênero *Aspergillus* sp.

Tabela 13 - Análise descritiva de outros fungos não *Candida* sp. isolados dos indivíduos grupo caso em ambas as coletas (1ª coleta: antes de início da radioterapia e 2ª coleta: durante realização da radioterapia).

Fungos	N	%
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	3	50,00%
<i>Aspergillus</i> sp	2	33,33%
<i>Ogataea polymorpha</i>	1	16,67%

N = número de determinado fungo.

% = porcentagem de determinado fungo.

A tabela 14 apresenta à análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas de todos os indivíduos do grupo caso na 1ª coleta (antes do início de RT). Houve predomínio de *C. albicans* (44,83%), seguido por *C. tropicalis* (13,79%) e *C. guilliermondii* (10,34%) e *C. parapsilosis* (10,34%).

Tabela 14 - Análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas nos indivíduos do grupo caso na 1ª coleta (antes de início de radioterapia).

Espécie	N	%
<i>Candida albicans</i>	13	44,83%
<i>Candida tropicalis</i>	4	13,79%
<i>Candida guilliermondi</i>	3	10,34%
<i>Candida parapsilosis</i>	3	10,34%
<i>Candida dubliniensis</i>	1	3,45%
<i>Candida glabrata</i>	1	3,45%
<i>Candida krusei</i>	1	3,45%
<i>Candida lusitaniae</i>	1	3,45%
<i>Candida orthopsilosis</i>	1	3,45%
<i>Candida catenulata</i>	1	3,45%

N = número de determinada espécie.

% = porcentagem de determinada espécie.

A tabela 15 apresenta outros fungos não *Candida* sp. isolados nos indivíduos da pesquisa do grupo caso na 1ª coleta (antes do início de RT). Foram identificadas as leveduras *Ogataea polymorpha* e *Lodderomyces elongisporus*.

Tabela 15 - Análise descritiva de outros fungos não *Candida* sp. isolados dos indivíduos do grupo caso na 1ª coleta (antes de início de radioterapia).

Fungos	N	%
<i>Ogataea polymorpha</i>	2	66,67%
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	1	33,33%

N = número de determinado fungo.

% = porcentagem de determinado fungo.

A tabela 16 apresenta à análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas de todos os indivíduos do grupo caso na 2ª coleta (durante a RT). Houve predomínio de *C. albicans* (48,15%), seguido por *C. parapsilosis* (11,11%) e *C. glabrata* (11,11%).

Tabela 16 - Análise descritiva das espécies de *Candida* spp. isoladas dos indivíduos do grupo caso na 2ª coleta (durante a radioterapia).

Espécie	N	%
<i>Candida albicans</i>	13	48,15%
<i>Candida glabrata</i>	3	11,11%
<i>Candida parapsilosis</i>	3	11,11%
<i>Candida lusitaniae</i>	2	7,41%
<i>Candida tropicalis</i>	2	7,41%
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	1	3,70%
<i>Candida dubliniensis</i>	1	3,70%
<i>Candida kefir</i>	1	3,70%
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	1	3,70%

A tabela 17 apresenta outros fungos não *Candida* spp. isolados dos indivíduos da pesquisa do grupo caso na 2ª coleta (durante a RT). Foram identificados a levedura *Lodderomyces elongisporus* e o fungo filamentososo do gênero *Aspergillus* sp.

Tabela 17 - Análise descritiva de outros fungos não *Candida* sp. isolados dos indivíduos do grupo caso na 2ª coleta (durante a radioterapia).

Fungos	N	%
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	2	66,67%
<i>Aspergillus</i> sp	1	33,33%

N = número de determinado fungo.

% = porcentagem de determinado fungo.

7.3. Comparação da colonização de *Candida* sp. entre os grupos

A tabela 18 apresenta a comparação da colonização de *Candida* sp. entre o grupo controle e a 1ª coleta do grupo caso (antes da rRT).

Tabela 18 – Comparação da presença de *Candida* sp. entre o grupo controle e a 1ª coleta do grupo caso (antes do início da radioterapia).

Crescimento de colônia no CHROMagarCandida®	Caso 1ª		Controle		Valor-p ¹
	N	%	N	%	
<i>Candida</i> sp.	Detectável	24 34,29%	41 25,63%		0,327
	Não detectável	46 65,71%	119 74,38%		

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de indivíduos que possuíram algum crescimento de colônia.

% = porcentagem de indivíduos que possuíram algum crescimento de colônia.

A tabela 19 apresenta a comparação da colonização de *Candida* sp. entre o grupo controle e a 2ª coleta do grupo caso (durante a RT).

Tabela 19 – Comparação da presença de *Candida* sp. entre o grupo controle e a 2ª coleta do grupo caso (durante a radioterapia).

Crescimento de colônia no CHROMagarCandida®	Caso		Controle		Valor-p ¹
	N	%	N	%	
<i>Candida</i> sp.	Detectável	25 35,71%	41 25,63%		0,162
	Não detectável	45 64,29%	119 74,38%		

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de indivíduos que possuíram algum crescimento de colônia.

% = porcentagem de indivíduos que possuíram algum crescimento de colônia.

A tabela 20 apresenta a comparação da colonização de *Candida* sp. entre a 1ª coleta do grupo caso (antes do início de RT) e a 2ª coleta do grupo caso (durante a RT). Houve significância estatística (valor $p < 0,05$) na comparação, indicando maior detecção de alguma colônia de *Candida* sp. CHROMagarCandida® durante a realização de radioterapia.

Tabela 20 – Comparação da presença de *Candida* spp. entre a 1ª (antes do início de radioterapia) e a 2ª (durante a radioterapia) coleta do grupo caso.

Crescimento de colônia no CHROMagarCandida®		Coleta 1		Coleta 2		Valor-p ¹
		N	%	N	%	
<i>Candida</i> sp.	Detectável	24	34,29%	25	35,71%	0,018
	Não detectável	46	65,71%	45	64,29%	

¹Teste de McNemar.

N = número de indivíduos que possuíram algum crescimento de colônia.

% = porcentagem de indivíduos que possuíram algum crescimento de colônia.

7.4. Comparação das espécies de *Candida* spp. entre os grupos

A tabela 21 apresenta a comparação das espécies de *Candida* spp. entre o grupo controle e a 1ª coleta do grupo caso (antes da RT).

Tabela 21 – Comparação das espécies de *Candida* spp. entre o grupo controle e a 1ª coleta do grupo caso (antes do início de radioterapia).

Espécie	Grupo	N	%	Valor-p ¹
<i>Candida albicans</i>	Caso 1ª coleta	13	32,50%	0,035
	Controle	27	67,50%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Caso 1ª coleta	1	20,00%	0,370
	Controle	4	80,00%	
<i>Candida glabrata</i>	Caso 1ª coleta	1	25,00%	0,632
	Controle	3	75,00%	
<i>Cândida guilliermondi</i>	Caso 1ª coleta	3	75,00%	0,633
	Controle	1	25,00%	
<i>Candida krusei</i>	Caso 1ª coleta	1	50,00%	1,000
	Controle	1	50,00%	
<i>Candida lusitaniae</i>	Caso 1ª coleta	1	50,00%	1,000
	Controle	1	50,00%	
<i>Candida orthopsilosis</i>	Caso 1ª coleta	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Caso 1ª coleta	3	33,33%	0,500
	Controle	6	66,67%	
<i>Candida tropicalis</i>	Caso 1ª coleta	4	50,00%	1,000
	Controle	4	50,00%	
<i>Candida catenulata</i>	Caso 1ª coleta	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

A tabela 22 apresenta a comparação das espécies de *Candida* spp. entre o grupo controle e a 1ª coleta do grupo caso (antes da RT).

Tabela 22 – Comparação das espécies de *Candida* spp. entre o grupo controle e a 2ª coleta do grupo caso (durante a radioterapia).

Espécie	Grupo	N	%	Valor-p ¹
<i>Candida albicans</i>	Caso 2ª coleta	13	32,50%	0,038
	Controle	27	67,50%	
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	Caso 2ª coleta	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Caso 2ª coleta	1	20,00%	0,372
	Controle	4	80,00%	
<i>Candida glabrata</i>	Caso 2ª coleta	3	50,00%	1,000
	Controle	3	50,00%	
<i>Candida guilliermondi</i>	Caso 2ª coleta	0	0,00%	1,000
	Controle	1	100,00%	
<i>Candida krusei</i>	Caso 2ª coleta	0	0,00%	1,000
	Controle	1	100,00%	
<i>Candida lusitanae</i>	Caso 2ª coleta	2	66,67%	1,000
	Controle	1	33,33%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Caso 2ª coleta	3	33,33%	0,511
	Controle	6	66,67%	
<i>Candida tropicalis</i>	Caso 2ª coleta	2	33,33%	0,685
	Controle	4	66,67%	
<i>Candida kefyr</i>	Caso 2ª coleta	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	Caso 2ª coleta	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

A tabela 23 apresenta a comparação das espécies de *Candida* spp. entre a 1ª (antes de início de RT) e a 2ª (durante a RT) do grupo caso.

Tabela 23 – Comparação das espécies de *Candida* spp. entre a 1ª (antes de início de radioterapia) e a 2ª (durante a radioterapia) do grupo caso.

Espécie	Coleta	N	%	Valor-p¹
<i>Candida albicans</i>	Caso 1ª coleta	13	50,00%	1,000
	Caso 2ª coleta	13	50,00%	
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	Caso 1ª coleta	0	0,00%	0,317
	Caso 2ª coleta	1	100,00%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Caso 1ª coleta	1	50,00%	1,000
	Caso 2ª coleta	1	50,00%	
<i>Candida glabrata</i>	Caso 1ª coleta	1	25,00%	0,317
	Caso 2ª coleta	3	75,00%	
<i>Candida guilliermondi</i>	Caso 1ª coleta	3	100,00%	0,083
	Caso 2ª coleta	0	0,00%	
<i>Candida krusei</i>	Caso 1ª coleta	1	100,00%	0,317
	Caso 2ª coleta	0	0,00%	
<i>Candida lusitanae</i>	Caso 1ª coleta	1	33,33%	0,564
	Caso 2ª coleta	2	66,67%	
<i>Candida orthopsilosis</i>	Caso 1ª coleta	1	100,00%	0,317
	Caso 2ª coleta	0	0,00%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Caso 1ª coleta	3	50,00%	1,000
	Caso 2ª coleta	3	50,00%	
<i>Candida tropicalis</i>	Caso 1ª coleta	4	66,67%	0,414
	Caso 2ª coleta	2	33,33%	
<i>Candida catenulata</i>	Caso 1ª coleta	1	100,00%	0,317
	Caso 2ª coleta	0	0,00%	
<i>Candida kefyr</i>	Caso 1ª coleta	0	0,00%	0,317
	Caso 2ª coleta	1	100,00%	
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	Caso 1ª coleta	0	0,00%	0,317
	Caso 2ª coleta	1	100,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

A tabela 24 apresenta a comparação das espécies de *Candida* spp. entre o grupo controle e as duas coletas do grupo caso.

Tabela 24 – Comparação das espécies de *Candida* spp. entre o grupo controle e as duas coletas do grupo caso.

Espécie	Grupo	N	%	Valor-p ¹
<i>Candida albicans</i>	Caso	26	49,06%	1,000
	Controle	27	50,94%	
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	Caso	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Caso	2	33,33%	0,687
	Controle	4	66,67%	
<i>Candida glabrata</i>	Caso	4	57,14%	1,000
	Controle	3	42,86%	
<i>Candida guilliermondi</i>	Caso	3	75,00%	0,628
	Controle	1	25,00%	
<i>Candida krusei</i>	Caso	1	50,00%	1,000
	Controle	1	50,00%	
<i>Candida lusitanae</i>	Caso	3	75,00%	0,625
	Controle	1	25,00%	
<i>Candida orthopsilosis</i>	Caso	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Caso	6	50,00%	1,000
	Controle	6	50,00%	
<i>Candida tropicalis</i>	Caso	6	60,00%	0,753
	Controle	4	40,00%	
<i>Candida catenulata</i>	Caso	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	
<i>Candida kefyr</i>	Caso	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	Caso	1	100,00%	1,000
	Controle	0	0,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

7.5. Comparação das espécies de *Candida* spp. de acordo com variáveis de caracterização

As tabelas 25 e 26 apresentam a comparação das espécies de *Candida* spp de acordo com o sexo no grupo caso e controle.

Tabela 25 – Comparação das espécies de *Candida* spp. de acordo com o sexo no grupo caso.

Espécie	Sexo	N	%	Valor-p ¹
<i>Candida albicans</i>	Feminino	6	23,08%	0,006
	Masculino	20	76,92%	
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	Feminino	0	0,00%	0,317
	Masculino	1	100,00%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Feminino	0	0,00%	0,157
	Masculino	2	100,00%	
<i>Candida glabrata</i>	Feminino	1	25,00%	0,317
	Masculino	3	75,00%	
<i>Candida guilliermondii</i>	Feminino	2	66,67%	0,564
	Masculino	1	33,33%	
<i>Candida krusei</i>	Feminino	0	0,00%	0,317
	Masculino	1	100,00%	
<i>Candida lusitanae</i>	Feminino	0	0,00%	0,083
	Masculino	3	100,00%	
<i>Candida orthopsilosis</i>	Feminino	0	0,00%	0,317
	Masculino	1	100,00%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Feminino	0	0,00%	0,014
	Masculino	6	100,00%	
<i>Candida tropicalis</i>	Feminino	2	33,33%	0,414
	Masculino	4	66,67%	
<i>Candida catenulata</i>	Feminino	1	100,00%	0,317
	Masculino	0	0,00%	
<i>Candida kefyr</i>	Feminino	1	100,00%	0,317
	Masculino	0	0,00%	
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	Feminino	1	100,00%	0,317
	Masculino	0	0,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

Tabela 26 – Comparação das espécies de *Candida* spp. de acordo com o sexo no grupo controle.

Espécie	Sexo	N	%	Valor-p ¹
<i>Candida albicans</i>	Feminino	20	74,07%	0,018
	Masculino	7	25,93%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Feminino	2	50,00%	1,000
	Masculino	2	50,00%	
<i>Candida glabrata</i>	Feminino	3	100,00%	0,247
	Masculino	0	0,00%	
<i>Candida guilliermondii</i>	Feminino	1	100,00%	1,000
	Masculino	0	0,00%	
<i>Candida krusei</i>	Feminino	1	100,00%	1,000
	Masculino	0	0,00%	
<i>Candida lusitanae</i>	Feminino	0	0,00%	1,000
	Masculino	1	100,00%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Feminino	6	100,00%	0,029
	Masculino	0	0,00%	
<i>Candida tropicalis</i>	Feminino	4	100,00%	0,127
	Masculino	0	0,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

As tabelas 27 e 28 apresentam a comparação das espécies de *Candida* spp. de acordo com o tabagismo no grupo caso e controle.

Tabela 27 – Comparação das espécies de *Candida* spp. de acordo com o tabagismo no grupo caso.

Espécie	Tabagismo	N	%	Valor-p ¹
<i>Candida albicans</i>	Não	16	61,54%	0,239
	Sim	10	38,46%	
<i>Candida albicans</i> var. <i>africana</i>	Não	1	100,00%	0,317
	Sim	0	0,00%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Não	0	0,00%	0,157
	Sim	2	100,00%	
<i>Candida glabrata</i>	Não	1	25,00%	0,317
	Sim	3	75,00%	
<i>Candida guilliermondi</i>	Não	1	33,33%	0,564
	Sim	2	66,67%	
<i>Candida krusei</i>	Não	1	100,00%	0,317
	Sim	0	0,00%	
<i>Candida lusitanae</i>	Não	1	33,33%	0,564
	Sim	2	66,67%	
<i>Candida orthopsilosis</i>	Não	0	0,00%	0,317
	Sim	1	100,00%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Não	2	33,33%	0,414
	Sim	4	66,67%	
<i>Candida tropicalis</i>	Não	4	66,67%	0,414
	Sim	2	33,33%	
<i>Candida catenulata</i>	Não	0	0,00%	0,317
	Sim	1	100,00%	
<i>Candida kefyr</i>	Não	0	0,00%	0,317
	Sim	1	100,00%	
<i>Zygoascus meyeriae</i> (<i>C. hellenica</i> var. <i>hellenica</i>)	Não	1	100,00%	0,317
	Sim	0	0,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

Tabela 28 – Comparação das espécies de *Candida* spp. de acordo com o tabagismo no grupo controle.

Variável	Tabagismo	N	%	Valor-p ¹
<i>Candida albicans</i>	Não	24	88,89%	<0,001
	Sim	3	11,11%	
<i>Candida dubliniensis</i>	Não	4	100,00%	0,129
	Sim	0	0,00%	
<i>Candida glabrata</i>	Não	3	100,00%	0,247
	Sim	0	0,00%	
<i>Candida guilliermondi</i>	Não	1	100,00%	1,000
	Sim	0	0,00%	
<i>Candida krusei</i>	Não	1	100,00%	1,000
	Sim	0	0,00%	
<i>Candida lusitaniae</i>	Não	0	0,00%	1,000
	Sim	1	100,00%	
<i>Candida parapsilosis</i>	Não	5	83,33%	0,216
	Sim	1	16,67%	
<i>Candida tropicalis</i>	Não	3	75,00%	0,622
	Sim	1	25,00%	

¹Teste Qui-Quadrado.

N = número de determinada espécie de *Candida* spp.

% = porcentagem de determinada espécie de *Candida* spp.

7.6. Análise da diversidade das espécies de *Candida* spp. no grupo caso

Do total de 70 indivíduos do grupo caso, 33 tiveram algum crescimento de colônia no CHROMagarCandida® na 1^a (antes de RT) e/ou 2^a coleta (durante RT).

A tabela 29 apresenta a análise descritiva da diversidade de espécies de *Candida* spp. de maneira numérica em relação a 1^a e a 2^a coleta do grupo caso.

Tabela 29 – Análise descritiva da diversidade de espécies de *Candida* spp. de maneira numérica em relação a 1ª e a 2ª coleta do grupo caso.

Diversidade das espécies de <i>Candida</i> spp.										
spp.	N	Média	D.P.	I.C. (95%)	Mín.*	1ºQ.*	2ºQ.*	3ºQ.*	Máx.*	
1ª coleta	33	0,88	0,70	[0,67; 1,12]	0,00	0,00	1,00	1,00	3,00	
2ª coleta	33	0,82	0,53	[0,64; 1,00]	0,00	1,00	1,00	1,00	2,00	

N = número de indivíduos que tiveram algum crescimento de colônia.

D.P. = desvio padrão.

I.C. = intervalo de confiança.

Mín = mínimo

1ºQ. = primeiro quartil

2ºQ. = primeiro quartil

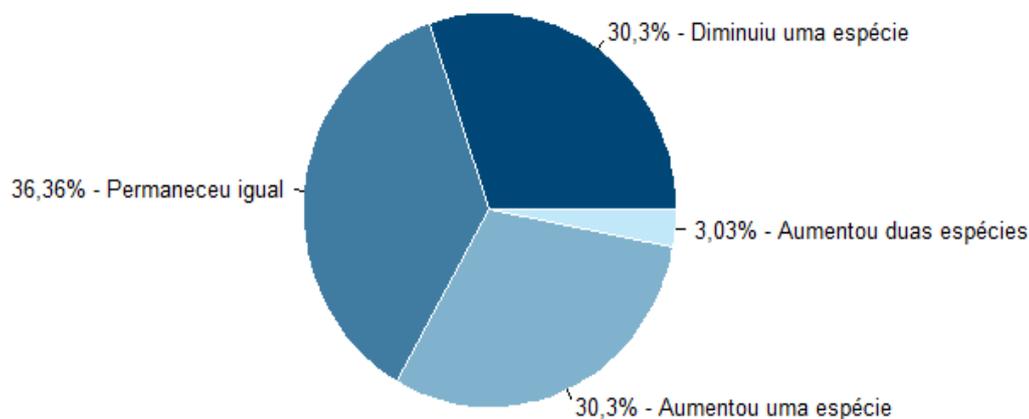
2ºQ. = primeiro quartil

Máx. = máximo

* O indivíduo que não possuía crescimento de colônia no CHROMagarCandida® recebia pontuação 0. O que possuía uma colônia no CHROMagarCandida® recebia pontuação 1. Aquele que tivesse duas colônias diferentes no CHROMagarCandida® recebia pontuação 2 e aquele com três colônias diferentes recebia pontuação 3.

Dos 33 indivíduos do grupo caso que tiveram algum crescimento de espécie de *Candida* spp. na 1ª (antes de RT) e/ou 2ª coleta (durante RT), 10 (30,30%) diminuíram uma espécie de *Candida* spp. da 1ª para a 2ª coleta; 12 (36,36%) permaneceram com o mesmo número de espécies da 1ª para a 2ª coleta; 10 (30,30%) aumentaram uma espécie da 1ª para a 2ª coleta e 1 (3,03%) aumentou duas espécies da 1ª para a 2ª coleta. A Figura 25 apresenta a análise descritiva da diversidade de espécies de *Candida* spp. de maneira categórica em relação a 1ª e a 2ª coleta do grupo caso.

Figura 25 – Gráfico de pizza para a diversidade de espécies de *Candida* spp. de maneira categórica em relação a 1ª e a 2ª coleta do grupo caso.



As Figuras 26 e 27 apresentam a análise do número de espécies de *Candida* spp. por coleta (1ª ou 2ª coleta) e por indivíduo no grupo caso.

Figura 26 – Análise do número de espécies de *Candida* spp. por coleta (1ª ou 2ª coleta) e por indivíduo no grupo caso.

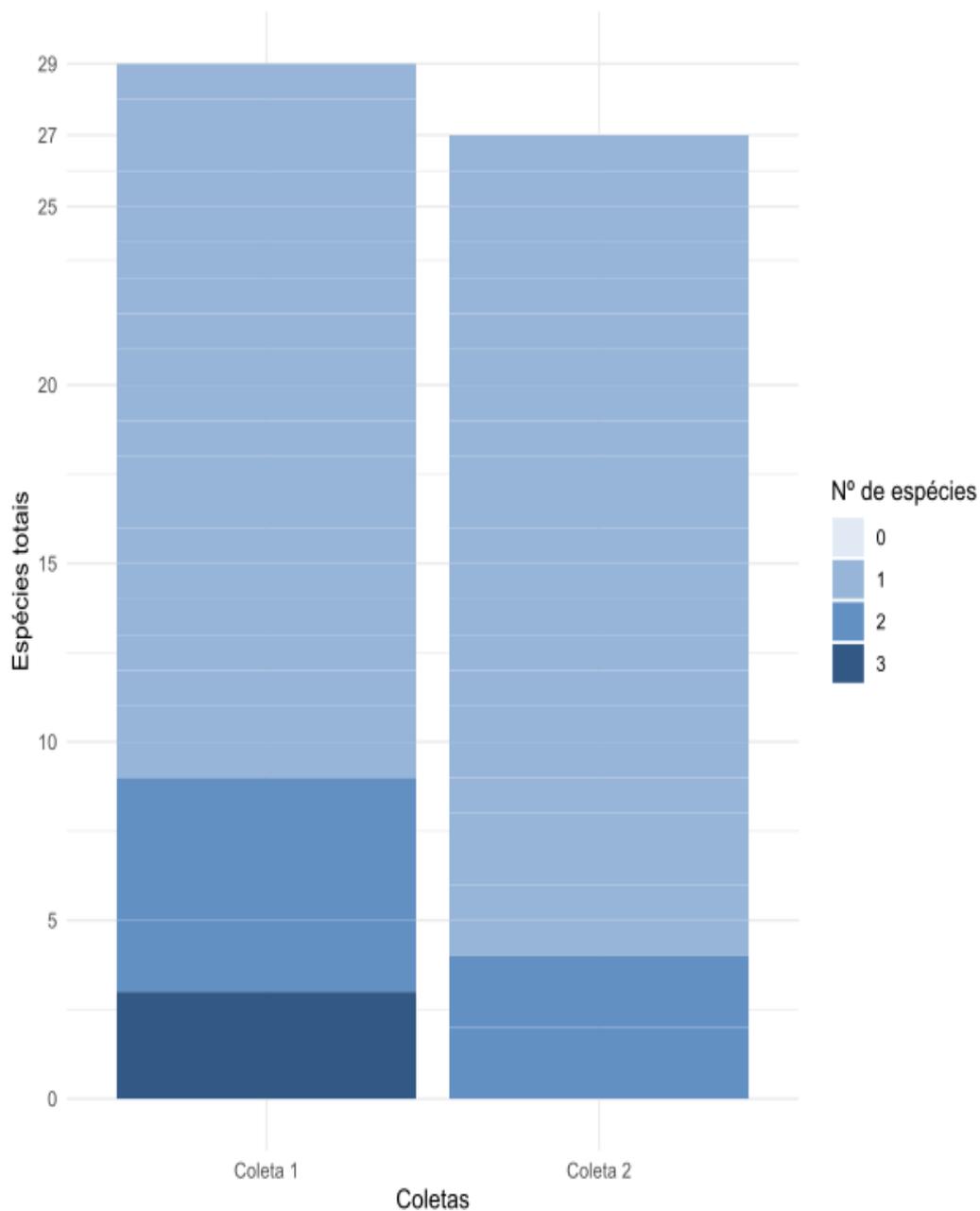
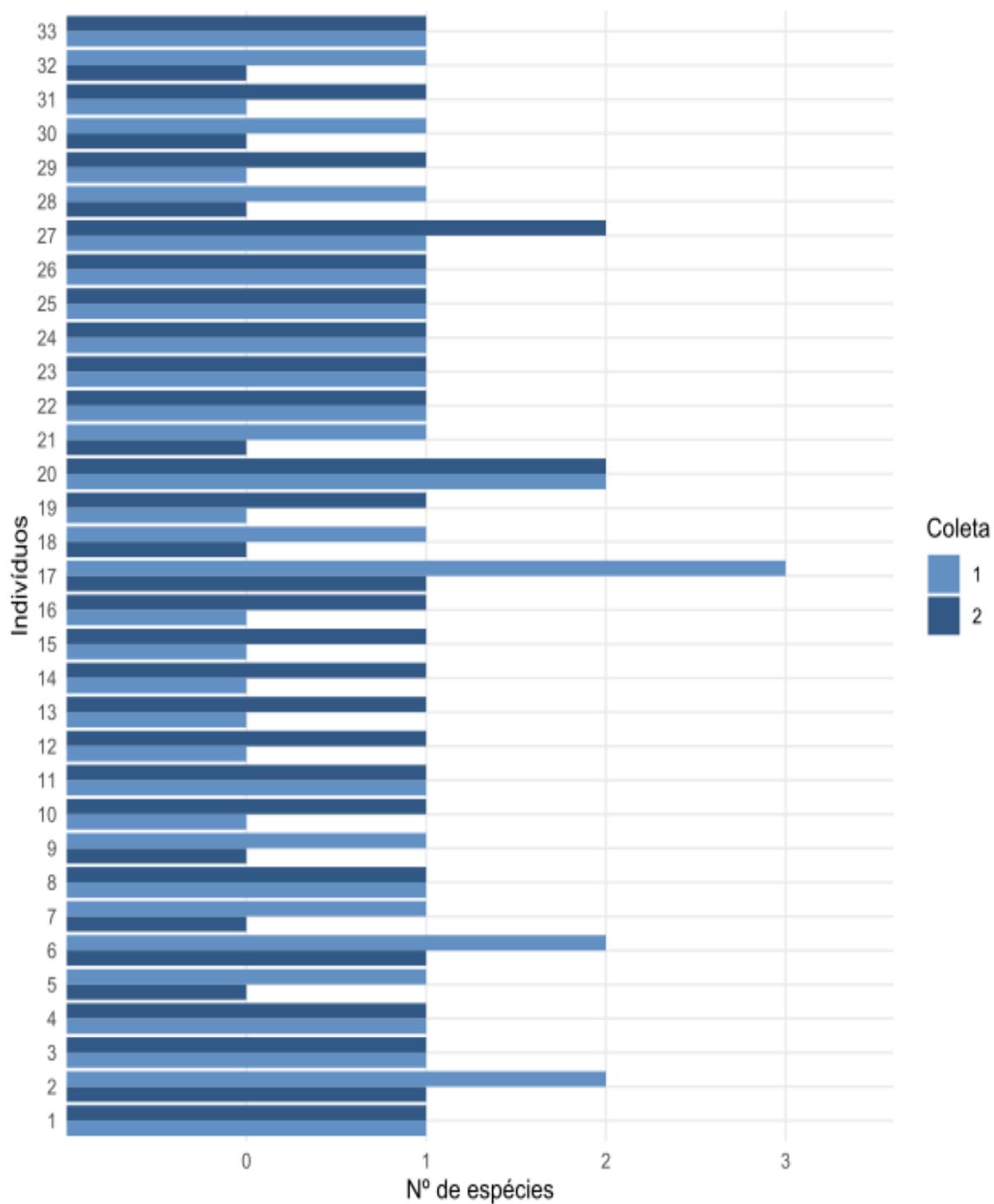


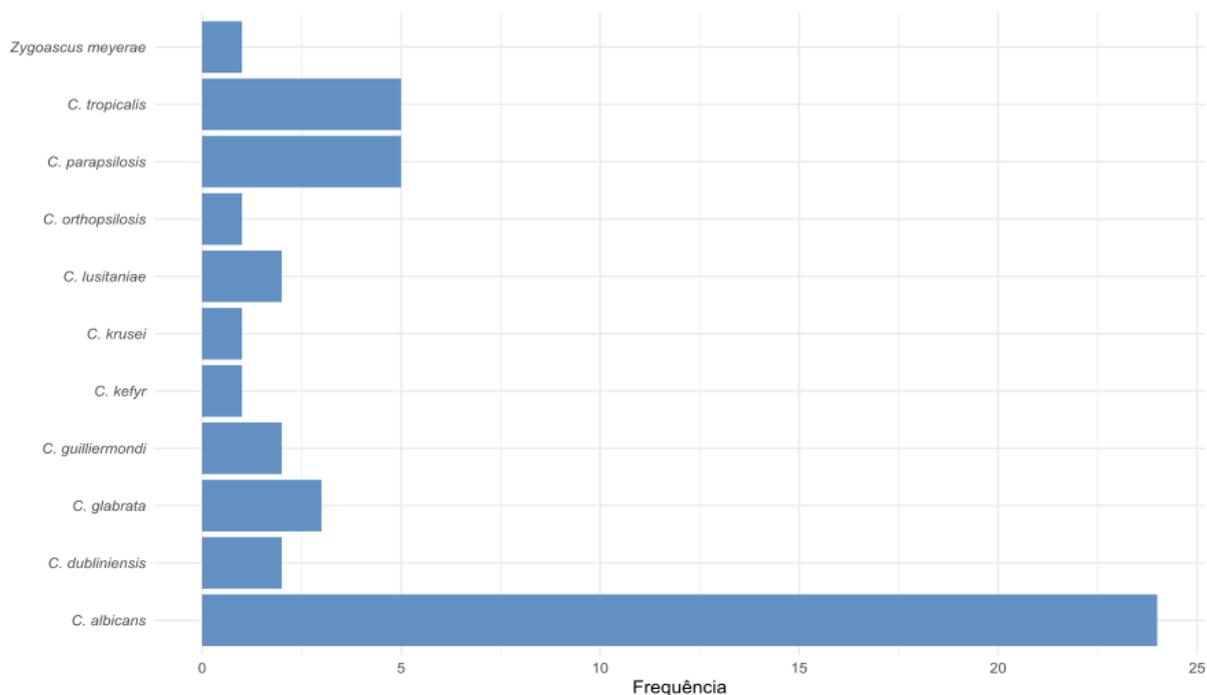
Figura 27 – Análise do número de espécies de *Candida* spp. por coleta (1ª ou 2ª coleta) e por indivíduo no grupo caso.



7.7. Análise da diversidade das espécies de *Candida* spp. nos indivíduos grupo caso que realizaram quimioterapia

Do total de 70 indivíduos do grupo caso, 59 (84,29%) realizaram quimioterapia concomitante a RT, sendo que 30 tiveram alguma colônia de *Candida* spp. identificada no CHROMagarCandida®. A Figura 28 apresenta a análise da diversidade de espécies de *Candida* spp. nos indivíduos do grupo caso que fizeram quimioterapia.

Figura 27 – Gráfico de barra da análise da diversidade de espécies de *Candida* spp. nos indivíduos do grupo caso que fizeram quimioterapia.



8. DISCUSSÃO

No presente estudo houve 25,6% dos indivíduos do grupo controle e 47,1% dos indivíduos do grupo caso com pelo menos uma colônia de *Candida* sp. isolada. Em ambos os grupos houve predomínio de *C. albicans*. No grupo controle *C. albicans* correspondeu a 57,45% de todas as espécies de *Candida* spp. isoladas e no grupo caso ela correspondeu a 46,43% das espécies de *Candida* spp isoladas. *C. albicans* foi prevalente tanto na 1ª coleta (antes de RT) como na 2ª coleta (durante a RT) no grupo caso, refletindo, respectivamente, 44,83% e 48,15% das espécies isoladas. Esse achado vai de acordo com a literatura existente, que indica que *C. albicans* é a espécie de *Candida* sp. mais prevalente tanto em indivíduos saudáveis quanto em oncológicos (inclusive com câncer de cabeça e pescoço) devido ao seu papel na microbiota humana endógena (LEUNG, DASSANAYAKE, YAU, 2000; REDDING, DAHIYA, KIRKPATRICK, 2004; POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

Alguns estudos prévios mostraram que mesmo durante a RT para cânceres de cabeça e pescoço, *C. albicans* é a espécie predominante (LEUNG, DASSANAYAKE, YAU, 2000; REDDING, DAHIYA, KIRKPATRICK, 2004). O estudo de de Freitas *et al.* (2013) indicou que no grupo de pacientes em RT não houve predominância de *C. albicans*, mas sim de *C. tropicalis* and *C. parapsilosis*. No presente estudo, *C. albicans* continuou sendo predominante nos pacientes que estavam realizando RT.

No presente estudo, as espécies mais prevalentes de *Candida* spp. foram *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis*, tanto no grupo caso quanto no grupo controle. Esse achado vai de encontro com o dado de que a maioria das infecções por *Candida* sp. são causadas pelas espécies *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015).

Já foi relatado que as espécies de *Candida* spp, especialmente *C. albicans*, foram os organismos mais associados a infecções fúngicas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço recebendo RT. Entretanto, desde a última década, há emergência de espécies de *Candida não albicans*. Espécies não albicans habitualmente são mais resistentes aos antifúngicos azólicos e assim

um diagnóstico rápido seguido de gestão adequada pode reduzir a gravidade e morbidade das infecções fúngicas nesses pacientes (POLKE, HUBE, JACOBSEN, 2015; GUNJESH, CAPOOR, DEEPTHI, 2017). No nosso estudo foi evidenciada uma diversidade de espécies de *Candida* spp. maior no grupo caso do que no grupo controle. No grupo controle houve identificação de oito espécies diferentes de *Candida* spp. No grupo caso houve identificação de treze espécies diferentes. Houve a identificação de cinco espécies não *albicans*, não existentes no grupo controle, as *Candida albicans* variante *africana*, *Candida kefyr*, *Candida orthopsilosis*, *Candida catenulata* e *Zygoascus meyeriae* (*C. hellenica* var. *hellenica*). O grupo controle possuiu 57,45% de *C. albicans* e 42,56% de espécies não *albicans*. O grupo caso possuiu 46,42% de *C. albicans* e 53,59% de espécies não *albicans*. Na 1ª coleta do grupo caso (antes de RT) houve 44,83% de *C. albicans* e 55,17% de espécies não *albicans*. Na 2ª coleta do grupo caso (antes de RT) houve 48,15% de *C. albicans* e 51,84% de espécies não *albicans*. Nas análises realizadas, não houve diferença estatística na diversidade do grupo caso, em relação a 1ª (antes de RT) e 2ª coleta (durante RT).

Alguns estudos evidenciaram o aumento da colonização e isolamento fúngico durante a RT (PAULA, SAMPAIO, BIRMAN, 1990; RAMIREZ-AMADOR, JR SILVERMAN, MAYER, 1997; DAHIYA, REDDING, DAHIYA, 2003; DE FREITAS, NOBRE, PIRES, 2013). O Paula et al. (1990) demonstrou um aumento progressivo na colonização de *Candida* spp. durante o tratamento radioterápico (72% em comparação a 56 % antes do início de radioterapia), principalmente associado a *C. albicans* (36%) e *C. tropicalis* (16%). No nosso estudo houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) na detecção e isolamento de *Candida* sp. no grupo caso, entre a 1ª coleta (antes de RT) e a 2ª coleta (durante a RT), possibilitando a interpretação que durante a RT é mais possível de detectar e isolar alguma espécie de *Candida* spp.

Alguns estudos vêm demonstrando que outros fungos não *Candida* spp. estão cada vez mais sendo associados a infecções orais em imunocomprometidos (SROISIRI, THAWEBON, SRITHAVAJ, 2008; SCHIBERT, M. M.; PETERSON, D. E., 2009). No grupo caso, que são indivíduos com câncer, foram isoladas três espécies de *Lodderomyces elongisporus* e duas espécies de *Aspergillus* sp, ambos fungos relacionados a doenças sistêmicas graves.

O fungo *Lodderomyces elongisporus* era considerado um estado sexual de

C. parapsilosis, e seu papel na infecção humana era desconhecido. Seqüenciamento do gene do RNA ribossômico revelou que *L. elongisporus* representa uma espécie distinta da *C. parapsilosis* e o papel etiológico em infecções humanas de *L. elongisporus* foi posteriormente estabelecido. *L. elongisporus* tem prevalência global: foi isolado de pacientes em regiões geográficas distantes, incluindo México, Malásia e China, Austrália, Oriente Médio, Japão, Espanha e Coréia. Os dados sobre a susceptibilidade antifúngica de *L. elongisporus* são escassos e nenhum ponto de corte de suscetibilidade está disponível (AL-OBAID, AHMAD, JOSEPH, 2018).

As espécies de *Aspergillus* sp. são fungos ambientais que se reproduzem por meio da produção de esporos transportados pelo ar. As espécies de *Aspergillus* sp. causam doença em indivíduos “em risco”, como os que possuem alguma doença pulmonar estrutural ou estado imunológico alterado. As manifestações da doença variam de respostas alérgicas e de hipersensibilidade a doença cavitária com invasão sistêmica. Várias centenas de espécies de *Aspergillus* sp são descritas, mas menos de um décimo são patogênicos para os humanos com o isolado patogênico mais comum sendo *A. fumigatus* (SANJAY, MIRKOVIC, LAVELLE, 2014).

Nesse estudo foi evidenciado maior predomínio de *C. albicans* e *C. parapsilosis* no sexo masculino no grupo caso e no sexo feminino do grupo controle. Entretanto destaca-se que houve 60 homens (85,71%) e 10 mulheres (14,29%) no grupo caso e 45 homens (28,13%) e 115 mulheres (71,88%) no grupo controle.

Esse estudo utilizou a técnica de biologia molecular MALD-TOF-MS para correta identificação das espécies de fungos. Foi realizada uma extensa revisão de literatura e até o presente momento não foi publicado nenhum estudo que tenha avaliado espécies de *Candida* spp. da cavidade oral de pacientes com câncer de cabeça e pescoço realizando RT. De Sousa *et al.* (2016) utilizou a técnica MALDI-TOF-MS para avaliar espécies de *Candida* spp. de pacientes com câncer orogástrico no Brasil (coleta na cavidade oral), tendo conseguido 100% de identificação das espécies com a técnica. Alizadeh *et al.* (2017) utilizou a técnica MALDI-TOF-MS para avaliar espécies de *Candida* spp. em mulheres com vulvovaginite no Irã, tendo conseguido 94% de identificação das espécies com a técnica. Aslaniá. (2018) utilizou a técnica MALDI-TOF-MS para avaliar as

espécies de *Candida* spp. da cavidade oral de pacientes oncológicos (350 pacientes com qualquer câncer) no Irã, tendo conseguido 100% de identificação das espécies coma técnica.

Esse estudo foi realizado no setor de radioterapia do Hospital da Baleia, em Belo Horizonte, Minas Gerais. O Hospital da Baleia é uma referência em tratamento oncológico no estado e os achados descritos na caracterização dos indivíduos do grupo caso refletem a epidemiologia do setor. Foi evidenciado que a maioria dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço, que realizaram RT no Hospital da Baleia, é do sexo masculino, pardo, com ensino fundamental incompleto ou completo, é tabagista ativo, possuía câncer em estágio avançado, localizado principalmente nas regiões da orofaringe (44,29%) e laringe (21,43%), sendo que os sublocais mais comuns foram à base de língua (faz parte da orofaringe) (22,58%) e amígdala (faz parte da orofaringe) (19,35%). A maioria ainda não era submetida à cirurgia e realizou QT concomitante a RT.

9. LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

Esse estudo foi desenvolvido durante a pandemia de COVID-19 e devido a isso houve grande dificuldade no recrutamento dos grupos caso e controle. Assim não foi possível um grupo caso e controle pareado nas variáveis analisadas.

Futuramente, as amostras de *Candida* spp. coletadas dos grupos serão avaliadas por antifungograma e esses dados possibilitarão a criação de um protocolo de tratamento para candidíase orofaríngea.

10. CONCLUSÕES

Diante do que foi exposto neste trabalho, podemos concluir que:

1) *Candida albicans* é a espécie de *Candida* spp. mais prevalente em indivíduos não oncológicos e oncológicos (câncer de cabeça e pescoço).

2) *Candida albicans* é a espécie de *Candida* spp. mais prevalente em indivíduos portadores de câncer de cabeça e pescoço realizando radioterapia.

3) As espécies mais prevalentes de *Candida* spp., em indivíduos não oncológicos e oncológicos (câncer de cabeça e pescoço), foram *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis*.

4) Em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, antes e durante a RT, é evidenciado mais espécies de *Candida* spp. não *albicans* do que em indivíduos não oncológicos.

5) Não houve aumento da diversidade de espécies de *Candida* spp. durante a RT em pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

6) Durante a realização de RT é mais fácil de detectar e isolar alguma espécie de *Candida* spp. em paciente com câncer de cabeça e pescoço.

7) Outros fungos não *Candida* spp., com potencial patogênico, foram identificados nos pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIZADEH, M.; KOLECKA, A.; BOEKHOUT, T.; ZARRINFAR, H.; GHANBARI-NAHZAG, M.A.; BADIEE, P.; et al. Identification of *Candida* species isolated from vulvovaginitis using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Curr Med Mycol.*, v. 3, n. 4 p. 21-25, 2017.

AGRESTI, A. *Categorical analysis*. New York: John Wiley, 2002.

AGRESTI, A.; KATERI, M. *Categorical Data Analysis*. Gainesville, Florida: John Wiley, 2011. v. 45

ALIZADEH, M.; KOLECKA, A.; BOEKHOUT, T.; ZARRINFAR, H.; NAHZAG, M. A. G.; BADIEE, P.; et al. Identification of *Candida* species isolated from vulvovaginitis using matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. ***Curr Med Mycol.***, v. 3, n. 4, p. 21-25, 2017.

AMIN, M. B.; EDGE, S. GREENE, F., BYRD, D.R.; BROOKLAND, R. K.; WASHINGTON, M.K.; et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8. ed. Suíça: Springer, 2017. 1032 p.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Detecção e Identificação dos fungos de importância médica. Módulo VII. 2004. Disponível em URL: https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/microbiologia/mod_7_2004.pdf. Acesso em: 21 de fev. 2021.

ASLANI, N.; JANBABAEI, G.; ABASTABAR, M.; MEIS, J. F.; BABAEIAN, M.; KHODAVAISY, S.; et al. Identification of uncommon oral yeasts from cancer patients by MALDI-TOF mass spectrometry. *BMC Infect Dis.*, v. 18, n. 1, p. 24, 2018.

ASSIS, D. M.; JULIANO, L.; JULIANO, M. A. A espectrometria de massas aplicada na classificação e identificação de microrganismos. ***Revista da Universidade Vale do Rio Verde***, v. 9, n. 2, p. 344-355, 2011.

AUPÉRIN, A. Epidemiology of head and neck cancers: an update. ***Curr Opin Oncol.***, v. 32, n. 3, p. 178-186, 2020.

AL-OBAID, K.; AHMAD, S.; JOSEPH, L.; KHAN, Z. *Lodderomyces elongisporus*: a bloodstream pathogen of greater clinical significance. ***New Microbes New Infect.***, v. 18, n. 26, p. 20-24, 2018.

BAUTISTA-MUNÓZ, C.; BOLDO, X. M.; VILLA-TANACA, L.; HERNANDEZRODRÍGUEZ, C. Identification of *Candida* spp. by Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis and Differentiation between *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by Direct PCR Methods. ***Journal of Clinical Microbiology***, v. 41, n. 1, p. 414-420, jan. 2003.

BELAZI, M.; VELEGRAKI, A.; KOUSSIDOU-EREMONDI, T.; ANDREADIS, D.; HINI, S.; ARSENIS, G.; et al. Oral *Candida* isolates in patients undergoing radiotherapy for head and neck cancer: prevalence, azole susceptibility profiles and response to antifungal treatment. ***Oral Microbiol Immunol.***, v. 19, n. 6, p. 347-351, 2004.

BEIGHTON, D.; LUDFORD, R.; T. CLARK, D. T.; BRAILSFORD, S. R.; CAROLINE L. PANKHURST, C. L.; TINSLEY, G. F.; et al. Use of CHROMagar *Candida* Medium for Isolation of Yeasts from Dental Samples. ***J Clin Microbiol.*** v. 33, n. 11, p. 3025–3027, 1995.

BENSADOUN, R. J.; PATTON, L. L.; LALLA, L. L.; EPSTEIN, J. B. Oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients treated with radiation: update 2011. **Support Care Cancer**, v. 19, n. 6, p. 737-44, 2011.

BRUKER DALTONICS. Custom MSP and library creation. Revision C. Billerica, MA: Bruker Daltonics; 2014.

CHOW, L. Q. M. Head and neck cancer. **N Engl J Med.**, v. 382, n. 1, p. 60-72, 2020.

COHEN, J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. Routledge; 1988.

COORDES, A.; LENZ, K.; QIAN, X.; LENARZ, M. KAUFMANN, A. M.; ALBERS, A. E. Meta-analysis of survival in patients with HNSCC discriminates risk depending on combined HPV and p16 status. **Eur Arch Otorhinolaryngol.**, v. 273, n. 8, p. 2157-1269, 2016.

DAHIYA, M. C.; REDDING, P. W., DAHIYA, R. S.; ENG. T. Y.; KIRKPATRICK, W. R.; COCO, B. J; et al. Oropharyngeal candidiasis caused by non-albicans yeast in patients receiving external beam radiotherapy for head-and-neck cancer. **Int J Radiat Oncol Biol Phys.**, v. 57, n.1, p. 79-83, 2003.

DE FREITAS, E. M.; NOBRE, S. A. M.; PIRES, M. B. O.; FARIA, R. V. J.; BATISTA, A. U. D.; BONAN, P. R. F. Oral Candida species in head and neck cancer patients treated by radiotherapy. **Auris Nasus Larynx.**, v. 40, n. 4, p. 400-404, 2013.

DE SOUSA, L. V. N. F.; SANTOS, V. L.; MONTEIRO, A. DE SOUZA.; DIAS-SOUZA, M. V.; MARQUES, S. G.; DE FARIA, E. S. et al. Isolation and identification of Candida species in patients with orogastric cancer: susceptibility to antifungal drugs, attributes of virulence in vitro and immune response phenotype. **BMC Infect Dis.**, v. 16, n. 86, 2016.

ELISEI, R. M. T. Infecções por leveduras do gênero Candida em pacientes imunossuprimidos [monografia]. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Belo Horizonte, 2009.

FLEISS, J. L.. The Design and Analysis of Clinical Experiments. New York: John Wiley & Sons; 1986.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE CANCER COLLABORATION. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. **JAMA Oncol.**, v. 5, p. 1749–1768, 2019.

GOULART, V. A. M.; RESENDE, R. R. MALDI-TOF: uma ferramenta revolucionária para as análises clínicas e pesquisa do câncer. **Nanocell News**, Belo Horizonte, v.1, n. 3, nov. 2013.

GUNJESH, K. S.; CAPOOR, M. R.; DEEPTHI, N.; BHOWMIK, K. T. Spectrum of fungal infection in head and neck cancer patients on chemoradiotherapy. **J Egypt Natl Canc Ins.**, v. 29, n. 1, p. 33-37, 2017.

HALPERIN, E. C.; WAZER, D. E.; PEREZ, C. A.; BRADY, L. W. Perez and Brady's principles and practice of radiation oncology. 7. ed. Filadélfia: Wolters Kluwer, 2018. 2338 p.

JHAM, B. C.; FRANÇA, E. C.; OLIVEIRA, R. R.; SANTOS, V. R. S.; KOWALSKI, L. P.;

FREIRE, A. R. S. Candida oral colonization and infection in Brazilian patients undergoing head and neck radiotherapy: a pilot study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 103, n. 3, p. 355-358, 2007.

KENNEL, T.; GARREL, R.; COSTES, V., BOISSELIER, P.; CRAMPETTE, L.; FAVIER, V. Head and neck carcinoma of unknown primary. **Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.**, v. 136, n. 3, p. 185-192, 2019.

LABORCLIN. Informativo clínico: Agar Candida Cromogênico. 17 de março de 2000. Disponível em URL: <https://www.laborclin.com.br/>. Acesso em: 21 de fev. 2021.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. Leveduras de Interesse Médico. Tratado de micologia médica, 9^a ed. São Paulo: Sarvier, 2002. cap. 6.

LAU, A. F.; DRAKE, S. K.; CALHOUN, L. B., HENDERSON, C.M., ZELAZNY, A. M. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization-Time of flight mass spectrometry. **J Clin Microbiol.**, v. 51, p. 828-834, 2013.

LEE N.Y.; RIAZ N.; LU J.J. Target volume delineation for conformal and intensity-modulated radiation therapy. 1. ed. Suíça: Springer, 2015. 541 p.

LEUNG, W. K.; DASSANAYAKE, R.S.; YAU, J.Y.Y.; YAM, W. C.; SAMARANAYAKE, L. P. Oral Colonization, Phenotypic, and Genotypic Profiles of *Candida* Species in Irradiated, Dentate, Xerostomic Nasopharyngeal Carcinoma Survivors. **J Clin Microbiol.**, v. 38, n. 6, p 2219–2226, 2000.

LYDIATT, W. M.; PATEL, S. G.; O’SULLIVAN, B.; BRANDWEIN, M. S.; RIDGE, J. A.; MIGLIACCI, J. C.; et al. Head and neck cancers-major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. **CA Cancer J Clin.**, v. 67, n. 2, p. 122-137, 2017.

MAROL, S.; YUCESOY, M. Molecular epidemiology of *Candida* species isolated from clinical specimens of intensive care unit patients. **Mycoses**, v. 51, p. 40-49, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. INCA - INSTITUTO NACIONAL DO CANCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2020: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, RJ: INCA, 2019. Disponível em URL: <http://www.inca.org.br>. Acesso em: 21 de fev. 2021.

MOUSAVI, S. A. A.; KHALESY, E.; SHAHIDI, B.; AGHIGHI, S.; SHARIFI, F.; ARAM, F. Rapid Molecular Diagnosis for *Candida* species Using PCR-RFLP. **Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 583-587, 2007.

NCCN – NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK. Clinical Practice Guideline in Oncology – Head and Neck Cancers. Versão 1.2020 – March 5, 2020. Disponível em URL: <http://www.nccn.org>. Acesso em: 21 de fev. 2021.

NCI – NATIONAL CANCER INSTITUTE. Head and neck Cancer. US Government. 2017. Disponível em URL: <https://www.cancer.gov/>. Acesso em: 21 de fev. 2021.

PAI, S.I.; WESTRA, W. H. Molecular pathology of head and neck cancer: implications for diagnosis, prognosis, and treatment. **Annu Rev Pathol.**, v. 4, p. 49-70, 2009.

PAULA, C. R.; SAMPAIO, M. C. C.; BIRMAN, E. G.; SIQUEIRA, A. M. Oral yeasts in patients with cancer of the mouth, before and during radiotherapy. **Mycopathologia**, v.112, n. 2, p. 119-124, 1990.

PINTO, P. M.; RESENDE, M. A.; KOGA-ITO, C. Y.; TENDLER, M. Genetic Variability Analysis among Clinical Candida spp. Isolates Using Random Amplified Polymorphic DNA. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 2, p. 147-152, 2004.

POLKE, M; HUBE, B.; JACOBSEN, I. D. Candida survival strategies. **Adv Appl Microbiol.** v. 91, p. 139-235, 2015.

RAMIREZ-AMADOR, V.; JR SILVERMAN, S.; MAYER, P.; TYLER, M.; QUIVEY, J. Candidal colonization and oral candidiasis in patients undergoing oral and pharyngeal radiation therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 84, n. 2, p. 149-53, 1997.

REDDING, S. W.; DAHIYA, M. C.; KIRKPATRICK, W. R.; COCO, B. J.; PATTERSON, T. F.; FOTHERGILL, A. W.; et al. Candida glabrata is an emerging cause of oropharyngeal candidiasis in patients receiving radiation for head and neck cancer. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 97, n. 1, p. 47-52, 2004.

RIBEIRO, E. L.; GUIMARÃES, R. I.; INÁCIO, M. C. C.; FERREIRA, W. M.; CARDOSO, C. G.; DIAS, S. M. DA S.; NAVES, P. L. F. Aspectos das leveduras de Candida vinculadas as infecções nosocomiais. **NewsLab**, v. 64, p. 106-128, 2004.

SANJAY, H. C.; MIRKOVIC, B.; LAVELLE, G. M.; MCELVANEY, N. G. Immuno-evasive Aspergillus virulence factors. **Mycopathologia**, v. 178, n. 5-6, p. 363-70, 2014.

SCHIBERT, M. M.; PETERSON, D. E. Oral complications of hematopoietic cell transplantation. Em: APPELBAUM, F.R.; FORMAN, S. J.; NEGRIN, R.S.; BLUME, K.G. (editores). Thomas' hematopoietic cell transplantation. Oxford: Wiley-Blackwell, p. 1589-607, 2009.

SHOKOHI, T.; SOTEH, M. B. H.; POURI, Z. S.; HEDAYATI, M. T.; MAYAHI, S. Identification of Candida species using PCR-RFLP in cancer patients in Iran. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 28, n. 2, p. 147-151, 2010.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Micologia Médica à luz de autores contemporâneos. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. **Cancer statistics**, 2020. CA Cancer J Clin., v. 70, n. 1, p. 7-30, 2020.

SROISIRI, T.; THAWEBON, B.; SRITHAVAJ, T.; CHOONHARUANGDEJ, S. Oral colonization of Candida species in patients receiving radiotherapy in the head and neck area. **Quintessence Int.**, 2008.

TEPPER, J. E.; FOOTE, R. L.; MICHALSKI, J. M. Gunderson & Tepper's clinical radiation oncology. 5. ed. Filadélfia: Elsevier, 2019. 5639 p.

ZAITZ, C.; CAMPBELL, I.; MARQUES, S. A.; RUIZ, L. R. B.; FRAMIL, V. M. de S. Compêndio de Micologia Médica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

ZVEZDANOVA, M. E.; ESCRIBANO, P.; RUIZ, A.; MARTÍNEZ-JIMÉNEZ, M. C.; PELÁEZ, T.; COLLAZOS, A.; et al. Increased species-assignment of filamentous fungi using

MALDI-TOF MS coupled with a simplified sample processing and an in-house library. **Med Mycol.**, v. 1, n. 57, p. 63-70, 2019.

ANEXOS**ANEXO A – Instrumento de coleta de dados do grupo controle****FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS DO GRUPO CONTROLE****DADOS DO PACIENTE:**

Data: ___ / ___ / ___

Ficha Nº: _____

- a) Grupo controle

1- Nome: _____

2- Prontuário: _____

3- Data de nascimento: ___ / ___ / ___

4- Idade: _____

5- Raça:

- a) Branco
b) Negro
c) Pardo
d) Amarela
e) Indígena
f) Não quero declarar

6- Escolaridade:

- a) Analfabeto
b) Ensino fundamental incompleto
c) Ensino fundamental completo
d) Ensino médio incompleto
e) Ensino médio completo
f) Ensino superior incompleto
g) Ensino superior completo
h) Especialização
i) Mestrado
j) Doutorado
k) Não quero declarar

7- Tabagismo:

- a) Sim
b) Não

8- Etilismo:

- a) Sim
b) Não

ANEXO B – Instrumento de coleta de dados do grupo caso**FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS DO GRUPO CASO****DADOS DO PACIENTE:**

Data: ___ / ___ / ___

Ficha Nº: _____

- a) Grupo caso
 Com QT Sem QT
- b) **Nome:** _____
- c) **Prontuário:** _____
- d) **Data de nascimento:** ___ / ___ / ___
- e) **Idade:** _____
- f) **Diagnóstico histológico:** _____
- g) **Região da cabeça e pescoço acometida:** _____
- h) **Sub região da cabeça e pescoço acometida:** _____
- i) **Estadiamento:** _____
- j) **Tratamentos prévios:** Sim Não Se sim, qual? _____
- k) **Raça:**
g) Branco
h) Negro
i) Pardo
j) Amarela
k) Indígena
l) Não quero declarar
- l) **Escolaridade:**
l) Analfabeto
m) Ensino fundamental incompleto
n) Ensino fundamental completo
o) Ensino médio incompleto
p) Ensino médio completo
q) Ensino superior incompleto
r) Ensino superior completo
s) Especialização
t) Mestrado
u) Doutorado
v) Não quero declarar
- m) **Tabagismo:**
c) Sim
d) Não
- n) **Etilismo:**
a. Sim
b. Não
- o) **Etilismo:**
a. Sim
b. Não

ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o grupo controle

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O GRUPO CONTROLE

Título do Projeto: Colonização da cavidade oral por *Candida* spp de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico

Pesquisadora Responsável: Izabella Nobre Queiroz

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: Hospital da Baleia

Telefone para contato: (31) 99954-1288 (próprio da pesquisadora) ou (31) 3489-1548 / (31) 3461-40 (Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital da Baleia)

Email para contato: izabellanobrequeiroz@gmail.com (próprio da pesquisadora) ou CEP@hospitaldabaleia.org.br (Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital da Baleia)

Nome do voluntário: _____
Idade: _____ anos R.G.: _____

O Sr. (ª) está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa “Colonização da cavidade oral por *Candida* spp de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico”, de responsabilidade do (a) pesquisador (a) Izabella Nobre Queiroz.

O objetivo desta pesquisa é avaliar a frequência e espécies de *Candida* sp na cavidade oral de pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço, em tratamento radioterápico, em um serviço oncológico de referência no estado de Minas Gerais, Brasil, comparando com um grupo controle, de indivíduos sem história de câncer. O conhecimento obtido através desse estudo gerará dados epidemiológicos dos pacientes do próprio serviço oncológico, permitindo protocolos e melhora do cuidado, e permitirá novos estudos futuros, tais como uso de antifúngicos e de profilaxia.

Haverá dois grupos de participantes na pesquisa, um grupo controle, que não pode ter história de câncer, e um grupo caso, que será de pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico no setor de radioterapia do Hospital da Baleia. Em ambos os grupos será coletada amostra salivar de mucosa bucal e língua. No grupo controle será coletado em um único momento, na requisição dos dados. No grupo caso, a coleta será realizada em dois momentos, antes do início da radioterapia, na requisição de dados, e entre a 15ª a 20ª fração de radioterapia. Essas amostras irão para isolamento e identificação própria em laboratórios de pesquisa.

O Sr. (ª) está sendo convidado(a) a participar no grupo controle, ou seja, no grupo de pessoas que não tem ou não tiveram história de câncer e que é um acompanhante de um paciente oncológico em tratamento radioterápico no setor de radioterapia do Hospital da Baleia.

Esta coleta de dados não apresentará nenhum risco ou desconforto para você. A participação é voluntária, e o pesquisador e o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital da Baleia estarão disponíveis para qualquer esclarecimento, e o participante ficará à vontade para abandonar a pesquisa ou exigir maiores esclarecimentos sobre ela, sem qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento na instituição.

Os dados obtidos na coleta dos dados e os resultados publicados não identificarão o indivíduo e, em hipótese alguma será revelada sua identidade.

O participante não terá nenhum gasto adicional para participar da pesquisa, visto que a coleta dos dados ocorrerá no setor de radioterapia.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Izabella Nobre Queiroz

Eu, _____, RG nº _____ declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Nome e assinatura do paciente ou seu responsável legal

ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o grupo caso

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O GRUPO CASO

Título do Projeto: Colonização da cavidade oral por *Candida* spp de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico

Pesquisadora Responsável: Izabella Nobre Queiroz

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: Hospital da Baleia

Telefone para contato: (31) 99954-1288 (próprio da pesquisadora) ou (31) 3489-1548 / (31) 3461-40 (Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital da Baleia)

Email para contato: izabellanobrequeiroz@gmail.com (próprio da pesquisadora) ou CEP@hospitaldabaleia.org.bd (Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital da Baleia)

Nome do voluntário: _____
Idade: _____ anos R.G.: _____

O Sr. (ª) está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa “Colonização da cavidade oral por *Candida* spp de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico”, de responsabilidade do (a) pesquisador (a) Izabella Nobre Queiroz.

O objetivo desta pesquisa é avaliar a frequência e espécies de *Candida* sp na cavidade oral de pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço, em tratamento radioterápico, em um serviço oncológico de referência no estado de Minas Gerais, Brasil, comparando com um grupo controle, de indivíduos sem história de câncer. O conhecimento obtido através desse estudo gerará dados epidemiológicos dos pacientes do próprio serviço oncológico, permitindo protocolos e melhora do cuidado, e permitirá novos estudos futuros, tais como uso de antifúngicos e de profilaxia.

Haverá dois grupos de participantes na pesquisa, um grupo controle, que não pode ter história de câncer, e um grupo caso, que será de pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico no setor de radioterapia do Hospital da Baleia. Em ambos os grupos será coletada amostra salivar de mucosa bucal e língua. No grupo controle será coletado em um único momento, na requisição dos dados. No grupo caso, a coleta será realizada em dois momentos, antes do início da radioterapia, na requisição de dados, e entre a 15ª a 20ª fração de radioterapia. Essas amostras irão para isolamento e identificação própria em laboratórios de pesquisa.

O Sr. (ª) está sendo convidado(a) a participar no grupo caso, ou seja, no grupo de pessoas que possuem câncer na região da cabeça e pescoço e que estão em tratamento radioterápico no setor de radioterapia do Hospital da Baleia.

Esta coleta de dados não apresentará nenhum risco ou desconforto para você. A participação é voluntária, e o pesquisador e o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital da Baleia estarão disponíveis para qualquer esclarecimento, e o participante ficará à vontade para abandonar a pesquisa ou exigir maiores esclarecimentos sobre ela, sem qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento na instituição.

Os dados obtidos na coleta dos dados e os resultados publicados não identificarão o indivíduo e, em hipótese alguma será revelada sua identidade.

O participante não terá nenhum gasto adicional para participar da pesquisa, visto que a coleta dos dados ocorrerá no setor de radioterapia.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Izabella Nobre Queiroz

Eu, _____, RG nº _____ declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Nome e assinatura do paciente ou seu responsável legal