



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

DANIELLE AMANDA NIZ ALVAREZ

**CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA ORAL EM PACIENTES SUBMETIDOS AO
TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE MEDULA ÓSSEA E CORRELAÇÃO COM
DADOS CLÍNICOS**

**Botucatu
2026**

Danielle Amanda Niz Alvarez

**CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA ORAL EM PACIENTES SUBMETIDOS AO
TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE MEDULA ÓSSEA E CORRELAÇÃO COM
DADOS CLÍNICOS**

Dissertação para defesa de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, do Instituto de Biociências, da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu.

Financiadora: FAPESP - Processo 2024/02936-8

Orientador: Prof^a. Dr^a. Gislane Lelis Vilela de Oliveira

**Botucatu
2026**

A473c

Alvarez, Danielle Amanda Niz

Caracterização da microbiota oral em pacientes submetidos ao transplante alogênico de medula óssea e correlação com dados clínicos / Danielle Amanda Niz Alvarez. -- Botucatu, 2026
98 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientadora: Gislane Lelis Vilela de Oliveira

1. Microbiologia. 2. Ecologia microbiana. 3. Transplante homólogo. 4. Medula óssea Transplante. 5. Doença enxerto contra hospedeiro. I. Título.

Impacto potencial desta pesquisa

A presente pesquisa apresenta potencial impacto científico ao contribuir com estudos de microbiota oral de pacientes da população brasileira no contexto do transplante alogênico de medula óssea e células-tronco hematopoéticas, buscando possíveis biomarcadores de resposta clínica e preencher lacunas ainda existentes na literatura. Em relação ao impacto social, a presente pesquisa almeja contribuir com melhorias na qualidade de vida dos pacientes transplantados principalmente por meio do incentivo à novas estratégias terapêuticas que promovam maior sobrevida e reduzam as complicações associadas ao alo-transplante. Por fim, no impacto econômico, os resultados desta pesquisa poderão favorecer a implementação de intervenções eficazes e de baixo custo visando a modulação da microbiota oral, como por exemplo práticas adequadas de higiene bucal, beneficiando inclusive populações mais vulneráveis.

Potential impact of this research

The present research has potential scientific impact by contributing to studies on the oral microbiota of patients from the Brazilian population in the context of allogeneic bone marrow and hematopoietic stem cell transplantation, seeking possible clinical response biomarkers and filling existing gaps in the literature. Regarding the social impact, this research aims to contribute to improving the quality of life of transplanted patients, mainly by encouraging new therapeutic strategies that promote longer survival and reduce complications associated with allo-transplantation. Finally, in terms of economic impact, the results of this research may support the implementation of effective and low-cost interventions aimed at modulating the oral microbiota, such as proper oral hygiene practices, benefiting even the most vulnerable populations.

Danielle Amanda Niz Alvarez

**CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA ORAL EM PACIENTES SUBMETIDOS AO
TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE MEDULA ÓSSEA E CORRELAÇÃO COM
DADOS CLÍNICOS**

Dissertação para defesa de mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral
e Aplicada, do Instituto de Biociências, da
Universidade Estadual Paulista, Câmpus de
Botucatu.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Gislane Lelis Vilela de
Oliveira

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Gislane Lelis Vilela de Oliveira
UNESP – Câmpus de Botucatu
Orientador

Prof. Dr. Paulo Henrique Fonseca do Carmo
UNESP – Câmpus de Botucatu

Prof^a. Dr^a. Carla Romano Taddei
USP – Câmpus de São Paulo

**Botucatu
1 de abril de 2026**

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: **Caracterização da microbiota oral em pacientes submetidos ao transplante alogênico de medula óssea e correlação com dados clínicos**

AUTORA: DANIELLE AMANDA NIZ ALVAREZ

ORIENTADORA: GISLANE LELIS VILELA DE OLIVEIRA

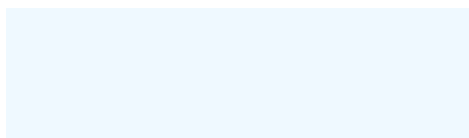
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Biologia Geral e Aplicada, área: Biologia de Micro-organismos e Imunidade pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. GISLANE LELIS VILELA DE OLIVEIRA (Participação Presencial)
Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB

Profa. Assoc. CARLA ROMANO TADDEI (Participação Virtual)
Microbiologia Instituto de Ciências Biomédicas / Universidade de São Paulo/USP

Prof. Dr. PAULO HENRIQUE FONSECA DO CARMO (Participação Presencial)
Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB

Botucatu, 01 de abril de 2026.



Renan Codeco da Silva
Assistente Técnico Administrativo I da Seção Técnica de Pós-Graduação
Instituto de Biociências de Botucatu

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Raul Alvarez Junior (*in memoriam*) e Cecília Elizabeth Niz Alvarez, pelo apoio constante ao longo de toda a minha jornada acadêmica e pessoal. Mesmo a vida sendo passageira, tive o privilégio de poder dividi-la com vocês. Amo vocês incondicionalmente.

Ao meu irmão, Marcus Vinicius Niz Alvarez, pela parceria de bioinformática e por ser o meu maior exemplo e inspiração de vida. Não tenho palavras para descrever a gratidão, o amor e a admiração que sinto por você. Sem você ao meu lado, eu não seria metade do que sou hoje. Amo você de todo o meu coração.

Aos demais familiares que de alguma forma ofereceram seu apoio e carinho: vô Milciades (*in memoriam*), vó Luzia, vô Raul (*in memoriam*), vó Maria (*in memoriam*), tios John e Milciades Jr., tias Ana e Fernanda, primos Lara, Igor e Ítalo. Obrigada!

Ao meu namorado, Ian Matos Almeida, pelo amor, cuidado e toda paciência ao longo dos anos. Amo você. Agradeço também minhas amigas queridas que sempre estiveram ao meu lado: Daniele Rosalem, Beatriz Percário, Isabelle Tenori, Ana Júlia Zambrini, Laura Mazzutti, Carol Boccia, Karina Hokama e Jéssica Vidotto. Vocês são minha rede de apoio mais sólida.

À minha orientadora, Dr^a Gislane Lelis Vilela de Oliveira, que me acolheu em seu laboratório com tanto carinho e disposição. Agradeço pela oportunidade de amadurecer profissionalmente e pessoalmente, além de me permitir desenvolver a pesquisa que tem sido a grande motivação da minha profissão. Aos meus colegas de laboratório: Larissa Silva, Luiza Machado, Bianca Fernanda, Nathalia Linares, Alexandre Soares, Jefferson Silva, Daniela Kuniyoshi e Mariana Trovão. Agradeço por cada momento descontraído, cada café, cada desabafo e por toda a ajuda. Guardo cada um de vocês no coração!

Ao IBILCE (UNESP Campus São José do Rio Preto) e ao IB (UNESP Campus Botucatu), por possibilitarem a realização deste trabalho. Agradeço também a todos os participantes do projeto, aos hospitais parceiros e a todas as equipes envolvidas no recrutamento e cuidado dos pacientes. Em especial, agradeço a Welinton Yoshio Hirai e Marcus Alvarez pelas análises estatísticas e parceria, auxiliando na construção dos resultados. Obrigada!

Por fim, meus sinceros agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo financiamento do programa de pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada da UNESP de Botucatu, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de pesquisa, sob o processo nº 2024/02936-8.

Caracterização Da Microbiota Oral Em Pacientes Submetidos Ao Transplante Alogênico De Medula Óssea E Correlação Com Dados Clínicos

Resumo: O transplante alogênico de medula óssea (alo-TMO) tem sido utilizado como procedimento terapêutico para neoplasias hematológicas e outras doenças não responsivas à quimioterapia. Apesar da crescente aplicação e expansão do acesso, o alo-TMO ainda está associado à significativa morbidade e mortalidade. A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) é a principal complicação e causa de óbito pós alo-TMO, acometendo de 40 a 50% dos pacientes. Vários trabalhos têm demonstrado a interação da microbiota com o sistema imune de mucosas e sua associação com diversos desfechos clínicos relevantes. O objetivo deste estudo foi avaliar o bacterioma oral de pacientes submetidos ao alo-TMO e que desenvolveram DECH aguda, correlacionando com respostas clínicas. Trata-se de um estudo multicêntrico prospectivo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNESP (n° 5.138.190/2021). As amostras da mucosa oral foram coletadas nos dias -7 (pré-condicionamento), 0 (infusão de células), +30, +60, +90, +180 pós-transplante e no diagnóstico da DECH aguda. A extração do DNA foi realizada por meio de kits comerciais e a análise do bacterioma foi feita por meio do sequenciamento do gene 16S RNAr. Foram recrutados 263 indivíduos e coletadas 801 amostras orais. Após filtragem e seleção, avaliou-se 244 amostras referentes à 90 pacientes (54,4% homens, com média de 39 ± 15 anos). A principal doença de base foi a leucemia mieloide aguda (42,2%) e houve o desenvolvimento de DECH aguda em quarenta indivíduos (44,4%). O índice de diversidade de Shannon foi significativamente menor nos períodos D-7 ($P = 0,006$), D0 ($P < 0,001$) e D+30 ($P < 0,001$) quando comparados ao grupo controle (CTRL). Ao analisar a distribuição de famílias bacterianas, detectamos a presença de Staphylococcaceae em todos os períodos e Enterococcaceae na DECH, ambas diferencialmente abundantes em relação ao CTRL. Verificou-se ainda a dominância (frequência relativa $\geq 30\%$) dos gêneros *Rothia* ($n = 15$), *Veillonella* ($n = 31$) e *Streptococcus* ($n = 68$), esse último sugerindo menor probabilidade de sobrevivência dos pacientes. Não foram observadas associações significativas entre parâmetros de diversidade ou dominância de gêneros e DECH aguda, recidiva da doença de base e óbito. Sendo assim, concluímos que a composição do bacterioma oral variou entre os pacientes ao longo do tempo, sugerindo uma resposta imunológica ao alo-TMO. Além disso, a imunossupressão associada ao transplante favorece o estabelecimento de gêneros e espécies com potencial patogênico, influenciando negativamente no prognóstico dos transplantados. Portanto, embora nosso estudo não tenha encontrado associações do perfil do bacterioma oral com os desfechos clínicos de interesse, sua caracterização possibilitou identificar gêneros diferencialmente abundantes e padrões de dominância na coorte brasileira no período pós-transplante e na DECH aguda.

Palavras-chave: microbiota oral; transplante alogênico; DECH; dominância.

Characterization of Oral Microbiota in Patients Undergoing Allogeneic Bone Marrow Transplant and Correlation with Clinical Data

Abstract: Allogeneic bone marrow transplantation (allo-BMT) has been used as a therapeutic procedure for hematological malignancies and other diseases non-responsive to chemotherapy. Despite the increasing application and expansion of access, allo-BMT is still associated with significant morbidity and mortality. Graft-versus-host disease (GvHD) is the main complication and cause of death after allo-BMT, affecting 40 to 50% of patients. Several studies have demonstrated the interaction of the microbiota with the mucosal immune system and its association with various relevant clinical outcomes. The objective of this study was to evaluate the oral bacteriome of patients undergoing allo-BMT who developed acute GvHD, correlating it with clinical responses. This is a prospective multicenter study, approved by the Research Ethics Committee of UNESP (No. 5,138,190/2021). Oral mucosa samples were collected on days -7 (pre-conditioning), 0 (cell infusion), +30, +60, +90, and +180 post-transplant, and at the diagnosis of acute GVHD. DNA extraction was performed using commercial kits, and bacteriome analysis was carried out by sequencing the 16S rRNA gene. A total of 263 individuals were recruited and 801 oral samples were collected. After filtering and selection, 244 samples from 90 patients (54.4% male, with a mean age of 39 ± 15 years) were evaluated. The main underlying disease was acute myeloid leukemia (42.2%), and acute GVHD developed in forty individuals (44.4%). The Shannon diversity index was significantly lower at time points D-7 ($P = 0.006$), D0 ($P < 0.001$), and D+30 ($P < 0.001$) when compared to the control group (CTRL). When analyzing the distribution of bacterial families, we detected the presence of *Staphylococcaceae* at all time points and *Enterococcaceae* in GvHD, both differentially abundant compared to CTRL. We also observed dominance (relative frequency $\geq 30\%$) of the genera *Rothia* ($n = 15$), *Veillonella* ($n = 31$), and *Streptococcus* ($n = 68$), the latter suggesting a lower probability of patient survival. No significant associations were observed between diversity parameters or genus dominance and acute GvHD, relapse of the underlying disease, and death. Thus, we conclude that the composition of the oral bacteriome varied among patients over time, suggesting an immunological response to allo-BMT. In addition, transplant-associated immunosuppression favors the establishment of genera and species with pathogenic potential, negatively influencing the prognosis of transplanted patients. Therefore, although our study did not find associations between the oral bacteriome profile and the clinical outcomes of interest, its characterization made it possible to identify differentially abundant genera and dominance patterns in the Brazilian cohort in the post-transplant period and in acute GvHD.

Keywords: oral microbiota; allogeneic transplantation; GvHD; dominance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma do recrutamento de pacientes, da coleta de amostras orais e seleção para sequenciamento. N_p = número de pacientes; N_A = número de amostras.

Figura 2: Índices de alfa-diversidade por período de coleta. (A) Índice de Ace; (B) Índice de Chao1; (C) Índice de Evenness; (D) Índice de Faith; (E) Índice de Shannon; (F) Índice de Simpson. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alotransplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Comparação feita por Kruskal Wallis com post-hoc de Dunn. Representações gráficas com letras únicas distintas “a”, “b” e “c” apresentam grupos com diferenças estatísticas significativas (P -valor Bonferroni $< 0,05$); representações com letras combinadas “ab”, “bc” e “abc” apresentam grupos com valores semelhantes sem diferenças estatísticas significativas.

Figura 3: Diversidade beta por análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada em matrizes de distância UniFrac ponderada e não-ponderada. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alotransplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Comparação feita por PERMANOVA.

Figura 4: Abundância relativa dos principais filos bacterianos encontrados nos diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alotransplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Figura 5: Abundância diferencial de filos bacterianos nos períodos D-7, D0, D+30, D+60, D+90, D+180 e DECH comparados com CTRL; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Figura 6: Abundância relativa das principais famílias bacterianas encontradas nos diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia

do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Figura 7: Abundância diferencial de famílias nos períodos D-7, D0, D+30, D+60, D+90, D+180 e DECH comparados com CTRL; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Figura 8: Abundância relativa dos principais gêneros bacterianos encontrados em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Figura 9: Microbioma núcleo compartilhado em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Porcentagens representam a proporção do táxon do microbioma núcleo em relação ao microbioma total observado de cada grupo.

Figura 10: Microbioma núcleo único em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Porcentagens representam a proporção do táxon do microbioma núcleo em relação ao microbioma total observado de cada grupo.

Figura 11: Abundância diferencial de gêneros nos períodos D-7, D0, D+30, D+60, D+90, D+180 e DECH comparados com CTRL; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Figura 12: Abundância relativa de espécies bacterianas em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Figura 13: Curva de sobrevida global para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 45).

Figura 14: (A) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 45); (B) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa grave para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 15).

Figura 15: Curva de risco de recidiva da doença de base para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 45).

Figura 16: Curva de sobrevida global para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 24).

Figura 17: (A) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 24); (B) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa grave para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 5).

Figura 18: Curva de risco de recidiva da doença de base para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 24).

Figura 19: Curva de sobrevida global para eventos de dominância por *Rothia* (n = 12).

Figura 20: (A) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa para eventos de dominância por *Rothia* (n = 12); (B) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa grave para eventos de dominância por *Rothia* (n = 3).

Figura 21: Curva de risco de recidiva da doença de base para eventos de dominância por *Rothia* (n = 12).

Figura 22: (A) Curva de Kaplan-Meier de sobrevida global dos pacientes com alta diversidade (Shannon $\geq$ mediana) e baixa diversidade (Shannon $<$ mediana); (B) Curva de risco para DECHa dos pacientes com alta diversidade (Shannon $\geq$ média) e baixa diversidade (Shannon $<$ média).

Figura 23: (A) Curva de Kaplan-Meier de sobrevida global dos pacientes com alta diversidade (Simpson $\geq$ mediana) e baixa diversidade (Simpson $<$ mediana); (B) Curva de risco para DECHa dos pacientes com alta diversidade (Simpson $\geq$ média) e baixa diversidade (Simpson $<$ média).

Figura 24: (A) Comparação de parâmetros de alfa diversidade; (B) Comparação de abundância relativa para diferentes níveis taxonômicos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados demográficos dos pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Tabela 2: Dados clínicos dos pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Tabela 3: Complicações e desfechos clínicos dos pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Tabela 4: Incidência, acometimento e manifestações da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) em pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Tabela 5: Dados demográficos dos indivíduos saudáveis

Tabela 6: Regressão univariada para associação entre ocorrência de eventos de dominância e dados demográficos e clínicos

Tabela 7: Regressão multivariada para associação entre ocorrência de eventos de dominância e dados demográficos e clínicos

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DECHa: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Aguda

alo: Alogênico

DECHc: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Crônica

CDs: Células Dendríticas

DECH: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro

DNA: Deoxyribonucleic Acid (ácido desoxirribonucleico)

FUNFARME: Fundação Faculdade Regional de Medicina

GvHD: Graft-Versus-Host-Disease

HLA: Human Leukocyte Antigen (antígenos leucocitários humanos)

IgA: Imunoglobulina A

LLA: Leucemia Linfoblástica Aguda

LLC: Leucemia Linfocítica Crônica

LMA: Leucemia Mielóide Aguda

MAGIC: Mount Sinai Acute GvHD International Consortium

MHC: Major Histocompatibility Complex

MMUD: Mismatch Unrelated Donor

MRD: Matched Related Donor

MUD: Matched Unrelated Donor

NF-κB: Fator Nuclear kappa B

PCR: Polymerase Chain Reaction (reação em cadeia da polimerase)

REDCap: Research Electronic Data Capture

RNAr: Ribosomal Ribonucleic Acid (ácido ribonucleico ribossômico)

TBI: Total Body Irradiation

TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas

TGI: Trato Gastrointestinal

TMO: Transplante de Medula Óssea

Financiamento do projeto

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2024/02936-8.

SUMÁRIO

Caracterização Da Microbiota Oral Em Pacientes Submetidos Ao Transplante Alogênico De Medula Óssea E Correlação Com Dados Clínicos.....	7
Characterization of Oral Microbiota in Patients Undergoing Allogeneic Bone Marrow Transplant and Correlation with Clinical Data.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. JUSTIFICATIVA.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
4. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
5. RESULTADOS.....	30
6. DISCUSSÃO.....	63
7. CONCLUSÃO.....	72
8. REFERÊNCIAS.....	73

INTRODUÇÃO

Desde 1970, o transplante de medula óssea (TMO) ou o transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) alogênico tem sido utilizado como método de tratamento para diversas doenças hematológicas sensíveis à quimioterapia tais como leucemias, mieloma múltiplo, linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, síndrome mielodisplásica, mielofibrose, trombocitemia essencial, policitemia vera, anemia aplásica e falciforme (Majhail *et al.*, 2015; Niederwieser *et al.*, 2021; Khaddour; Hana; Mewawalla, 2022).

Para a realização desse tratamento, antes do transplante propriamente dito, os pacientes são submetidos a um período de condicionamento que consiste na aplicação da quimioterapia em altas doses e/ou irradiação corporal total, promovendo imunossupressão nos indivíduos e destruindo células hematopoéticas neoplásicas (Khaddour; Hana; Mewawalla, 2022).

O regime de condicionamento afeta os pacientes submetidos ao alo-transplante ao favorecer a mucosite, alterar a fisiologia salivar e influenciar a imunidade local. Alguns estudos mostram que após a quimioterapia e/ou radioterapia, devido ao contato direto do epitélio oral com medicamentos citostáticos, há ocorrência de efeitos colaterais como xerostomia (secura da boca, associada a danos nas glândulas salivares, reduzindo a salivação e a produção de IgA, antioxidantes e peptídeos antimicrobianos presentes na saliva) e danos teciduais diretos. Juntos, esses efeitos levam ao desenvolvimento da mucosite, que consiste em uma inflamação tecidual associada à disfunções do sistema imunológico, formando lesões ulcerosas na mucosa (Van Leeuwen *et al.*, 2019; Van Leeuwen *et al.*, 2021; Wysocka-Słowik *et al.*, 2021). Além da salivação comprometida, o regime de condicionamento também induz resposta inflamatória com ativação de fatores de transcrição como NF- κ B, produção de citocinas inflamatórias e disbiose oral, aumentando o dano tecidual e intensificando a gravidade da mucosite (Shouval *et al.*, 2020). Por exemplo, em regimes de condicionamento mais intensos como irradiação corporal total (*Total Body Irradiation* - TBI) e aqueles associados ao medicamento metotrexato, há uma maior incidência e gravidade de mucosite quando comparado ao condicionamento de intensidade reduzida (Shouval *et al.*, 2020; Nakagaki *et al.*, 2022).

Após o regime de condicionamento, ocorre o processo de infusão das novas

células-tronco que são capazes de construir um novo sistema hematopoético e por conseguinte um novo sistema imunológico, iniciando a resposta imune induzida pelo alo-transplante. As células apresentadoras de antígenos do receptor, geralmente células dendríticas (CDs), reconhecem os aloantígenos próprios do receptor, expressando-os em sua superfície celular por meio de moléculas de MHC de classe I e II. Essas CDs migram via vasos linfáticos aferentes do local do enxerto para linfonodos ou outro órgão linfóide secundário mais próximo (baço ou imunidade de mucosas). Nos linfonodos, as DCs do receptor apresentam o aloantígeno aos linfócitos T virgens do doador, promovendo expansão e diferenciação em linfócitos T efetores. O reconhecimento por MHC classe I ativa linfócitos T CD8⁺ citotóxicos e por MHC classe II ativa linfócitos T CD4⁺ auxiliares. Os linfócitos T efetores do doador migram dos linfonodos para o local do enxerto via vasos linfáticos eferentes e corrente sanguínea, reconhecendo as células do receptor. Os linfócitos T efetores do doador destroem as células-alvo do receptor, conforme esperado pela resposta do transplante alogênico (Koyama; Hill, 2016; Blazar; Hill; Murphy, 2020).

As complicações pós-alo-TMO/TCTH podem surgir em diferentes condições associadas à idade e estado de saúde inicial do paciente, tipo de doador das células-tronco e regime de condicionamento. Essas complicações podem ser do tipo agudas, correspondendo ao surgimento de anemia, mielossupressão com neutropenia, síndrome de obstrução sinusal, doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) aguda, mucosite e infecções oportunistas; ou crônicas, incluindo DECH crônica, infecções por bactérias encapsuladas e vírus varicela-zoster (Ozdemir; Civriz Bozdağ, 2018; Khaddour; Hana; Mewawalla, 2022).

Como dito anteriormente, o mecanismo do alo-TMO baseia-se na proteção do paciente (receptor) por células T do enxerto do doador, que vão combater infecções oportunistas e células neoplásicas, conhecido como efeito “enxerto-contraleucemia”. Entretanto, essas mesmas células T do enxerto podem dar início à DECH, que consiste na inflamação e consequente destruição de células do receptor, mediada por células da imunidade inata, ativadas durante o condicionamento, e por respostas adaptativas, ampliadas pelas lesões teciduais. A DECH é a principal causa de mortalidade não relacionada à recidivas em pacientes do TMO e atinge cerca de 40 a 50% dos receptores. Ela pode ser classificada como aguda (DECHa), quando ocorre

a citólise de tecidos da pele, intestino, fígado, pulmão e sistema nervoso central, frequentemente diagnosticada entre 3-12 semanas pós-transplante, e crônica (DECHc), quando há o desenvolvimento de autoimunidade, desregulações imunológicas e fibroses em tecidos variados, em especial, na pele, olhos, articulações e pulmões, diagnosticada a partir de 6 meses pós-transplante (Zeiser; Blazar, 2017; Hill *et al.*, 2021).

Além do tratamento do transplante alogênico, outros fatores são importantes sob a perspectiva de regulação da resposta imune e saúde dos indivíduos, especialmente em cenários de imunossupressão. Um desses fatores consiste na comunicação e interação entre microbiota e sistema imune.

Tratando de microbiota, termo definido como o conjunto de microrganismos vivos que compõem um microbioma e/ou ecossistema (Berg *et al.*, 2020), sabemos que ela é capaz de influenciar seu microambiente, em especial aquele em estado inflamatório, pois alguns de seus integrantes como *Porphyromonas*, *Treponema* e *Fusobacterium* secretam polissacarídeos, citocinas e outros sinalizadores celulares que modulam a resposta imune do hospedeiro (Peng *et al.*, 2022).

O microbioma (que inclui à comunidade bacteriana espécies de arqueas, vírus, fungos e protozoários) possui grande influência sobre o sistema imune, que consiste em uma rede de integração entre vários sistemas do corpo e que coexiste em associação com os microrganismos. No corpo humano, o microbioma colabora em processos essenciais, tais como a digestão (fermentação sacarolítica/proteolítica), manutenção da integridade da barreira epitelial, produção de vitaminas, homeostase energética e angiogênese (Salvucci, 2019).

Ao avaliar somente as bactérias que compõem um microbioma, utiliza-se o termo bacterioma, que é uma estrutura complexa formando uma comunidade de microrganismos comensais e simbióticos que compartilham a mesma superfície epitelial/mucosa ou outro ambiente, constantemente interagindo e formando milhões de conexões (Lederberg; Mccray, 2001; Baquero; Nombela, 2012; Stern *et al.*, 2019).

No contexto do alo-transplante, a microbiota intestinal é amplamente estudada. Estudos recentes indicam que a baixa diversidade intestinal e o processo de disbiose associam-se à maior mortalidade e risco de desenvolvimento da DECH,

enquanto a alta diversidade e perfis metabolômicos específicos despontam como marcadores prognósticos (Peled *et al.*, 2020; Masetti *et al.*, 2023; Yue *et al.*, 2024). Além disso, intervenções como o transplante de microbiota fecal a partir de indivíduos saudáveis têm demonstrado potencial benefício clínico aos pacientes de alo-TMO/TCTH (Mullish *et al.*, 2024).

A região oral e nasofaríngea constitui o primeiro local de contato entre mucosa, parte do trato gastrointestinal, e elementos externos do ambiente. O tecido epitelial estratificado da mucosa oral é dividido em 3 diferentes categorias: mastigatório, onde é submetido a tração mecânica constante compreendendo gengiva, palato duro e dorso da língua com queratinização de células; especializado, presente principalmente no dorso da língua junto de enervação para função sensorial; e de revestimento, presente nos lábios, palato mole, bochechas e assoalho bucal com células pouco queratinizadas ou não queratinizadas (Gaffen; Moutsopoulos, 2020). Em regiões não queratinizadas, como a sublingual, há alta vascularização cujos vasos sanguíneos e linfáticos são capazes de disseminar rapidamente, a nível sistêmico, elementos externos como toxinas, medicamentos e vacinas (Gaffen; Moutsopoulos, 2020).

Junto das células epiteliais, a mucosa oral possui células imunes (como linfócitos intraepiteliais e da lâmina própria, células dendríticas, macrófagos, células de Langerhans, células com função semelhante às células tipo M) e estruturas anexas (como glândulas salivares, tonsilas palatinas, linguais e faríngea) que desempenham um importante papel biológico e influenciam as interações entre mucosa e sistema imunológico (Wu *et al.*, 2014).

Além da função de barreira, a cavidade oral abriga um microbioma com mais de 700 espécies de microrganismos colonizadores como bactérias, arqueas, vírus, fungos e protozoários, sendo a microbiota oral considerada a segunda mais importante e complexa microbiota do corpo humano, o que lhe confere destaque na área da saúde no cenário atual (Deo; Deshmukh, 2019; Peng *et al.*, 2022; Baker *et al.*, 2024).

Na mucosa oral, região que compreende língua, gengiva, palato e mucosa jugal, o número de bactérias colonizadoras alcança aproximadamente 50 a 100 milhões, incluindo espécies como *Veillonella* spp., *Actinomyces* spp., *Streptococcus*

spp. e outras aeróbicas (Mosaddad *et al.*, 2019). A composição da microbiota oral pode ser influenciada por diversos fatores, tanto endógenos como exógenos, obtidos pelos padrões de vida do hospedeiro quanto à alimentação, uso de tabaco, uso de bebidas alcoólicas, uso de antibióticos, estado socioeconômico, condição de gravidez, variações de pH, oxigênio e características do substrato bucal (Jia *et al.*, 2018; Baker *et al.*, 2024).

Existe uma associação entre diferentes perfis de microbiota oral e doenças. Uma das causas de morbidade e mortalidade de receptores de alo-transplante é a incidência de infecções sanguíneas por microrganismos orais (Badia *et al.*, 2020). As doenças bucais, como mucosite, periodontite e gengivite, que afetam os pacientes transplantados, seja por consequência do tratamento ou pela má higiene oral, são portas de entrada para a ocorrência dessas infecções, aumentando o risco no período pós-transplante (Dandoy *et al.*, 2016; Dandoy *et al.*, 2017; Dandoy *et al.*, 2020). A periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial que provoca a perda tecidual e estrutural do suporte dentário. As espécies *Porphyromonas gingivalis*, principal contribuinte no desenvolvimento da doença que em seu estado grave apresenta uma alta taxa de mortalidade, e *Fusobacterium nucleatum* têm demonstrado um potencial de ação carcinogênico, cada uma com um conjunto de metabólitos produzidos e mecanismos distintos. Em conjunto, se o paciente vem a adquirir a periodontite, há uma “janela de oportunidade” para que outras doenças sistêmicas se instalem no corpo a partir de agentes da microbiota oral (Borgo *et al.*, 2014; Ladegaard Grønkjær *et al.*, 2018; Bell; Kasi, 2023; Oruba *et al.*, 2023; Govender; Ghai, 2024). A disbiose oral, associada a estas doenças bucais, com expansão de espécies patogênicas, pode trazer consequências locais e sistêmicas (Sulaiman *et al.*, 2024).

Tendo em vista o potencial apresentado pela microbiota no que tange ao monitoramento da saúde, poucos são os estudos que correlacionam a microbiota oral com desfechos clínicos de pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH, em especial aqueles que desenvolveram DECHa.

Por exemplo, um estudo recente analisou o microbioma salivar de 184 pacientes submetidos ao alo-TMO, tanto no período pré quanto pós-transplante, e demonstrou que a abundância relativa de *Kingella* e *Atopobium* antes do transplante

estava relacionada com a incidência de mucosite oral grave nos pacientes que foram tratados com metotrexato. Nesse mesmo estudo, também constatou-se que a abundância do gênero *Methylobacterium* aumentou nos pacientes transplantados com mucosite oral grave, o que sugere uma assinatura diretamente relacionada à mucosite oral (Shouval *et al.*, 2020). Outro estudo avaliando o condicionamento, aplasia e enxerto de 30 pacientes de alo-transplante mostrou que uma menor diversidade da mucosa oral nesses indivíduos no pré-condicionamento está associada a maior risco de recidivas em até 3 anos pós-transplante (De Molla *et al.*, 2021). Além disso, um trabalho avaliando a microbiota da mucosa oral de 29 pacientes pediátricos submetidos ao alo-TCTH observou que no período entre o transplante até 30 dias pós-transplante, a composição oral dos principais gêneros bacterianos variou bastante, especialmente de *Prevotella* spp. e *Actinomyces* spp., que em alta prevalência apresentaram fortes associações com desenvolvimento de DECHa (Ingham *et al.*, 2021).

Levando em consideração que a microbiota oral possa, de alguma forma, influenciar nos desfechos do alo-TMO/TCTH, nossa hipótese foi: Pacientes com DECHa apresentam disbiose oral e baixa diversidade do bacterioma. Nossos objetivos, portanto, foram caracterizar o bacterioma oral e identificar possíveis biomarcadores de resposta clínica no alo-TMO/TCTH e na DECHa.

2. JUSTIFICATIVA

O Brasil é o país com o maior número absoluto de transplantes de medula óssea na América Latina. Nos últimos cinco anos, foram realizados 8.416 transplantes, dentre eles, 4.237 alogênicos. Entre 2019 e 2023, a principal causa de morte em adultos submetidos ao alo-transplante foi infecção bacteriana, acometendo 54% dos pacientes nos 100 primeiros dias pós-transplante e 36% a partir de 100 dias pós-transplante. A DECH segue sendo uma das principais causas de morte relacionada ao alo-transplante (Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, 2025; Simione *et al.*, 2025), cuja incidência cumulativa é de aproximadamente 34,3% tanto para a forma aguda quanto crônica da doença (Medeiros, 2024). Dada a alta taxa de mortalidade de pacientes transplantados que desenvolvem a DECHa, estudos

abordando diferentes métodos prognósticos para essa complicação são de extrema relevância.

Partindo da premissa de que a microbiota oral está associada à regulação de respostas imunológicas do hospedeiro e pode apresentar perfis microbianos associados ao risco e ao desenvolvimento da DECH (Ingham *et al.*, 2021; Baker *et al.*, 2024), sua caracterização pode contribuir com a identificação de alterações na composição do bacterioma associado à ocorrência e progressão da doença, bem como de assinaturas microbianas com potencial prognóstico. Com isso, pode tornar-se uma ferramenta profilática para aplicações clínicas futuras com foco no desenvolvimento de estratégias de tratamento médico personalizado visando o aumento nas chances de sobrevida dos transplantados (Badia *et al.*, 2020; Heidrich *et al.*, 2023).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o bacterioma oral de pacientes submetidos ao transplante alogênico de medula óssea e correlacionar com dados clínicos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Recrutar pacientes submetidos ao alo-transplante e acompanhar os seguimentos pós-transplante;
2. Registrar dados sociodemográficos e clínicos de pacientes submetidos ao alo-transplante ao longo do tratamento;
3. Recrutar e registrar dados sociodemográficos de indivíduos controles;
4. Selecionar pacientes com maior número de amostras pós-transplante e foco no desenvolvimento da DECHa;
5. Avaliar a composição, diversidade, abundância relativa e diferencial de pacientes submetidos ao alo-transplante e de indivíduos controles;
6. Correlacionar os resultados do bacterioma oral com complicações e desfechos clínicos pós-transplante;
7. Identificar potenciais biomarcadores de resposta clínica pós-transplante e desenvolvimento de DECHa;

8. Comparar diferentes bases de dados de classificação filogenética de microrganismos

4. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO, ASPECTOS ÉTICOS E INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Este estudo multicêntrico de coorte foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista (Processo nº 5.138.190/2021) (Anexo 1). Todos os participantes incluídos no trabalho assinaram o termo de assentimento ou consentimento livre e esclarecido. Os responsáveis pelos menores de 18 anos também assinaram termo específico para representantes legais.

As instituições colaboradoras no recrutamento de pacientes incluem a Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto (FUNFARME), Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos (HCB), Fundação Doutor Amaral Carvalho de Jaú (FACJ) e Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP). O projeto foi aprovado nos comitês de ética locais de cada uma das instituições incluídas como coparticipantes na Plataforma Brasil.

4.2 RECRUTAMENTO E SELEÇÃO DOS PACIENTES

Os critérios de inclusão para o recrutamento dos pacientes foram pacientes submetidos ao transplante alogênico de medula óssea e/ou células-tronco hematopoéticas com idade igual ou maior que 12 anos; pacientes com pelo menos 50% de compatibilidade com o doador; e pacientes com acompanhamento médico regular com pelo menos uma visita de acompanhamento pós-transplante.

Os critérios de exclusão foram pacientes submetidos ao transplante alogênico de medula óssea e/ou células-tronco hematopoiéticas com idade inferior a 12 anos; pacientes submetidos ao transplante autólogo de medula óssea; e pacientes de transplante de células-tronco provenientes de cordão umbilical.

Após o recrutamento geral dos participantes, realizou-se a seleção de uma parcela dos pacientes e suas respectivas amostras para processamento, extração/sequenciamento de DNA e análises estatísticas. Os pacientes escolhidos atendiam aos seguintes critérios: apresentar o maior número de amostras ao longo do

transplante incluindo amostra DECH; ter pelo menos 3 amostras (D-7, D0 e D+30) incluindo amostra DECH; e ter maior número de amostras ao longo do transplante independentemente do desenvolvimento da DECHa.

Os números de pacientes recrutados, coleta de amostras totais e amostras selecionadas para extração e sequenciamento estão organizadas na Figura 1 abaixo.

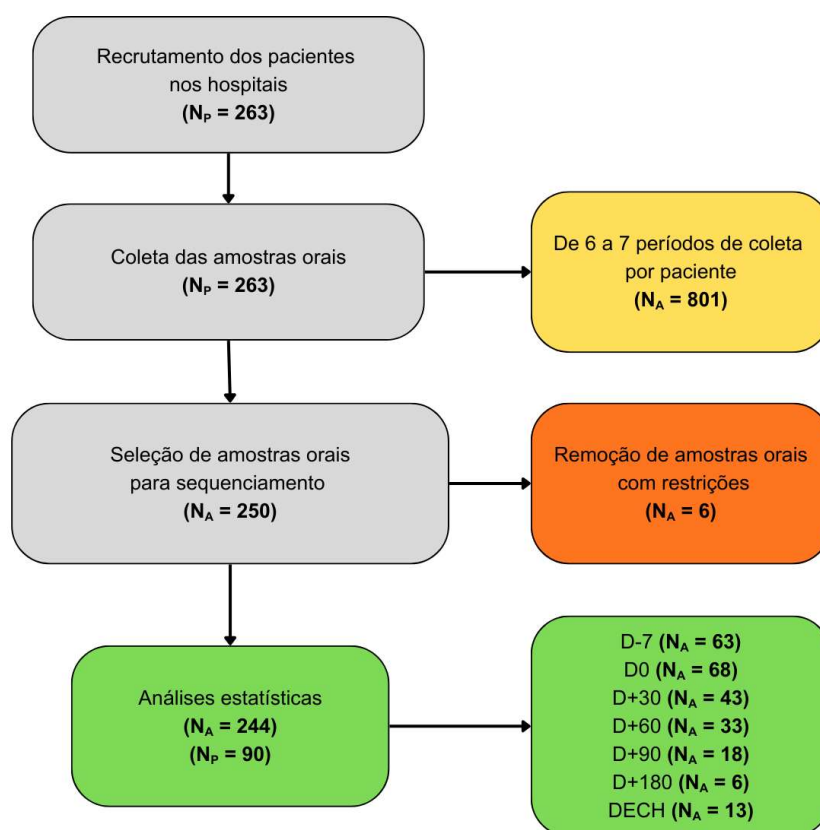


Figura 1: Fluxograma do recrutamento de pacientes, da coleta de amostras orais e seleção para sequenciamento. N_p = número de pacientes; N_A = número de amostras.

Também foram recrutados indivíduos saudáveis para compor o grupo controle deste projeto. Os critérios de inclusão foram ausência de comorbidades; não fazer uso de nenhuma medicação de uso contínuo, anti-inflamatórios ou antibióticos; e não apresentar índice de massa corporal (IMC) maior do que 29,9 (classificação de obesidade).

4.3 DADOS CLÍNICOS E COLETA DA MUCOSA ORAL

As informações relacionadas à doença de base dos pacientes, pré e pós-transplante foram registradas em um *software* de gerenciamento de dados (REDCap). A partir de diversos formulários utilizados pelos hospitais, foram coletadas informações sociodemográficas, sobre as características da doença de base e do transplante, complicações do transplante, desenvolvimento da doença do enxerto contra o hospedeiro aguda (DECHa) e acompanhamento e avaliação da progressão da doença e/ou transplante (Anexo 2). Pacientes diagnosticados com DECHa foram classificados quanto à gravidade da doença segundo critérios MAGIC (HARRIS *et al.*, 2016), os quais avaliam os órgãos afetados, o grau de comprometimento desses órgãos e o impacto clínico geral dos sintomas, especialmente em relação à necessidade de intervenções terapêuticas.

Antes do transplante, todos os pacientes recrutados foram submetidos a uma avaliação odontológica com realização de procedimentos para tratamento de complicações orais existentes e/ou profilaxia bucal.

Foram estabelecidos 7 períodos de coleta das amostras: Pré-condicionamento (D-7), dia da infusão de células (D0), 30 dias pós-alo-transplante (D+30), 60 dias pós-alo-transplante (D+60), 90 dias pós-alo-transplante (D+90), 180 dias pós-alo-transplante (D+180) e no início dos sintomas de desenvolvimento da DECH aguda (DECH) nos casos onde os pacientes desenvolvem a doença.

A coleta da mucosa oral foi padronizada por meio da realização de esfregaço com swab na região da mucosa jugal e superfície da língua, com duração de 10 segundos para cada região, seguido do armazenamento do swab em tubo cônico de 15 mL e congelamento a -80°C.

4.4 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração de DNA foi realizada por meio do kit comercial Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), de acordo com o protocolo do fabricante, com adaptações para a padronização das amostras, conforme descrito abaixo.

As amostras foram retiradas do biofreezer (-80°C) para descongelamento. Para a etapa de suspensão, foram acrescentados 2 mL de InhibitEX Buffer no tubo

cônico contendo as amostras, seguido de 5 minutos de incubação em temperatura ambiente de 25°C. Após esse tempo, a amostra foi homogeneizada continuamente por 1 minuto no vórtex. Os tubos foram submetidos a banho-maria por 5 minutos a 95°C para lise das bactérias Gram-positivas, e após esse período, a amostra foi homogeneizada novamente em vórtex por 15 segundos. Os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 25°C e velocidade máxima para promover a formação de pellet.

Na etapa de digestão, após a centrifugação, foram pipetados 600 µL de sobrenadante da amostra em um novo tubo de microcentrifuga de 2 mL. Foram adicionados e homogeneizados 25 µL de Proteinase K. Em seguida, foram adicionados 600 µL de Buffer AL, com homogeneização contínua em vórtex por 15 segundos. Os tubos de microcentrifuga foram submetidos a banho-maria por 10 minutos a 70°C, e após esse período, foram acrescentados 600 µL de álcool etílico absoluto (100%), seguido de homogeneização contínua em vórtex por 15 segundos. Na etapa de transferência, foram pipetados 500 µL da solução para a coluna de centrifugação. A coluna foi submetida à centrifugação por 1 minuto em velocidade máxima, e em seguida, houve a troca do tubo de coleta da coluna, descartando o tubo antigo com o líquido coletado. Essa etapa de transferência foi repetida aproximadamente 3x para que toda a solução contendo parte da amostra tenha sido utilizada.

Na etapa de lavagem, foram cuidadosamente acrescentados 500 µL de Buffer AW1, seguido de centrifugação por 1 minuto em velocidade máxima com posterior troca do tubo de coleta da coluna, descartando o tubo antigo com o líquido coletado. Foram acrescentados 500 µL de Buffer AW2, seguido de centrifugação por 3 minutos em velocidade máxima com posterior troca do tubo de coleta da coluna, descartando o tubo antigo com o líquido coletado. Em seguida, os tubos “vazios” foram submetidos à centrifugação por 3 minutos em velocidade máxima com posterior troca do tubo de coleta da coluna por um tubo de microcentrifuga de 2 mL novo, descartando o tubo coletor antigo.

Por fim, na etapa de eluição, foram acrescentados 50 µL de Buffer ATE na coluna, com sequente incubação de 1 minuto em temperatura ambiente de 25°C. Em seguida, as colunas foram centrifugadas por 1 minuto em velocidade máxima e, após esse período, descartadas (Qiagen, 2017).

4.5 CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS E SEQUENCIAMENTO 16S

Inicialmente, realizou-se a quantificação do DNA oral pelo equipamento Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA) para validação das amostras. Foram consideradas aptas para sequenciamento amostras cuja concentração de DNA fosse de no mínimo 1 ng/μL (Illumina, 2026). Em seguida, na etapa de amplificação, foram realizadas 2 PCRs (reação em cadeia da polimerase) para preparação das bibliotecas. Na primeira PCR, foi amplificada as regiões-alvo V3 e V4 do gene 16S RNAr (ácido ribonucleico ribossômico) seguindo as especificações da *2X Platinum SuperFi II PCR Master Mix* (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA). Para isso, utilizou-se o protocolo de 98°C por 30 segundos, seguidos de 30 ciclos de 98°C por 10 segundos, 55°C por 10 segundos e 72°C por 30 segundos. Foi realizada uma extensão final a 72°C por 5 minutos. Os primers utilizados para amplificação das regiões V3 e V4 do 16S RNAr já com os adaptadores Illumina foram: “341F” – TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG; e “805R” – GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC (Larin *et al.*, 2024). Na segunda PCR, foram inseridos *indexes* Illumina nos amplicons para multiplicação das amostras. A segunda PCR seguiu o mesmo protocolo da primeira reação, porém com 8 ciclos.

A construção das bibliotecas de DNA e o sequenciamento foram realizados em parceria com a empresa “BioSeq - Bioinformática e Genômica”.

4.6 PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O processamento das *reads* brutas do sequenciamento foi realizado utilizando o programa Trimmomatic v0.39 (Bolger; Lohse; Usadel, 2014). As configurações foram ajustadas para importação de dados tipo *pair-end*, remoção das 20 primeiras bases, remoção de *reads* com qualidade média inferior a Q30 (Phred Score, 1% de chance de erro) e comprimento mínimo de 100 pares de base.

O processo de *merge* foi aplicado utilizando o programa FLASH v1.2.11 (Magoč; Salzberg, 2011) com mínimo de bases sobrepostas igual a 50. Os dados processados foram importados pelo programa QIIME 2 v2024.2.0 (Bolyen, 2019). Foi aplicado o procedimento DADA2 para a etapa de *denoise-single*.

A classificação taxonômica dos dados foi realizada utilizando a base de dados HOMD para 16S V3-V4 (classifier_HOMD-16.01_V3-V4), aplicando o procedimento *classify-sklearn*. A árvore filogenética foi construída com o método *align-to-tree-mafft-fasttree*. A diversidade alfa foi avaliada utilizando estimativas dos índices: Chao1 (estimativa da riqueza de táxons a partir da abundância das espécies raras observadas), Simpson (probabilidade de duas amostras serem de táxons diferentes), Faith's PD (diversidade filogenética entre táxons), Evenness (uniformidade na distribuição dos táxons) e Shannon (diversidade com base na abundância e número de táxons). Representações gráficas com letras únicas distintas "a", "b" e "c" apresentam grupos com diferenças estatísticas significativas (P -valor Bonferroni $< 0,05$); representações com letras combinadas "ab", "bc" e "abc" apresentam grupos com valores semelhantes e portanto sem diferenças estatísticas significativas.

Para a diversidade beta, foram utilizadas as métricas: Bray-Curtis, Jaccard e as distâncias ponderadas e não ponderadas do Unifrac.

As análises de rarefação e estimativas de parâmetros alfa foram realizadas com profundidade máxima de 100.000. Os resultados foram processados utilizando a IDE Rstudio versão Ocean Storm para linguagem R v4.4.1 (Team, 2013; Team *et al.*, 2015) utilizando o metapacote *tidyverse* (Wickham *et al.*, 2019).

Análise de abundância diferencial do microbioma foi realizada utilizando o pacote Maaslin3 (Nickols *et al.*, 2024) para R. Figuras e gráficos foram gerados utilizando o pacote ggplot2 para R. Símbolos "+" e "-" representam táxons significativamente abundantes e significativamente escassos, respectivamente.

Análises de microbioma núcleo (*core microbiome*) compartilhado e único foram realizadas a partir do conjunto de táxons bacterianos que apresentaram abundância relativa mínima de 0,1% e prevalência de pelo menos 50% dentro de cada grupo.

Os dados clínicos coletados em fichas previamente definidas e padronizadas foram registrados na plataforma REDCap 12.0.27. As amostras foram caracterizadas por meio de tabelas de frequências para as variáveis categóricas, e medidas de tendência central (média, mediana) e de dispersão (desvio padrão, mínimo e máximo) para as variáveis quantitativas.

A prevalência de eventos de dominância oral, definida como um único gênero com frequência relativa $\geq 30\%$ (Taur *et al.*, 2012; De Molla *et al.*, 2021; Messina *et*

al., 2021), foi calculada em nível de paciente (considerando a ocorrência de pelo menos um evento de dominância ao longo do acompanhamento) e em nível de amostra. Modelos de preditores demográficos e clínicos (incluindo idade, IMC, sexo, tabagismo, regime de condicionamento, fonte de células e doença de base) foram utilizados em análises de regressão logística univariada e multivariada para avaliar a ocorrência de dominância oral.

Com base em estudos de microbiota intestinal e oral no contexto do transplante alogênico, os desfechos clínicos de interesse avaliados foram sobrevida global; recidiva da doença de base; incidência cumulativa de DECHa e incidência cumulativa de DECH grave, classificada de acordo com critérios MAGIC (HARRIS *et al.*, 2016).

Para as associações, utilizaram-se os três principais gêneros dominantes (*Streptococcus*, *Veillonella* e *Rothia*) e parâmetros de diversidade (índices de Shannon e Simpson, considerando amostras como “alta” diversidade quando valores foram $\geq$ mediana e “baixa” diversidade quando valores foram $<$ mediana desses índices). Para isso, utilizou-se a metodologia de Kaplan-Meier para sobrevida global (com curvas comparadas por teste log-rank, cujo tempo até o evento foi calculado de D0 até o óbito ou até o último registro de acompanhamento), e curvas de incidência cumulativa para recidiva e DECHa.

As análises de associação foram feitas por regressão de Cox univariada para estimar a razão de risco e intervalos de confiança de 95%.

Todos os testes foram realizados no software RStudio. Valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

As análises de bioinformática foram realizadas em colaboração com o bioinformata independente Dr. Marcus Vinicius Niz Alvarez e com o estatístico Welinton Yoshio Hirai do Núcleo de Epidemiologia e Estatística do Hospital de Amor de Barretos (SP).

4.7 COMPARAÇÃO DE BASES DE DADOS

Realizou-se uma comparação entre as estimativas de parâmetros de alfa diversidade e abundância relativa para as bases SILVA (v138, 341F-805R) e HOMD (classifier_HOMD-16.01_V3-V4). Foram utilizadas 144 amostras previamente

sequeenciadas e classificadas com SILVA que foram submetidas à reclassificação utilizando HOMD. As comparações entre bases foram realizadas utilizando o teste de correlação de Spearman, testando a correlação de cada índice para alfa diversidade (índices de Faith, Chao1, Evenness, Shannon e Simpson) e cada nível taxonômico (reino, filo, classe, ordem, família, gênero e espécie) para abundância relativa.

5. RESULTADOS

Foram recrutados 263 pacientes e coletadas 801 amostras orais, sendo 100 pacientes (38%) provenientes do Hospital da Beneficência Portuguesa de São Paulo (SP), 84 (31,9%) da FUNFARME de São José do Rio Preto (SP), 64 (24,4%) da Fundação Amaral Carvalho de Jaú (SP) e 15 (5,7%) do Hospital de Câncer de Barretos (SP).

Classificadas por período de coleta, 200 amostras (25%) pertencem ao D-7, 216 (27%) pertencem ao D0, 137 (17,1%) pertencem ao D+30, 98 (12,2%) pertencem ao D+60, 71 (8,9%) pertencem ao D+90, 28 (3,5%) pertencem ao D+180 e 51 (6,3%) pertencem ao grupo que desenvolveu DECH.

5.1 DESCRIÇÃO DOS DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS

As tabelas apresentadas abaixo foram construídas baseadas na análise descritiva dos dados do REDCap, e por se tratar de um acompanhamento ainda em andamento, algumas informações podem ser desconhecidas.

As informações demográficas foram organizadas na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Dados demográficos dos pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH.

Características	N (%)
Sexo	
Masculino	151 (57,4%)
Feminino	112 (42,6%)
Idade (anos)	
Média (DP)	42 (16)
Mediana (intervalo)	41 (12-73)
Desconhecido	41

IMC	
Média (DP)	26,7 (5)
Mediana (intervalo)	25,9 (15,0-48,3)
Etnia	
Caucasianos	162 (62,8%)
Afrodescendentes	93 (36%)
Asiáticos	3 (1,2%)
Desconhecido	5
Tabagismo	
Não tabagista	203 (82,5%)
Tabagista ativo	13 (5,3%)
Ex-tabagista	30 (12,2%)
Desconhecido	17

N = número de pacientes; DP = desvio padrão; TMO: Transplante de Medula Óssea; TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas.

Os dados clínicos coletados abrangem informações importantes como tipo de doença de base que motivou a necessidade do transplante, tipo de regime de condicionamento ao qual o paciente foi submetido e tipo de compatibilidade entre doador-receptor.

Em nossa coorte, as principais indicações para o transplante foram 93 pacientes com Leucemia Mieloide Aguda - LMA (40,1%) e 54 pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda - LLA (23,3%). Os principais regimes de condicionamento foram tratamento de intensidade reduzida, realizado em 99 (44%) pacientes, e mieloablativo em 75 pacientes (33,3%). Por fim, quanto ao tipo de compatibilidade entre doador e receptor, 111 pacientes (48,9%) receberam transplante de doadores haploidênticos, destacando-se quando comparado às demais compatibilidades. As demais informações encontram-se descritas na Tabela 2.

Tabela 2: Dados clínicos dos pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Características	N (%)
Indicação de alo-TMO/TCTH	
LMA	93 (40,1%)

Tabela 2: Dados clínicos dos pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Características	N (%)
LLA	54 (23,3%)
Anemia Aplástica	13 (5,6%)
LMC	11 (4,7%)
Linfoma de Hodgkin	10 (4,3%)
Anemia Falciforme	5 (2,2%)
Linfoma Não Hodgkin	5 (2,2%)
LLC	2 (0,8%)
Outros*	39 (16,8%)
Desconhecido	31
Regime de condicionamento	
Intensidade Reduzida	99 (44%)
Mieloablativo	75 (33,3%)
Não Mieloablativo	51 (22,7%)
Desconhecido	38
Fonte das células	
Sangue periférico	208 (83,5%)
Medula óssea	41 (16,5%)
Desconhecido	14
Tipo de compatibilidade	
Haploidêmico	111 (48,9%)
MRD aparentado idêntico	71 (31,2%)
MUD não aparentado idêntico	27 (11,9%)
Aparentado com mismatch HLA entre 5 e 10	9 (4%)
MMUD	9 (4%)
Desconhecido	36

HLA: Antígeno Leucocitário Humano - LLA: Leucemia Linfoblástica Aguda; LLC: Leucemia Linfocítica Crônica; LMA: Leucemia Mieloide Aguda; MMUD: *Mismatch Unrelated Donor* ou não aparentado com *mismatch* 9/10; MRD: *Matched Related Donor* ou Aparentado *full match*; MUD: *Matched Unrelated Donor* ou não aparentado 10/10; N = número de pacientes; TMO: Transplante de Medula Óssea; TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas. *Outros: Doenças raras e/ou incidentes em um único paciente.

Outras informações relevantes como complicações do alo-transplante desenvolvidas pelos pacientes e desfechos clínicos mais importantes foram analisadas conforme mostra a Tabela 3.

Tabela 3: Complicações e desfechos clínicos dos pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Características	N (%)
Complicações durante o alo-TMO/TCTH	
DECH	78 (29,7%)
Neutropenia Febril	48 (18,2%)
Colite Neutropênica	11 (4,2%)
Falha de enxertia	11 (4,2%)
Doença Venó-Oclusiva Hepática	5 (1,9%)
Microangiopatia Trombótica	4 (1,5%)
Desfechos clínicos até D+180	
Óbito	51 (19,4%)
Recidiva da doença	15 (5,7%)

DECH: Doença do Enxerto contra o Hospedeiro; TMO: Transplante de Medula Óssea; TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas; N = número de pacientes.

Por fim, foram coletados dados clínicos referentes à incidência, acometimento em órgãos-alvo e manifestações da DECH, detalhando essa complicação.

Em nossa coorte, o principal órgão-alvo acometido foi a pele, incidente em 61 pacientes (23%). Tendo em vista que condições de pele são mais comuns, a principal manifestação verificada pelos médicos foi a "rash", afetando 57 pacientes (22%). Outras manifestações importantes também foram relatadas conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4: Incidência, acometimento e manifestações da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) em pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Características	N (%)
Diagnóstico de DECH	
Não	114 (43,3%)
Sim	78 (29,7%)
Desconhecido	71
Órgãos acometidos pela DECH	
Pele	61 (23%)

Tabela 4: Incidência, acometimento e manifestações da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) em pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH

Características	N (%)
TGI	32 (12%)
Fígado	11 (4,2%)
Manifestações	
<i>Rash</i>	57 (22%)
Náusea	21 (8%)
Diarreia	18 (6,8%)
Dor abdominal	10 (3,8%)
Icterícia	5 (1,9%)
Anorexia	4 (1,5%)
Febre	3 (1,1%)

DECH: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro; TGI: Trato gastrointestinal; N = número de pacientes; TMO: Transplante de Medula Óssea; TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas.

Com relação ao grupo controle, foram recrutados 16 indivíduos saudáveis que não apresentaram comorbidades e não faziam uso de antibióticos ou antiinflamatórios (Tabela 5).

Tabela 5: Dados demográficos dos indivíduos saudáveis

Características	N (%)
Sexo	
Masculino	8 (50%)
Feminino	8 (50%)
Idade (anos)	
Média (DP)	29 (8,71)
Mediana (intervalo)	26,5 (22-57)
IMC	
Média (DP)	23,75 (3,4)
Mediana (intervalo)	24,42 (18,46-28,4)
Etnia	
Caucasianos	14 (87,5%)

Tabela 5: Dados demográficos dos indivíduos saudáveis

Características	N (%)
Afrodescendentes	2 (12,5%)

N = número de indivíduos; DP = desvio padrão

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO BACTERIOMA ORAL

A partir de 244 amostras selecionadas correspondentes a 90 pacientes, observou-se que a riqueza taxonômica mensurada pelo índice de Ace diferiu entre amostras dos períodos D-7 (P -valor = 0,015) e D+30 (P -valor < 0,001), em relação aos controles, sendo o D+30 o período de menor contagem absoluta de unidades taxonômicas (ASVs). Ao comparar diferentes períodos de coleta, os índices de Chao1, Faith e Simpson apresentaram diferenças estatísticas (P -valores < 0,006) entre D-7, D+30 e controles, indicando diminuição na riqueza, diversidade filogenética e estrutura da comunidade bacteriana oral associada ao transplante. Em relação à uniformidade dos táxons observados, mensurada pelo índice de Evenness, observou-se redução na diversidade em D+30 em relação ao CTRL (P -valor = 0,01). Por fim, o índice de Shannon também apresentou reduções na diversidade entre as coletas D-7 (P -valor = 0,006), D0 (P -valor < 0,001) e D+30 (P -valor < 0,001) quando comparadas com o CTRL, conforme mostra a Figura 2 (A-F).

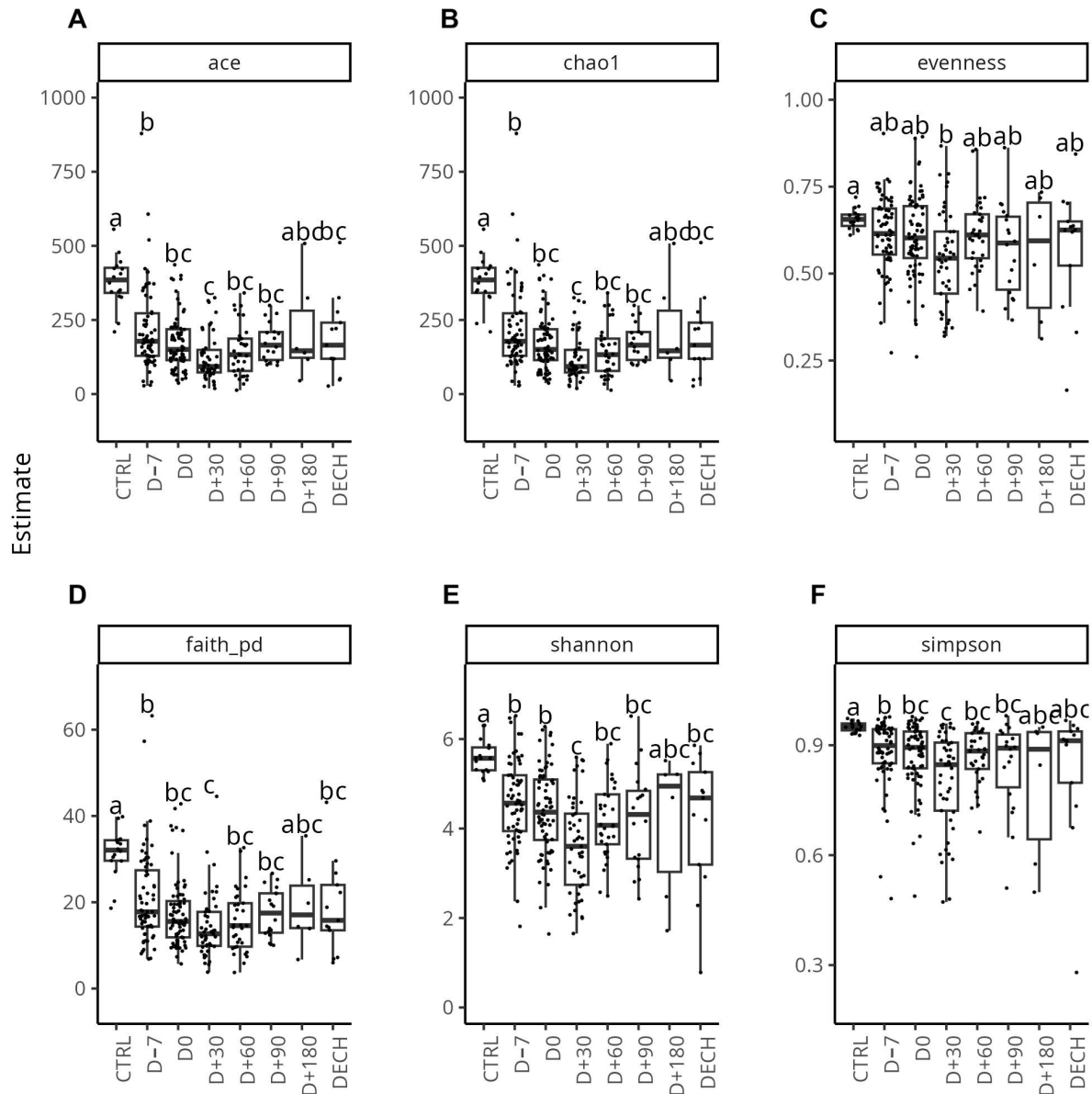


Figura 2: Índices de alfa-diversidade por período de coleta. (A) Índice de Ace; (B) Índice de Chao1; (C) Índice de Evenness; (D) Índice de Faith; (E) Índice de Shannon; (F) Índice de Simpson. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alotransplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Comparação feita por Kruskal Wallis com post-hoc de Dunn. Representações gráficas com letras únicas distintas “a”, “b” e “c” apresentam grupos com diferenças estatísticas significativas (P -valor Bonferroni $< 0,05$); representações com letras combinadas “ab”, “bc” e “abc” apresentam grupos com valores semelhantes sem diferenças estatísticas significativas.

Ao avaliar a diversidade da composição da comunidade bacteriana oral ao longo do tempo por meio de métricas UniFrac ponderada e não-ponderada, não foram observados agrupamentos distintos nos períodos de coleta dos pacientes transplantados, sugerindo ausência de variações estatisticamente significativas ao longo do tratamento. Em contraste, foram observadas diferenças estatísticas na

composição entre cada período de coleta de pacientes do transplante e grupo controle (P -valores = 0,036), indicando diferenças globais na composição das comunidades bacterianas após o transplante em comparação com indivíduos saudáveis, mesmo sem formação de agrupamentos visuais (Figura 3).

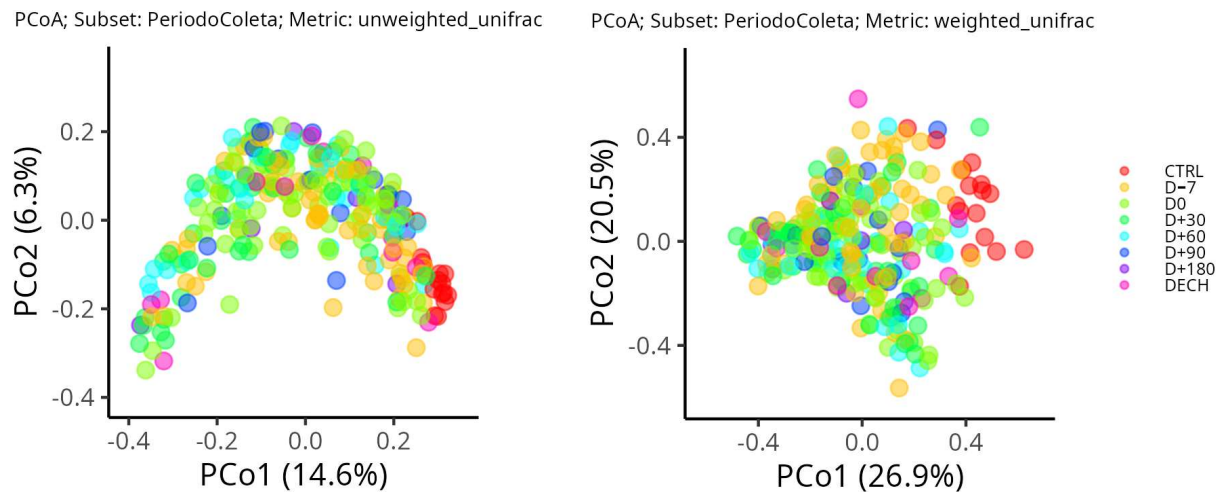


Figura 3: Diversidade beta por análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada em matrizes de distância UniFrac ponderada e não-ponderada. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-allo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Comparação feita por PERMANOVA.

Quanto à distribuição da abundância relativa de alguns dos principais filos bacterianos que compõem a microbiota oral dos nossos pacientes, podemos observar variações ao longo do tempo (Figura 4).

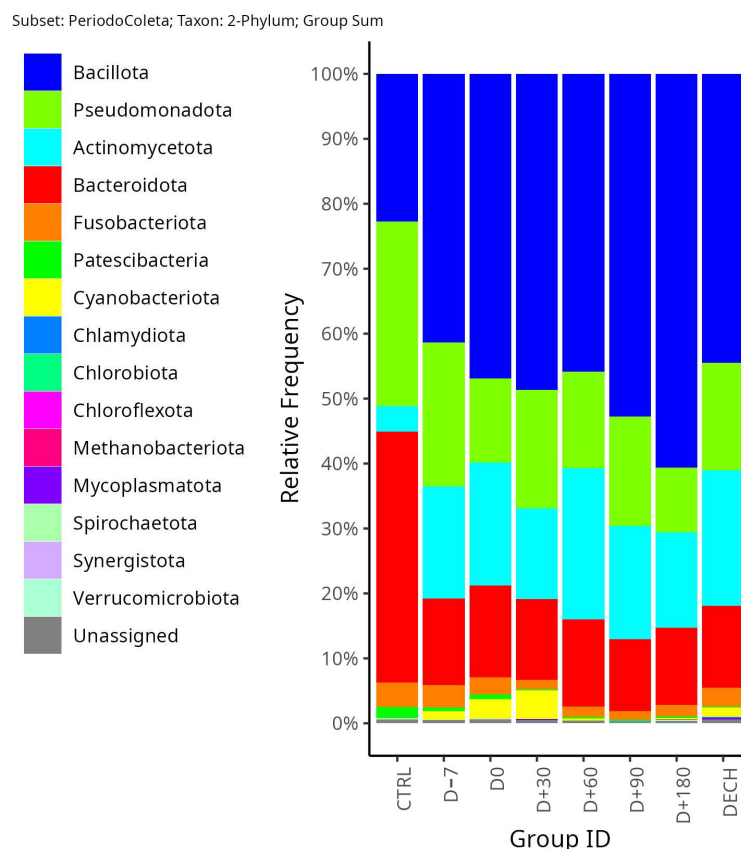


Figura 4: Abundância relativa dos principais filos bacterianos encontrados nos diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-allo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Nos diferentes períodos de coleta, houve a prevalência dos filos Bacillota, Pseudomonadota e Actinomycetota, cuja soma ultrapassa 50% da composição geral da microbiota oral dos pacientes transplantados. Nos períodos de D+90 e D+180 destacam-se a alta prevalência de Bacillota (52,8% e 60,6% respectivamente). Antes do alo-transplante no período D-7, observou-se que a prevalência de Bacillota era de 41,33%. Ao comparar esses valores com o grupo CTRL, cuja proporção de filos é distinta dos demais grupos, notamos que indivíduos saudáveis apresentam baixa abundância desse filo (22,7%).

Ao avaliar a abundância diferencial dos filos bacterianos (Figura 5), observou-se que Bacillota foi abundante em todos os períodos do transplante (P -valores $< 0,008$). De forma similar, Actinomycetota foi diferencialmente abundante nos períodos D-7, D0, D+60 e D+90 (P -valores $< 0,02$) em relação ao grupo controle. Juntos, esses achados validam o que foi observado pelas porcentagens de frequência relativa. Por

outro lado, os filos Spirochaetota, Patescibacteria e Synergistota foram diferencialmente escassos (P -valores $< 0,02$) em quase todos os períodos, exceto Spirochaetota em D+180 (P -valor = 0,16).

Top 50 features with significant associations ($-\log(qval)*\text{sign}(coeff)$)

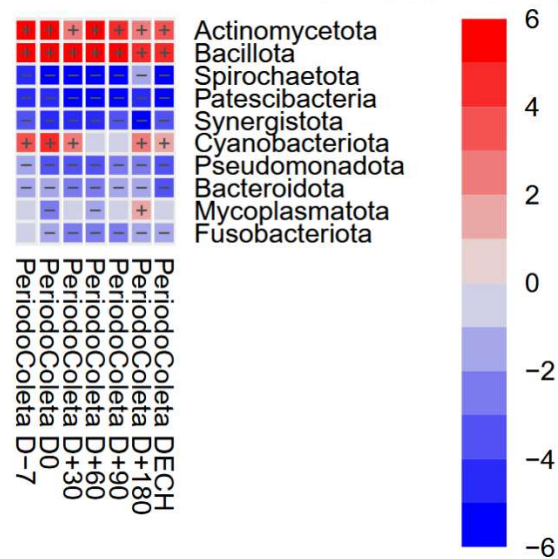


Figura 5: Abundância diferencial de filos bacterianos nos períodos D-7, D0, D+30, D+60, D+90, D+180 e DECH comparados com CTRL; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Ao avaliar a distribuição da abundância relativa das famílias bacterianas, foram identificadas 20 principais famílias nas amostras orais (Figura 6).

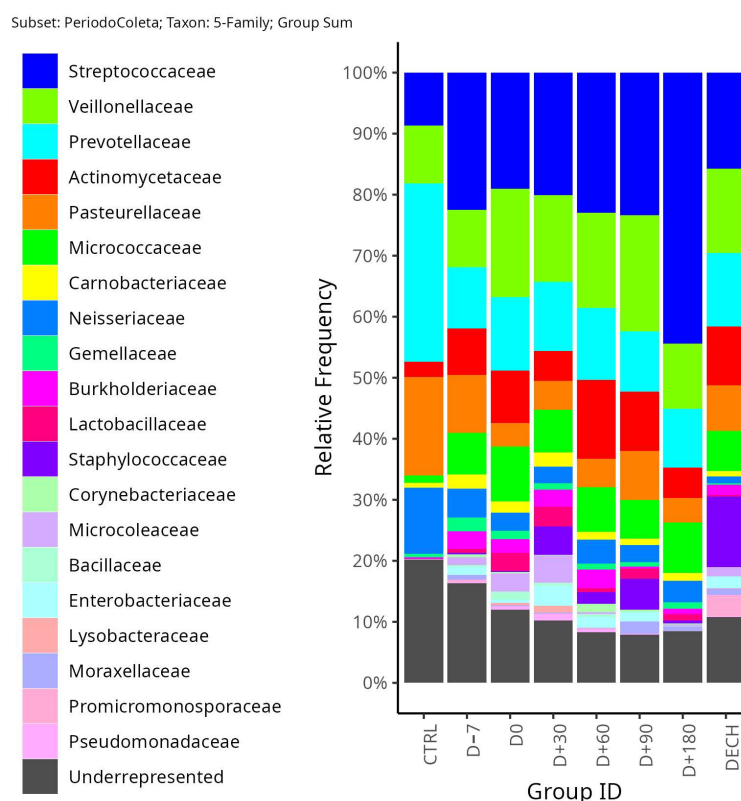


Figura 6: Abundância relativa das principais famílias bacterianas encontradas nos diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

No período D+180, observou-se que Streptococcaceae apresentou a maior abundância relativa (44,4%), seguida por Veillonellaceae (10,7%), Prevotellaceae (9,6%) e Actinomycetaceae (5%). Em conjunto, essas quatro famílias corresponderam a 69,7% da comunidade bacteriana observada nesse período.

Destaca-se que a abundância relativa de Streptococcaceae foi aproximadamente cinco vezes maior em D+180 quando comparada ao grupo CTRL (8,6%), bem como maior nos demais períodos de coleta dos pacientes transplantados em relação ao controle. Outra variação relevante ao longo do tempo foi observada na família Staphylococcaceae, cuja abundância relativa nos períodos D+30 (4,7%), D+90 (5,1%) e DECH (11,5%) contrasta fortemente com os valores encontrados nos controles (0,004%).

Analisou-se a abundância diferencial das famílias bacterianas conforme mostra a Figura 7. As famílias Absconditicoccaceae, Nanosynbacteraceae, Odoribacteraceae e Peptococcaceae apresentaram redução significativa na maioria

dos períodos do transplante (P -valores $< 0,001$). Por outro lado, famílias como Pseudomonadaceae, Micrococcaceae, Staphylococcaceae e Enterococcaceae mostraram aumento diferencial ao longo do transplante (P -valores variando entre 0,004 e 0,061), com destaque nas últimas duas famílias presentes na DECHa (P -valor = 0,006 e P -valor = 0,008, respectivamente).

Top 50 features with significant associations ($-\log(qval) \cdot \text{sign}(\text{coeff})$)

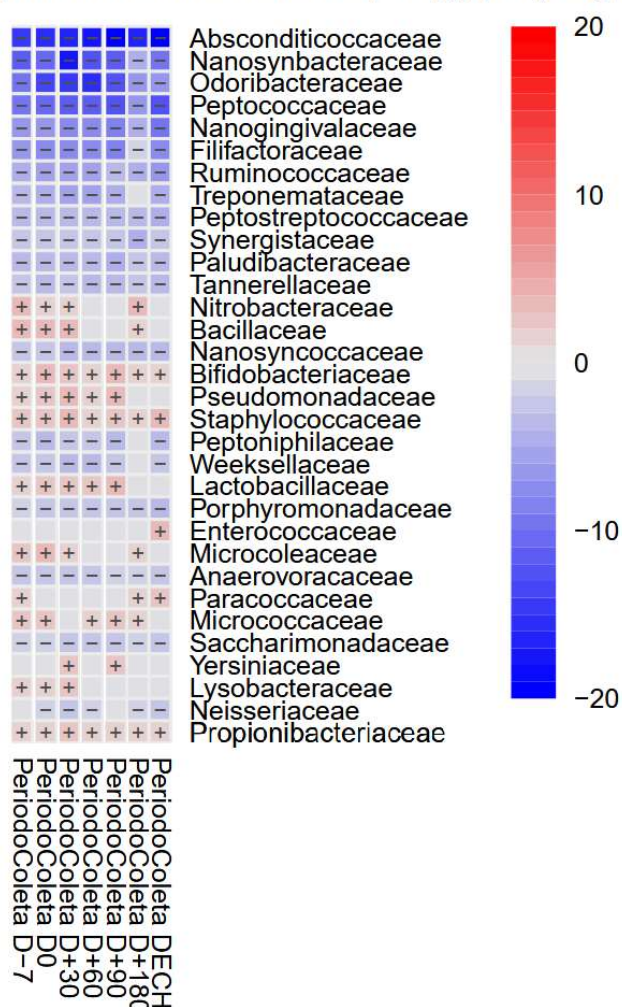


Figura 7: Abundância diferencial de famílias nos períodos D-7, D0, D+30, D+60, D+90, D+180 e DECH comparados com CTRL; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Ao avaliar a distribuição da abundância relativa dos gêneros bacterianos, foram identificados 20 principais gêneros nas amostras orais (Figura 8).

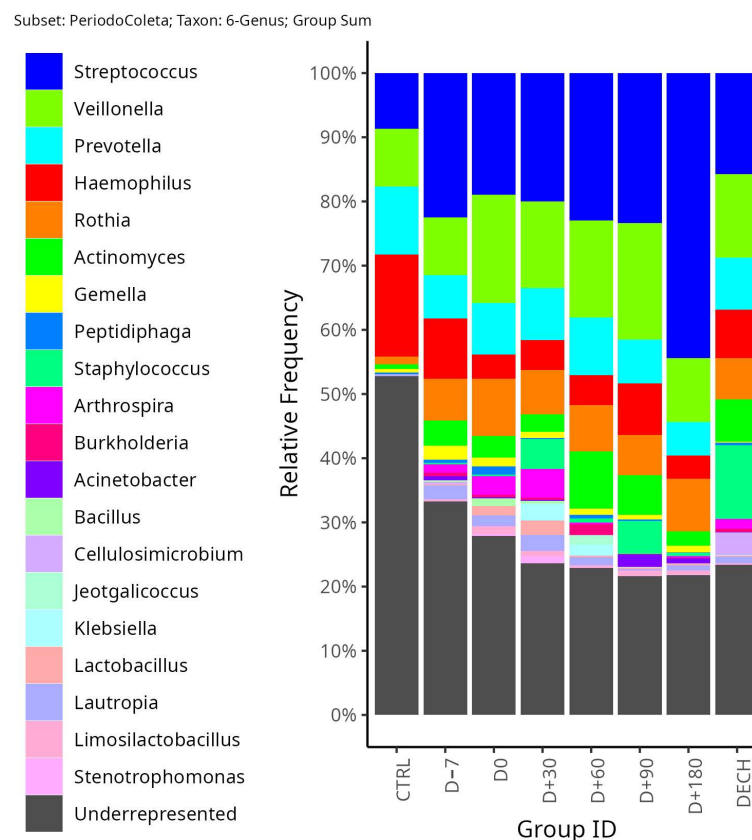


Figura 8: Abundância relativa dos principais gêneros bacterianos encontrados em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Dentre os diferentes gêneros bacterianos identificados, *Streptococcus* e *Staphylococcus* se destacam pela grande variação ao longo do tempo com valores idênticos aos da distribuição de famílias.

Para *Streptococcus*, observou-se a prevalência em D+180 (44,4%) quando comparado aos controles (8,6%). Da mesma forma para *Staphylococcus*, temos abundância relativa de 4,7% no D+30, 5% no D+90, 11,5% no grupo DECH e 0,004% nos controles.

Além disso, o gênero *Rothia* apresentou maior abundância nos períodos pós-transplante, variando de 6,3% a 8,9%, quando comparados aos controles (1,2%).

Para complementar a identificação de gêneros bacterianos nos diferentes períodos de coleta, avaliamos o microbioma núcleo (*core microbiome*) compartilhado entre grupos e táxons únicos encontrados, conforme mostram as Figuras 9 e 10.

Subset: PeríodoColeta Set: shared

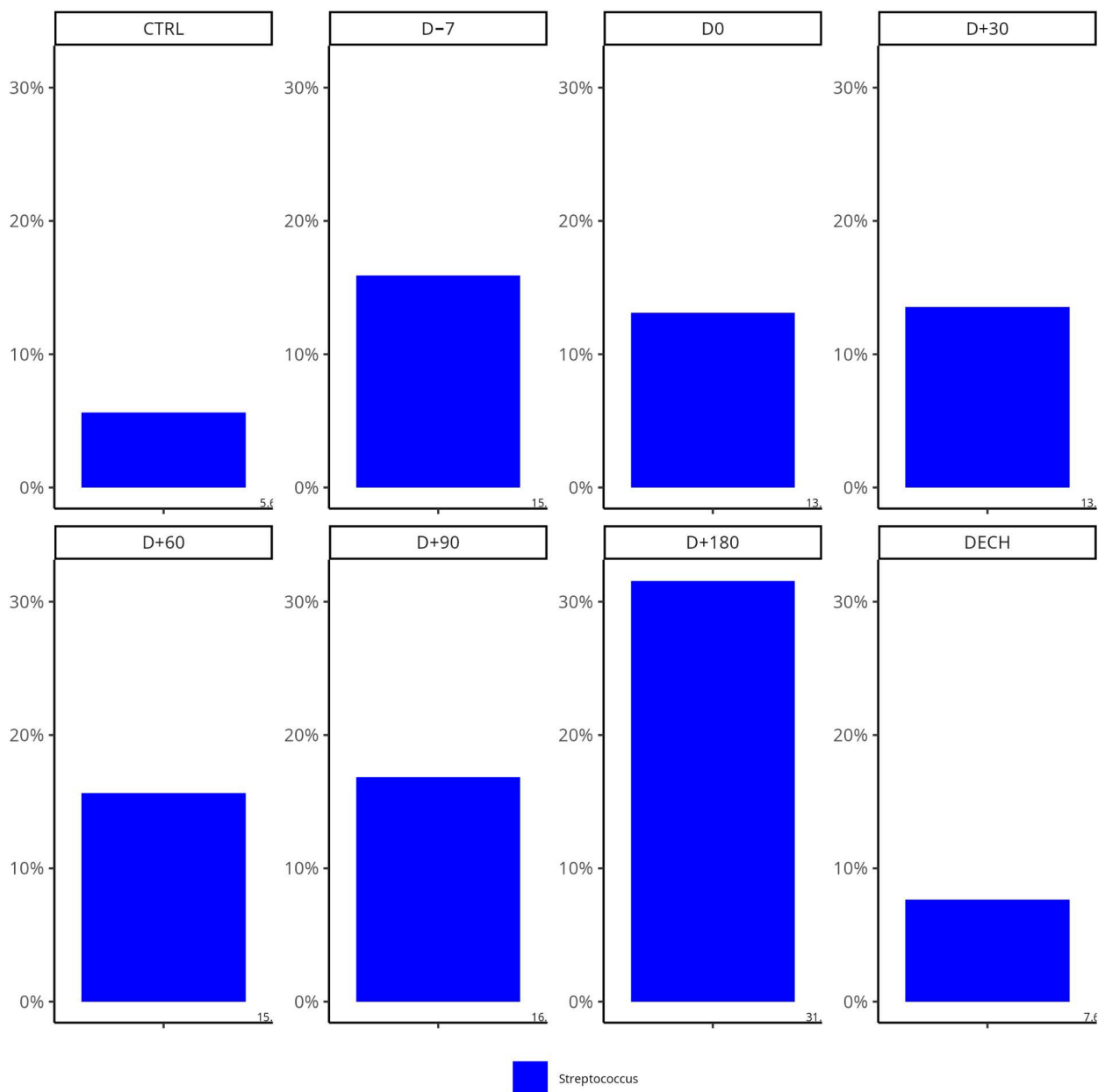


Figura 9: Microbioma núcleo compartilhado em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alotransplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Porcentagens representam a proporção do táxon do microbioma núcleo em relação ao microbioma total observado de cada grupo.

Em relação ao microbioma núcleo compartilhado, observou-se que *Streptococcus* foi o único gênero compartilhado entre todos os grupos, sendo o D+180 o período com maior prevalência.

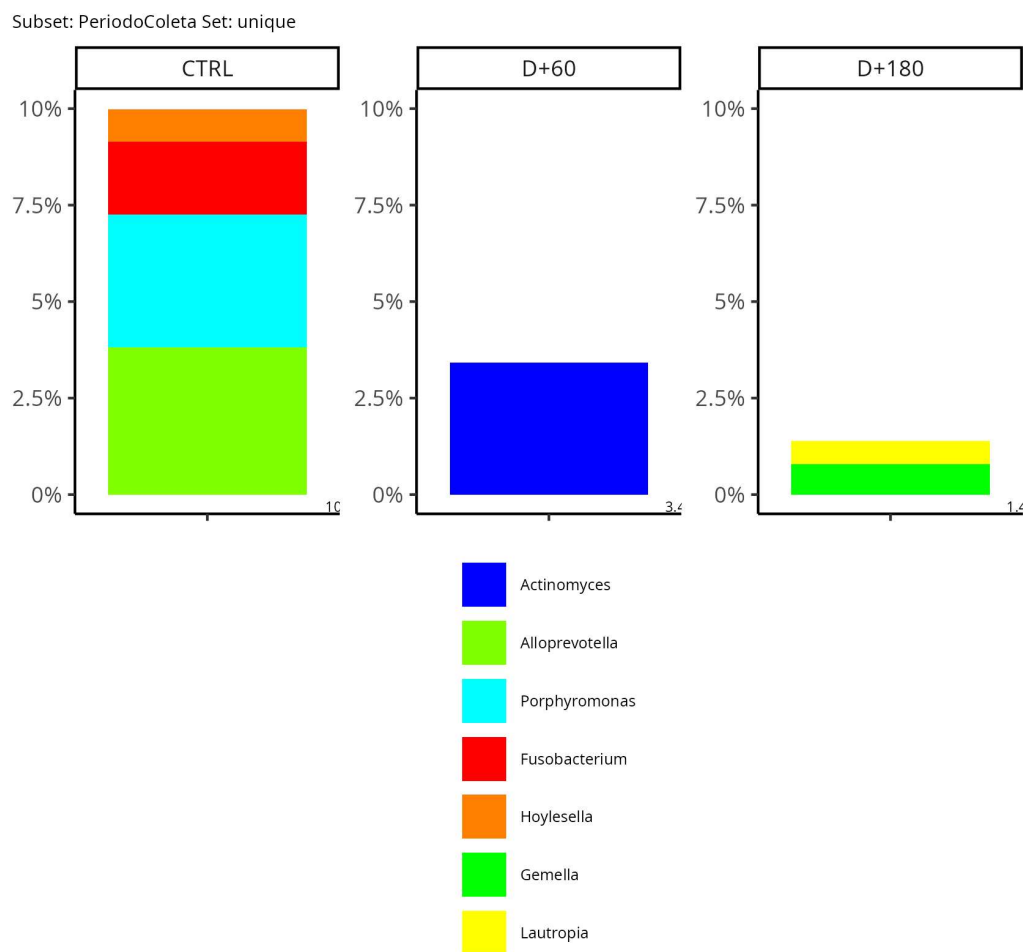


Figura 10: Microbioma núcleo único em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro. Porcentagens representam a proporção do táxon do microbioma núcleo em relação ao microbioma total observado de cada grupo.

Em relação ao microbioma núcleo único exclusivo de cada grupo, observou-se que o CTRL apresentou a maior diversidade, com quatro táxons únicos (*Hoylella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* e *Alloprevotella*), seguido de D+180 com dois táxons (*Lautropia* e *Gemella*) e D+60 com um táxon (*Actinomyces*).

Em seguida, avaliamos a abundância diferencial dos gêneros bacterianos (Figura 11).

Top 50 features with significant associations ($-\log(qval) \cdot \text{sign}(coeff)$)

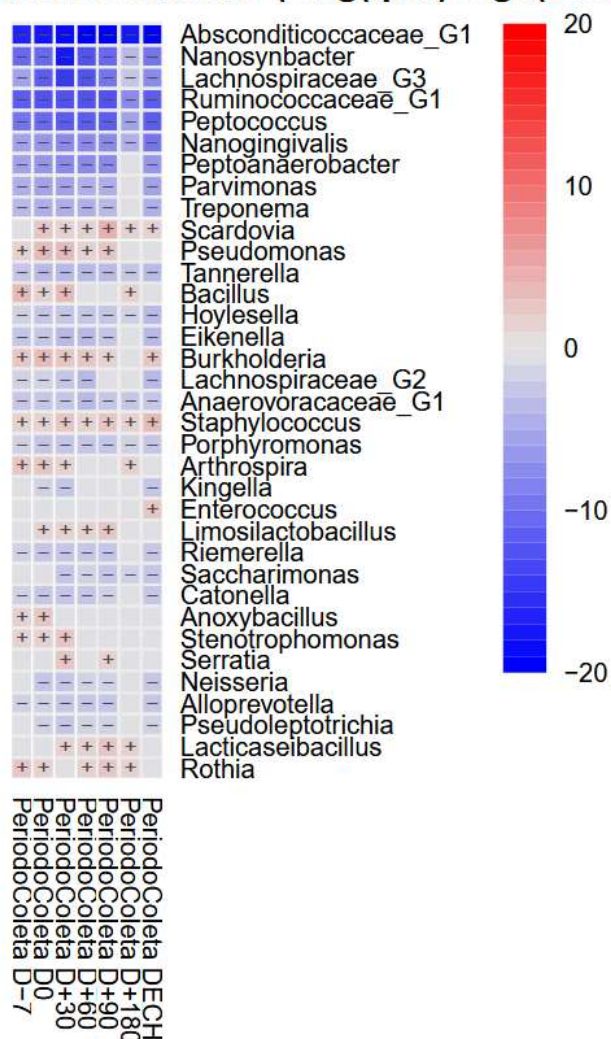


Figura 11: Abundância diferencial de gêneros nos períodos D-7, D0, D+30, D+60, D+90, D+180 e DECH comparados com CTRL; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

Observou-se que *Enterococcus* (P -valor = 0,008), *Staphylococcus* (D-7, D+30, D+90 e DECH; P -valores < 0,05), *Pseudomonas* (D0, D+30 e D+90; P -valores < 0,009) e *Rothia* (D-7 e D+90; P -valores < 0,04) foram diferencialmente abundantes ao longo do transplante. Além disso, foram observados gêneros normalmente associados a inflamação periodontal, como *Tannerella*, *Treponema* e *Porphyromonas*, diferencialmente escassos em todos os períodos avaliados (P -valores < 0,04), exceto *Porphyromonas* em D-7.

Além da abundância relativa e diferencial, analisou-se a dominância (frequência relativa $\geq 30\%$) de gêneros bacterianos em um ou mais períodos de coleta. Dentre os 27 gêneros dominantes identificados, destacamos os cinco principais com

maior número de amostras: *Streptococcus* (n = 68), *Veillonella* (n = 31), *Rothia* (n = 15), *Prevotella* (n = 11) e *Haemophilus* (n = 9).

Por fim, em relação ao último nível taxonômico, avaliamos a distribuição da abundância relativa de espécies bacterianas (Figura 12).

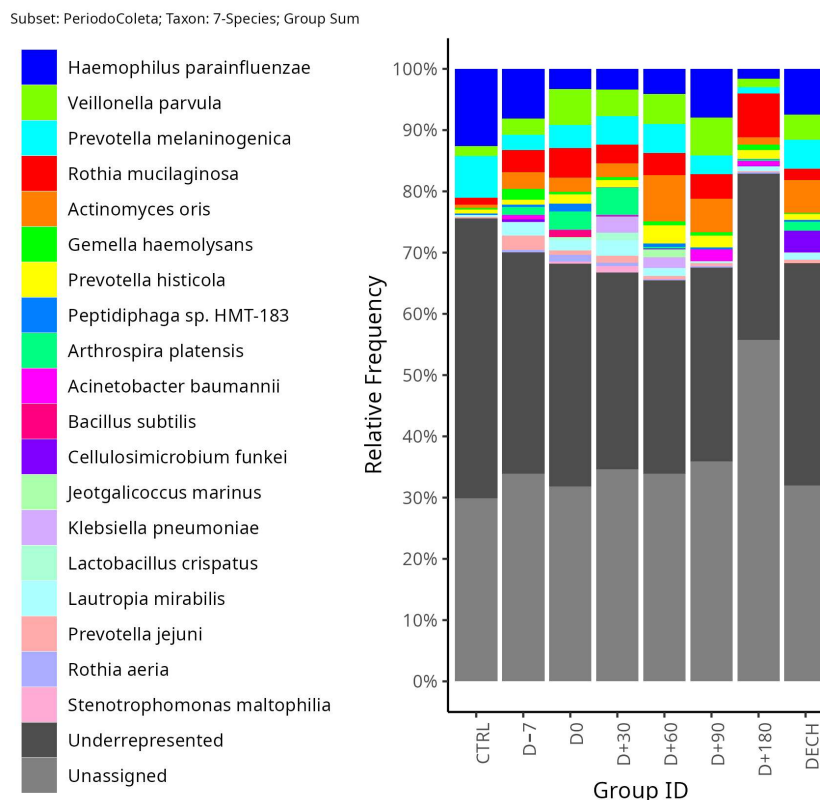


Figura 12: Abundância relativa de espécies bacterianas em diferentes períodos de coleta. CTRL - controle; D-7 - pré-condicionamento; D0 - dia do alo-transplante; D+30/D+60/D+90/D+180 - dias pós-alo-transplante; DECH - doença do enxerto contra o hospedeiro.

No período D+30, observou-se que as espécies *Arthrospira platensis* (4,5%) e *Klebsiella pneumoniae* (2,6%), ambas potencialmente patogênicas, estavam em maior frequência em relação aos demais períodos de coleta do transplante. Em DECH, destaca-se *Cellulosimicrobium funkei* (3,5%). Além disso, observou-se uma variação ao longo do tempo em *Rothia mucilaginosa*, oscilando frequências de 3% a 7,1% nos períodos do transplante, em comparação ao CTRL (1,1%).

5.3 CORRELAÇÃO DO BACTERIOMA ORAL COM DADOS CLÍNICOS

O próximo passo foi avaliar se eventos de dominância estão associados a dados demográficos e clínicos. Para isso, realizamos regressões univariadas e

multivariadas para verificar a existência de tais associações, conforme mostram as tabelas 6 e 7.

Tabela 6: Regressão univariada para associação entre ocorrência de eventos de dominância e dados demográficos e clínicos

Característica	N	RC	IC 95%	P-valor
Idade	89	0,97	0,93-1,02	0,22
IMC	90	0,94	0,84-1,05	0,26
Sexo				
Feminino	41	-	-	-
Masculino	49	0,65	0,16-2,32	0,52
Tabagismo				
Não tabagista	68	-	-	-
Tabagista	6	0,48	0,06-10,1	0,54
Ex-tabagista	10	0,15	0,03-0,69	0,013
Regime de condicionamento				
Mieloablativo	31	-	-	-
Intensidade reduzida	40	0,13	0,01-0,79	0,065
Não mieloablativo	19	0,28	0,01-3,17	0,32
Fonte de células				
Sangue periférico	67	-	-	-
Medula óssea	23	3,86	0,68-72,9	0,21
Doença de base				
Leucemia	62	-	-	-
Outras	28	0,76	0,21-3,14	0,69

N = número de pacientes; RC = razão de chance; IC = intervalo de confiança; IMC = índice de massa corporal.

Na regressão univariada, observou-se uma associação estatisticamente significativa entre menor chance de ocorrência de eventos de dominância em pacientes ex-tabagistas quando comparados com pacientes não tabagistas (RC = 0,15; IC 95%: 0,03-0,69; *P*-valor = 0,013).

Tabela 7: Regressão multivariada para associação entre ocorrência de eventos de dominância e dados demográficos e clínicos

Característica	N	RC	IC 95%	P-valor
Idade	83	1,00	0,99-1,00	0,7
IMC	83	0,99	0,98-1,01	0,4
Sexo				
Feminino	37	-	-	-
Masculino	46	0,98	0,86-1,13	0,8
Tabagismo				
Não tabagista	67	-	-	-
Tabagista	6	0,97	0,73-1,30	0,8
Ex-tabagista	10	0,71	0,58-0,88	0,003
Regime de condicionamento				
Mieloablativo	28	-	-	-
Intensidade reduzida	38	0,83	0,70-0,98	0,034
Não mieloablativo	17	0,97	0,77-1,22	0,8
Fonte de células				
Sangue periférico	63	-	-	-
Medula óssea	20	1,05	0,88-1,25	0,6
Doença de base				
Leucemia	57	-	-	-
Outras	26	0,87	0,74-1,04	0,13

N = número de pacientes; RC = razão de chance; IC = intervalo de confiança; IMC = índice de massa corporal.

Na regressão multivariada, semelhante ao que foi observado na regressão univariada, pacientes ex-tabagistas apresentaram menor chance de ocorrência de eventos de dominância quando comparados com pacientes não tabagistas (RC = 0,71; IC 95%: 0,58-0,88; *P*-valor = 0,003). Além disso, observou-se também uma associação entre menor chance de ocorrência de eventos de dominância em pacientes submetidos a regime de condicionamento de intensidade reduzida quando comparados com pacientes de regime mieloablativo (RC = 0,83; IC 95%: 0,70-0,98; *P*-valor = 0,034).

Em seguida, avaliamos possíveis associações entre eventos de dominância de três gêneros específicos (*Streptococcus*, *Veillonella* e *Rothia*) e desfechos clínicos de interesse (sobrevida global, DECHa, DECHa grave e recidiva).

Em relação aos pacientes com amostras dominantes por *Streptococcus*, não foram observadas diferenças estatísticas na probabilidade de sobrevivência quando comparada aos pacientes sem dominância por esse gênero (Razão de Risco = 1,43; IC 95% = 0,64-3,19; *P*-valor = 0,4; Figura 13).

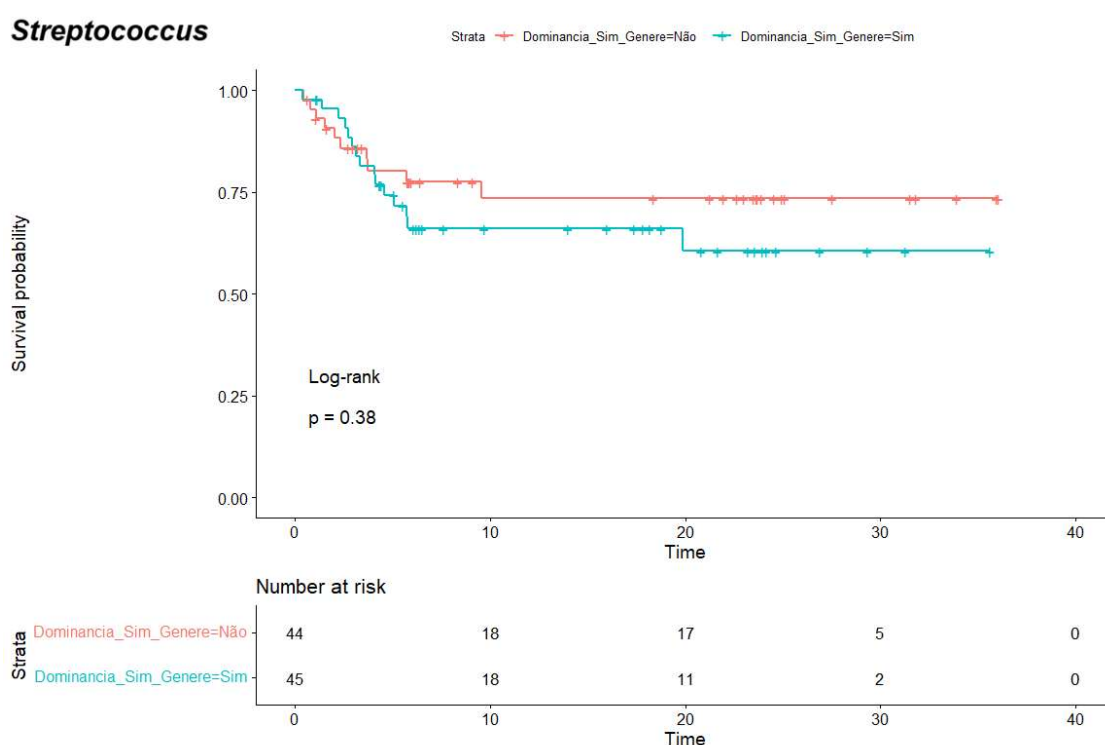


Figura 13: Curva de sobrevida global para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 45).

No caso do risco de desenvolvimento da DECH, observou-se incidência cumulativa ligeiramente maior de DECHa no grupo dominante, enquanto que para DECHa grave, a incidência cumulativa foi numericamente menor neste grupo. Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas no risco de desenvolver DECHa (Razão de Risco = 1,11; IC 95%: 0,60-2,07; *P*-valor = 0,7; Figura 14-A) ou de DECHa grave entre os grupos (Razão de Risco = 0,70; IC 95%: 0,30-1,59; *P*-valor = 0,4; Figura 14-B).

Streptococcus

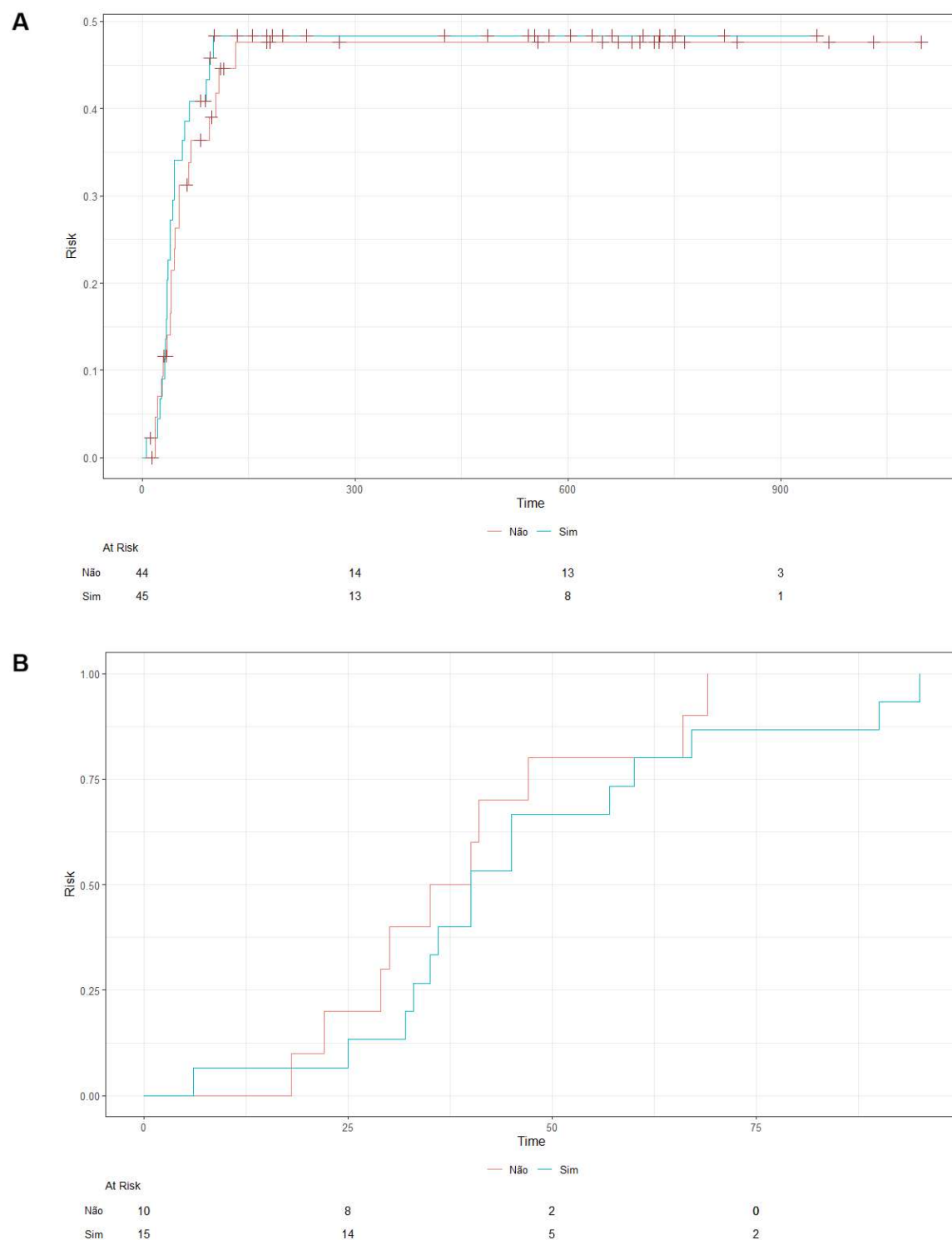


Figura 14: (A) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 45); (B) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa grave para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 15).

Ao analisarmos a dominância por *Streptococcus* e o risco da recidiva da doença de base, observou-se uma incidência cumulativa numericamente maior no grupo dominante em comparação ao não dominante. Entretanto não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos (Razão de Risco = 1,20; IC 95%: 0,32-4,47; *P*-valor = 0,8; Figura 15).

Streptococcus

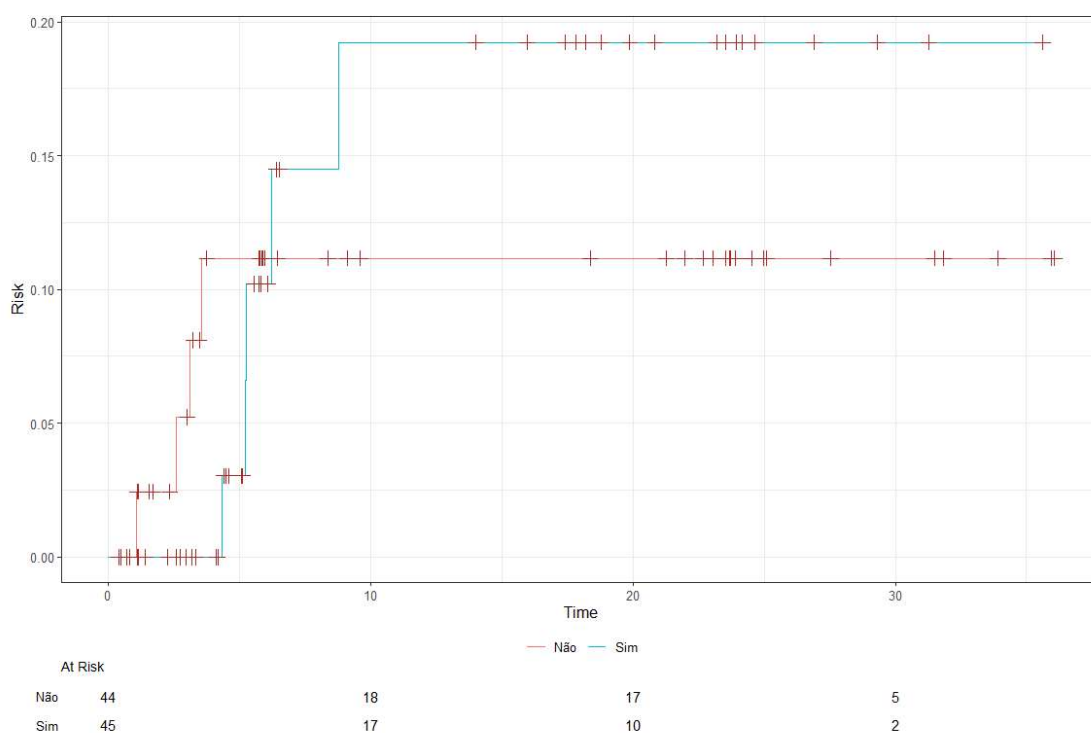


Figura 15: Curva de risco de recidiva da doença de base para eventos de dominância por *Streptococcus* (n = 45).

Em relação aos pacientes com amostras dominantes por *Veillonella*, não foram observadas diferenças estatísticas na probabilidade de sobrevivência quando comparada aos pacientes sem dominância (Razão de Risco = 0,81; IC 95%: 0,32-2,03; *P*-valor = 0,7; Figura 16).

Veillonella

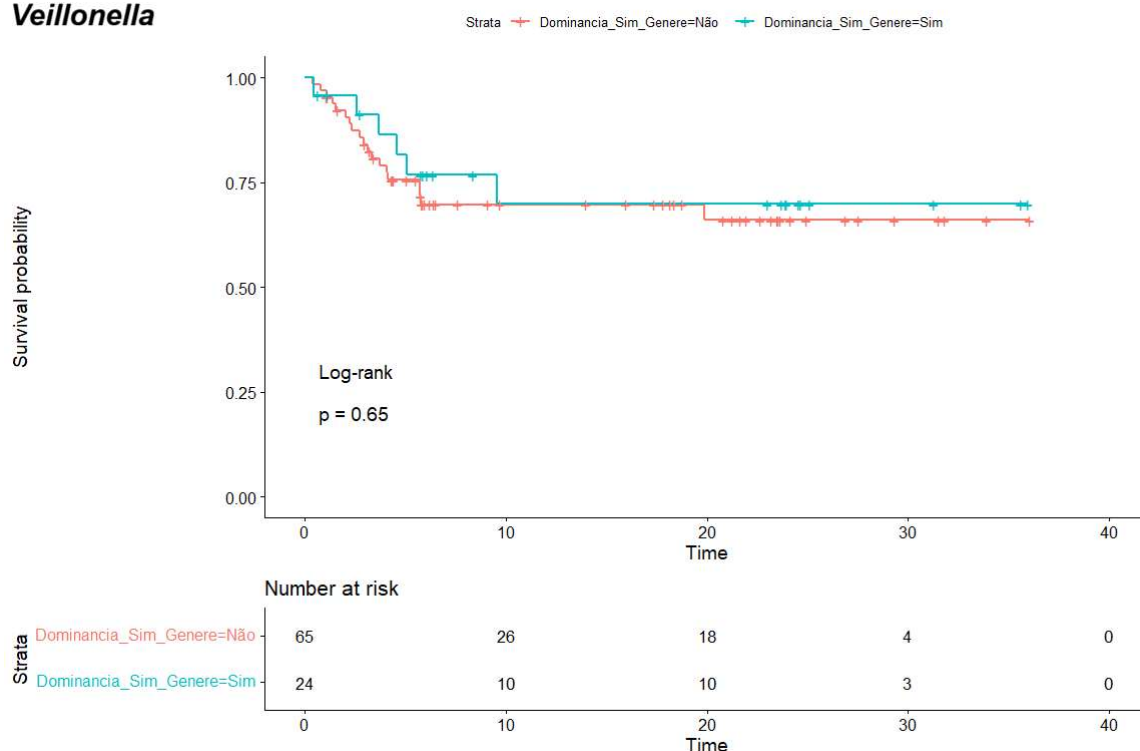


Figura 16: Curva de sobrevida global para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 24).

No caso de dominância por *Veillonella* e desenvolvimento de DECH, observou-se maior incidência cumulativa de DECHa no grupo não dominante, enquanto para DECHa grave, a incidência foi maior no grupo dominante. Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas no risco de DECHa (Razão de Risco = 0,95; IC 95%: 0,46-1,94; *P*-valor = 0,9; Figura 17-A) ou DECHa grave entre os grupos (Razão de Risco = 1,50; IC 95%: 0,55-4,13; *P*-valor = 0,4; Figura 17-B).

Veillonella

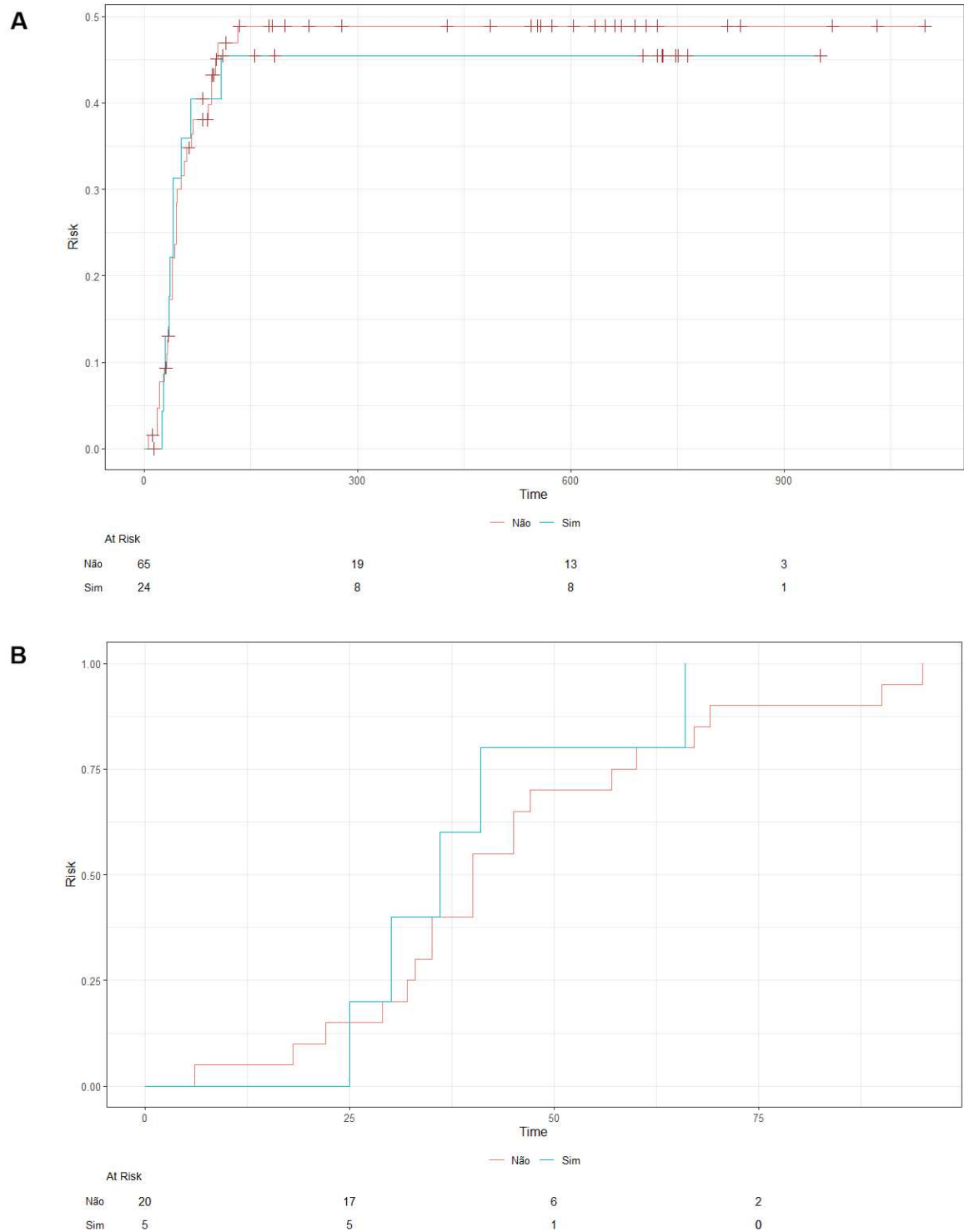


Figura 17: (A) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 24); (B) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa grave para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 5).

Ao analisarmos a dominância por *Veillonella* e o risco de recidiva da doença de base, não foram observadas diferenças na incidência cumulativa nem diferenças estatísticas entre os pacientes com amostras dominantes e pacientes sem amostras dominantes (Razão de Risco = 1,29; IC 95%: 0,32-5,18; *P*-valor = 0,7; Figura 18).

Veillonella

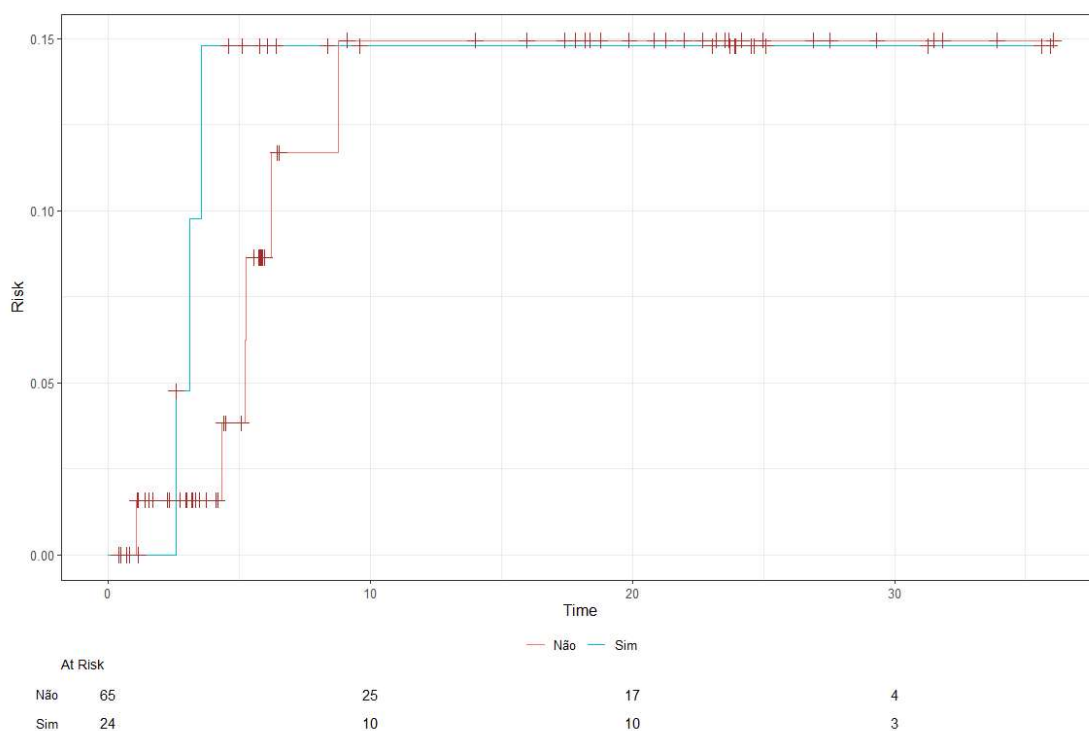


Figura 18: Curva de risco de recidiva da doença de base para eventos de dominância por *Veillonella* (n = 24).

Em relação aos pacientes com amostras dominantes por *Rothia*, não foram observadas diferenças na incidência cumulativa nem diferenças estatísticas na probabilidade de sobrevivência quando comparada aos pacientes sem dominância (Razão de Risco = 0,72; IC 95%: 0,21-2,40; *P*-valor = 0,6; Figura 19).

Rothia

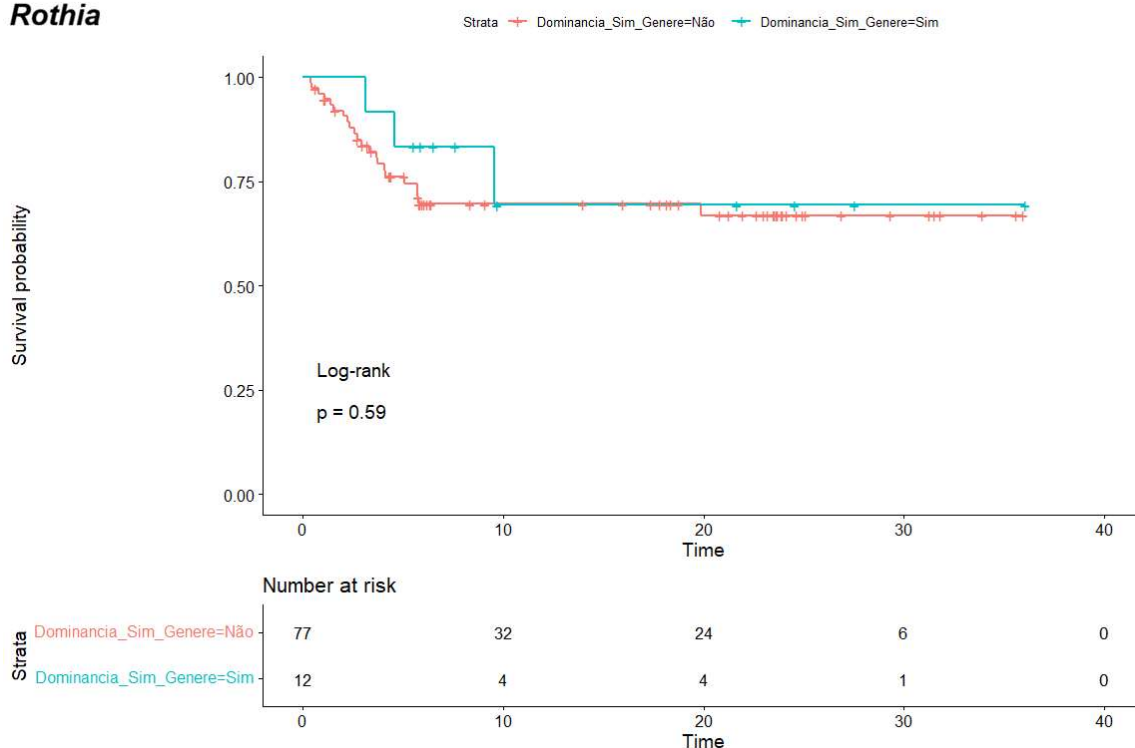


Figura 19: Curva de sobrevida global para eventos de dominância por *Rothia* (n = 12).

No caso de dominância por *Rothia* e desenvolvimento de DECH aguda e grave, observou-se maior incidência cumulativa de DECHa no grupo não dominante, enquanto para DECHa grave, a incidência foi maior no grupo dominante. Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas no risco de DECHa (Razão de Risco = 0,62; IC 95%: 0,22-1,74; *P*-valor = 0,4; Figura 20-A) ou DECHa grave entre os grupos (Razão de Risco = 1,49; IC 95%: 0,42-5,29; *P*-valor = 0,5; Figura 20-B).

Rothia

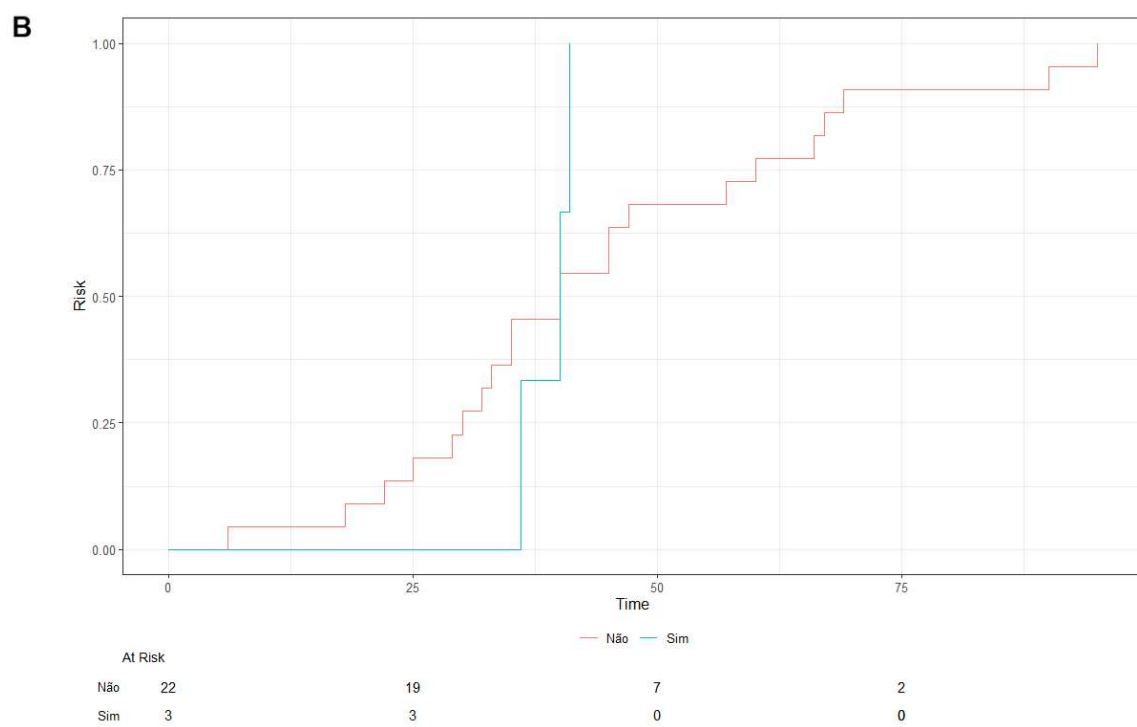
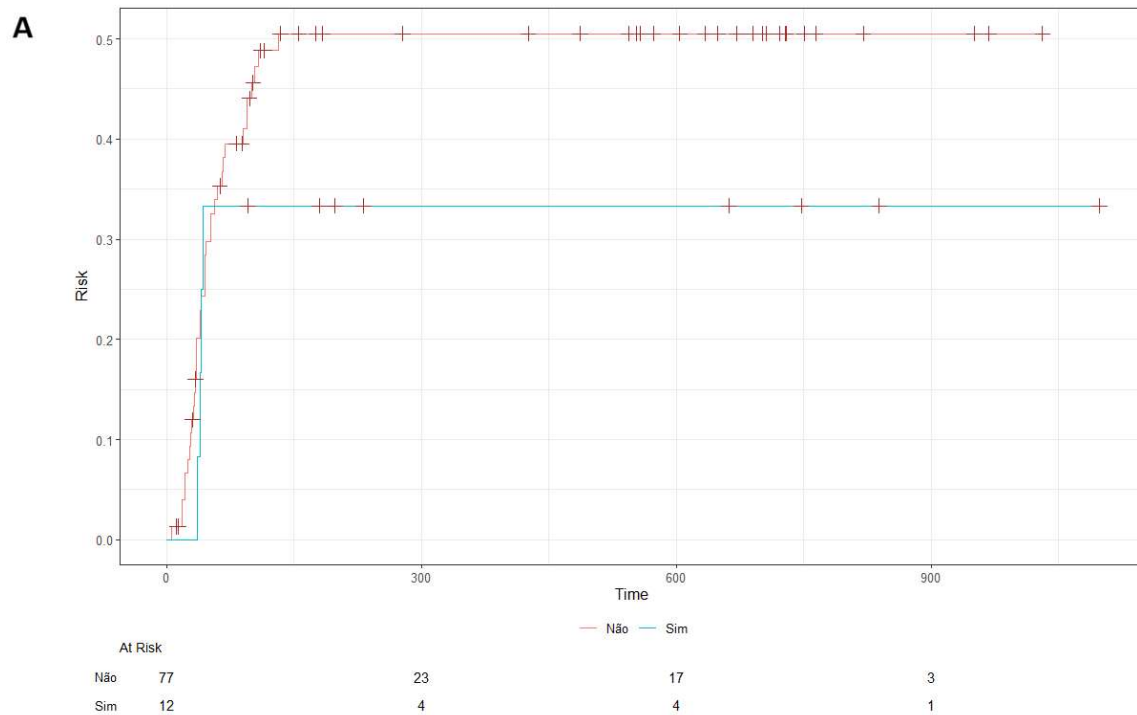


Figura 20: (A) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa para eventos de dominância por *Rothia* (n = 12); (B) Curva de risco de desenvolvimento de DECHa grave para eventos de dominância por *Rothia* (n = 3).

Ao analisarmos a dominância por *Rothia* e o risco de recidiva da doença de base, observou-se maior incidência cumulativa nos pacientes com amostras dominantes em relação aos não dominantes. Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos (Razão de Risco = 2,63; IC 95%: 0,66-10,5; *P*-valor = 0,2; Figura 21).

Rothia

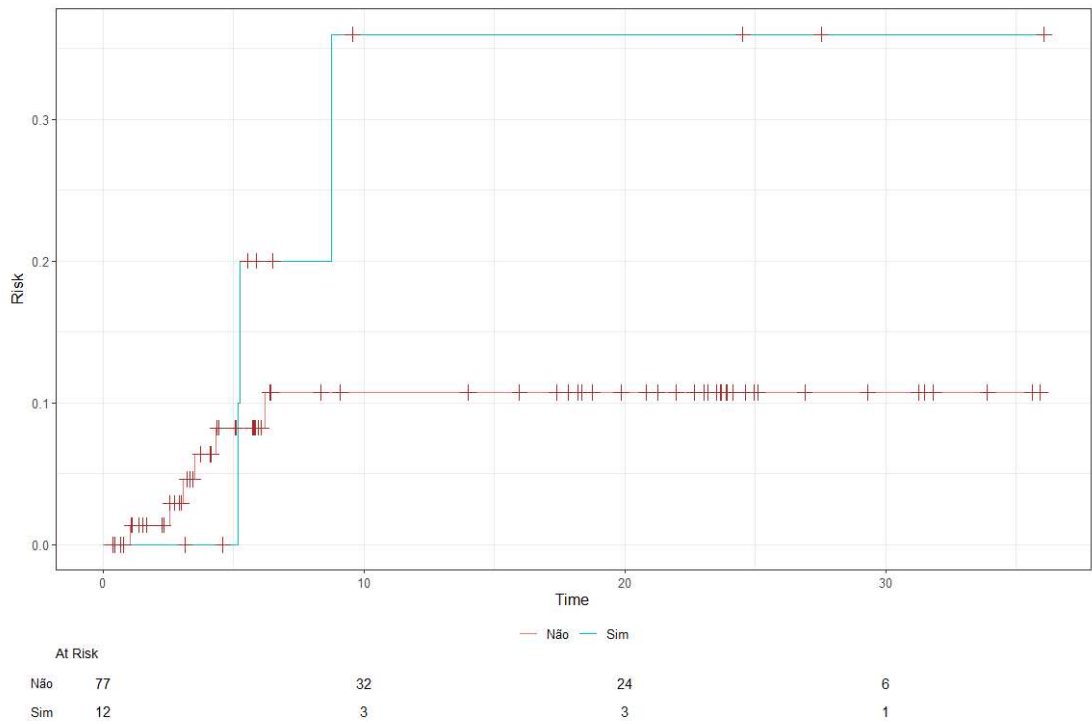


Figura 21: Curva de risco de recidiva da doença de base para eventos de dominância por *Rothia* (n = 12).

Por fim, buscamos associações entre dois principais parâmetros de diversidade (Shannon e Simpson) e desfechos clínicos de óbito e DECHa, conforme mostram as figuras 22 e 23.

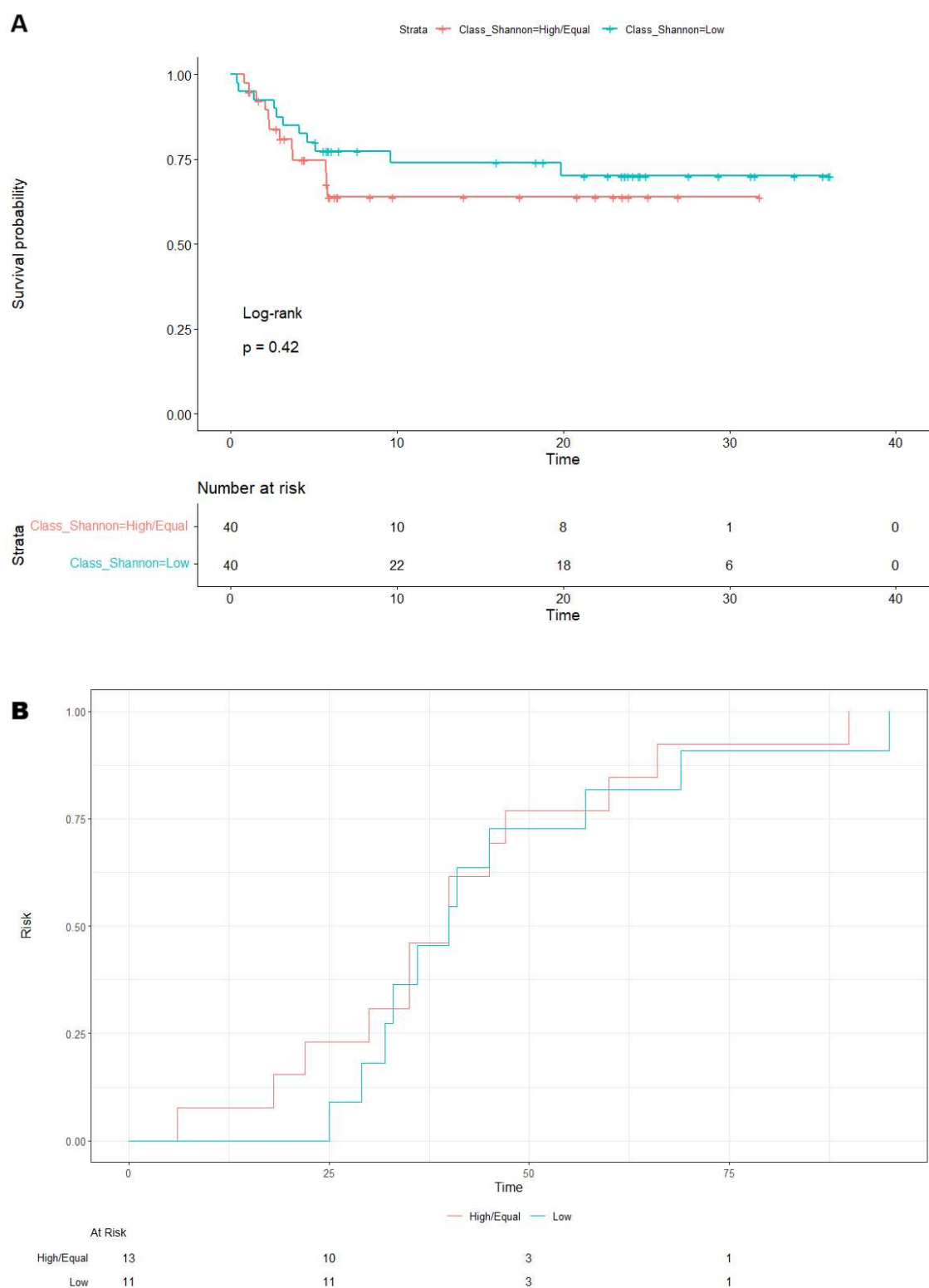


Figura 22: (A) Curva de Kaplan-Meier de sobrevida global dos pacientes com alta diversidade (Shannon $\geq$ mediana) e baixa diversidade (Shannon $<$ mediana); (B) Curva de risco para DECHa dos pacientes com alta diversidade (Shannon $\geq$ média) e baixa diversidade (Shannon $<$ média).

Para o índice de Shannon, pacientes classificados em alta diversidade apresentaram pior probabilidade de sobrevida global ao longo do tempo (Razão de Risco = 1,22; IC 95%: 0,31-1,62; *P*-valor = 0,4; Figura 22-A). Já para DECHa, pacientes classificados em alta e baixa diversidade apresentaram incidência cumulativa semelhante para a doença (Razão de Risco = 0,82; IC 95%: 0,36-1,88; *P*-valor = 0,6; Figura 22-B). Entretanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos desfechos analisados.

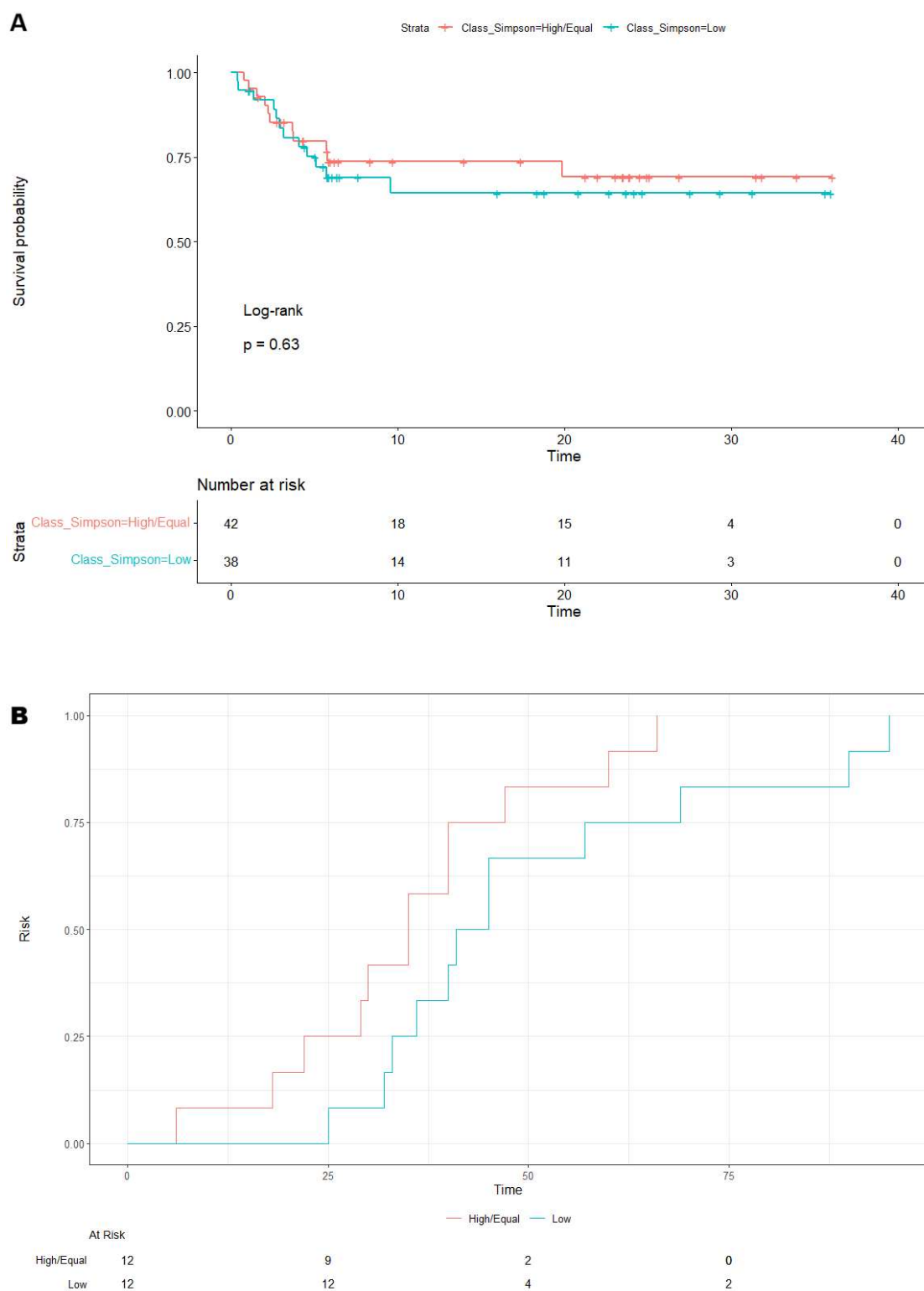


Figura 23: (A) Curva de Kaplan-Meier de sobrevida global dos pacientes com alta diversidade (Simpson $\geq$ mediana) e baixa diversidade (Simpson $<$ mediana); (B) Curva de risco para DECHa dos pacientes com alta diversidade (Simpson $\geq$ média) e baixa diversidade (Simpson $<$ média).

Para o índice de Simpson, pacientes classificados em alta e baixa diversidade apresentaram probabilidade de sobrevida global semelhante, com uma ligeira melhor probabilidade no grupo alta diversidade (Razão de Risco = 1,22; IC 95%: 0,54-2,77; *P*-valor = 0,6; Figura 23-A). Já para DECHa, pacientes classificados em alta diversidade apresentaram maior incidência cumulativa da doença (Razão de Risco = 0,48; IC 95%: 0,20-1,14; *P*-valor = 0,1; Figura 23-B). Entretanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos desfechos analisados.

5.4 COMPARAÇÃO ENTRE BASES DE DADOS

A comparação entre as bases SILVA e HOMD para parâmetros de alfa diversidade estão representados pela Figura 24. Todos os índices de diversidade comparados apresentaram alta correlação estatisticamente significativa ($p > 0,9$; Figura 24-A), bem como as estimativas de abundância relativa por nível taxonômico, exceto no nível taxonômico de espécie, o qual apresentou correlação de Spearman $p = 0,73$ (Figura 24-B).

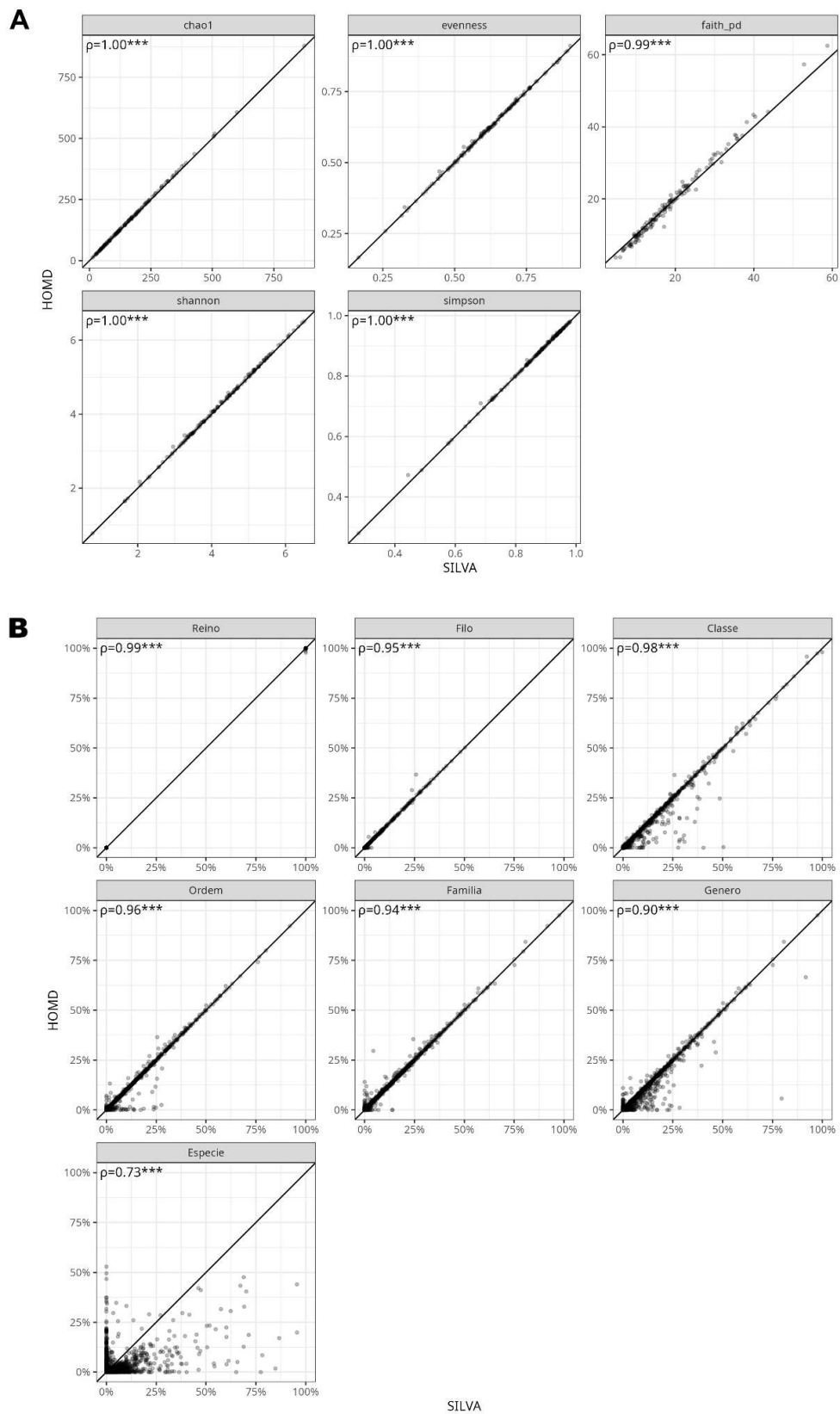


Figura 24: (A) Comparação de parâmetros de alfa diversidade; (B) Comparação de abundância relativa para diferentes níveis taxonômicos.

6. DISCUSSÃO

A microbiota oral é considerada a segunda mais complexa e importante do corpo humano, influenciada por fatores endógenos e exógenos, capaz de ser modulada por meio de intervenções específicas (Jia *et al.*, 2018; Badia *et al.*, 2020; Baker *et al.*, 2024). A mucosa oral possui células imunocompetentes e estruturas anexas que participam das respostas imunes locais. Durante o alo-transplante, o regime de condicionamento provoca danos à mucosa, e nesse contexto, perfis específicos de microbiota têm sido associados a doenças orais como mucosite, periodontite e gengivite, as quais podem atuar como portas de entrada para infecções locais e sistêmicas, aumentando o risco clínico dos pacientes (Wu *et al.*, 2014; Dandoy *et al.*, 2016; Dandoy *et al.*, 2017; Dandoy *et al.*, 2020; Badia *et al.*, 2020). Sendo assim, estudos caracterizando a microbiota oral são de grande relevância clínica para pacientes submetidos ao alo-TMO/TCTH, contribuindo para prevenção e melhorias dos prognósticos pós-transplante.

Em nosso estudo, o elevado número de pacientes recrutados (N = 263) se destaca em comparação a outros trabalhos que recrutaram até no máximo 202 indivíduos (Chukhlovina *et al.*, 2019; Shouval *et al.*, 2020; De Molla *et al.*, 2021; Heidrich *et al.*, 2021; Ingham *et al.*, 2021).

Em relação à diversidade alfa, observou-se queda consistente em todos os parâmetros analisados no período D+30 em comparação ao controle, indicando perda acentuada de riqueza e diversidade filogenética nas primeiras quatro semanas após o condicionamento e a infusão das células-tronco hematopoéticas. Esses achados são sustentados por diferentes estudos da literatura que avaliam a microbiota oral no transplante alogênico de medula óssea e também observaram redução significativa da diversidade nos primeiros 30 dias pós-transplante em comparação ao período pré-condicionamento, seguida de recuperação parcial ou estabilização ao longo dos meses subsequentes (De Molla *et al.*, 2021; Heidrich *et al.*, 2021; Ingham *et al.*, 2021; Laheji *et al.*, 2022; Heidrich *et al.*, 2023; Faraci *et al.*, 2024; Rashidi *et al.*, 2024).

A diferença da microbiota oral entre indivíduos saudáveis e pacientes transplantados sob imunossupressão tem sido amplamente estudada em pesquisas que incluíram grupo controle e utilizaram índices como Shannon e Simpson, evidenciando redução da diversidade em diferentes contextos de patologias

hematológicas (Badia *et al.*, 2020; Shouval *et al.*, 2020; Ingham *et al.*, 2021). Em conjunto, esses estudos destacam a importância de avaliar o bacterioma oral e compreender as dinâmicas ecológicas em diferentes níveis taxonômicos durante o alo-transplante.

Os principais filos bacterianos que compõem cerca de 96% da cavidade oral são Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria e Spirochaetes. Os demais filos que compõem os 4% restantes são Euryarchaeota, Chlamydia, Chloroflexi, SR1, Synergistetes, Tenericutes, e TM7 (Zaura *et al.*, 2009; Dewhirst *et al.*, 2010). Um estudo prospectivo avaliando a disbiose oral e intestinal de 17 pacientes pediátricos submetidos ao alo-TCTH constatou que durante o período de acompanhamento pré e pós-transplante (até 100 dias), o filo Firmicutes (atual Bacillota) aumentou de 46% para 72% durante todo o período analisado, enquanto que Proteobacteria (atual Pseudomonadota) e Bacteroidetes (atual Bacteroidota) reduziram de 20% para 10% e 17% para 9%, respectivamente (Faraci *et al.*, 2024).

Em nossa população de transplantados, identificou-se predominância de Bacillota, Pseudomonadota e Actinomycetota, somando mais de 50% dos filos encontrados. A prevalência de Bacillota foi maior nos períodos D+90 e D+180 quando comparados aos demais períodos do transplante. Dentro dessa variação, a análise de abundância diferencial identificou Bacillota em todos os períodos de coleta e Actinomycetota em D-7, D0, D+60 e D+90 como filos diferencialmente abundantes. Alterações nesses táxons também foram descritas durante o alo-TCTH por Faraci *et al.* (2024), no contexto das modificações da microbiota oral associadas ao transplante.

Outros filos como Spirochaetota, Patescibacteriota e Synergistota foram identificados como diferencialmente escassos. Um estudo recente que avaliou o bacterioma oral de indivíduos saudáveis e indivíduos com complicações orais variadas demonstrou que filos minoritários, incluindo Patescibacteriota, compõem uma fração de baixa abundância na microbiota oral saudável. Muitos desses filos são epibiontes (organismos que colonizam a superfície externa de um hospedeiro sem invadir seus tecidos) com interações metabólicas dependentes de outras bactérias, participando da dinâmica de biofilmes dentais e, em alguns casos, apresentando um comportamento protetivo no contexto de inflamações periodontais (Ghaouas, Chala, 2025). Assim, a escassez desses filos em nossos pacientes pode refletir desequilíbrio

ecológico da microbiota associado ao transplante, com potenciais implicações para a manutenção da homeostase oral.

Na análise de famílias, nossos dados mostraram alta abundância relativa de Streptococcaceae (44,4%) no D+180 e valores superiores a 8,6% em todos os demais períodos do transplante, incluindo DECH. Staphylococcaceae também variou em D+30 (4,7%), D+90 (5,1%) e DECH (11,5%) quando comparada aos indivíduos saudáveis (0,004%). Um estudo que monitorou a microbiota da mucosa oral de 29 pacientes pediátricos submetidos ao alo-TCTH observou um padrão ligeiramente diferente dos nossos resultados. Na população pediátrica, nos primeiros 30 dias pós-transplante, houve redução da abundância de Streptococcaceae e *Neisseriaceae*, bem como táxons pertencentes à ordem Bacillales, contrastando com nossos achados, e aumento de Staphylococcaceae, alinhando-se ao que foi observado na nossa população (Ingham *et al.*, 2021).

Complementando nossos dados, Micrococcaceae (D-7, D0, D+60, D+90 e D+180), Pseudomonadaceae (todos os períodos exceto D+180 e DECH), Staphylococcaceae (todos os períodos) e Enterococcaceae (DECH) foram diferencialmente abundantes em nossa população, sugerindo expansão de gêneros potencialmente patogênicos oportunistas no contexto de imunossupressão e disbiose associada ao transplante. Diversos estudos avaliando gêneros pertencentes a essas famílias demonstraram associação com desfechos clínicos diversos, tais como mucosite, inflamações orais e DECHa, que serão discutidos mais adiante (Chukhlovin *et al.*, 2019; De Molla *et al.*, 2021; Heidrich *et al.*, 2021; Laheji *et al.*, 2022).

Outras famílias como Absconditococcaceae, Nanosynbacteriaceae, Odoribacteraceae e Peptococcaceae foram identificadas como diferencialmente escassas, entretanto, tais grupos pertencem a filos minoritários cuja relevância funcional na microbiota oral ainda é pouco conhecida. Em termos gerais, as variações encontradas na expressão diferencial de famílias da nossa população podem estar relacionadas a diferentes respostas imunológicas dos pacientes, no tipo de tratamento recebido e nas características da coorte estudada (Faraci *et al.*, 2024).

Em indivíduos saudáveis, os principais gêneros dominantes são *Abiotrophia* spp., *Streptococcus* spp., *Granulicatella* spp., *Gemella* spp., *Rothia* spp., *Neisseria*

spp., e *Prevotella* spp. (Zaura *et al.*, 2009; Dewhirst *et al.*, 2010). No contexto do alo-TMO/TCTH, a baixa prevalência dos gêneros *Prevotella* spp. e *Actinomyces* spp. no D+30 pós-transplante apresenta forte evidência de associação ao desfecho de DECHa (Ingham *et al.*, 2021), padrão ligeiramente diferente do que foi visto em nossa coorte. O gênero *Streptococcus* spp. tem um destaque importante como preditor da mucosite oral e de outras doenças bucais incluindo o carcinoma de células escamosas, em que suas espécies comensais estão associadas ao risco aumentado dessas doenças (Ganly *et al.*, 2019; Reyes-Gibby, 2020; Frey-Furtado *et al.*, 2023; Van Lier *et al.*, 2023).

Em nosso estudo, observou-se uma variação na abundância relativa de *Streptococcus*, de 22,5% no D-7 para 44,4% no D+180, e *Staphylococcus*, de 0,25% no D-7 para 5,1% no D+90, chegando a 11,5% em pacientes diagnosticados com DECHa. Em relação ao grupo controle, esse gênero apresentou abundância de apenas 8,6%. Em um estudo avaliando a microbiota do biofilme dental de 30 pacientes submetidos ao alo-transplante, a abundância relativa de *Streptococcus* no pré-condicionamento foi associada a um maior risco de DECHa (Heidrich *et al.*, 2021). Em contraste, um estudo avaliando culturas bacterianas de amostras orais de 202 pacientes submetidos ao alo-transplante constatou que o aumento de colônias de *Streptococcus* (*S. viridans*) e *Staphylococcus* (*S. epidermidis*) até 4 meses pós-transplante foi associado a complicações orais como extração dentária e gengivite (Chukhlovina *et al.*, 2019).

O gênero *Streptococcus*, comensal e potencial oportunista, pode contribuir para mucosite oral e promover a indução de citocinas pró-inflamatórias, agravando complicações relacionadas ao alo-transplante e favorecendo o surgimento de infecções secundárias (Reyes-Gibby, 2020; Frey-Furtado *et al.*, 2023). Além disso, algumas espécies de *Streptococcus* associam-se a bactérias patogênicas que efetivamente colonizaram o nicho oral, favorecendo sua coaderência e atuando como patógenos acessórios, potencializando danos provocados no hospedeiro (Baty; Stoner; Scofield, 2022; Bloch *et al.*, 2024). A alta abundância de *Streptococcus* no pré-condicionamento, associada à expansão de outros gêneros potencialmente patogênicos como *Staphylococcus*, sugere uma possível alteração no nicho oral,

favorecendo um ambiente inflamatório e o desenvolvimento de infecções secundárias (De Molla *et al.*, 2021; Ohbayashi *et al.*, 2026; Shouval *et al.*, 2020).

Como complemento, analisou-se o microbioma núcleo único e compartilhado entre os grupos. Já discutido anteriormente, o gênero *Streptococcus* foi o único presente entre todos os grupos incluindo controle, reforçando a ideia de que seu papel comensal e patogênico oportunista pode influenciar nas respostas clínicas pós-transplante. Em relação ao microbioma núcleo único, observamos em nossa população os gêneros *Actinomyces* (D+60), *Lautropia* e *Gemella* (ambos em D+180).

Um estudo de caso recente avaliou o surgimento de uma lesão na região papilar entre dois dentes molares de uma paciente submetida a transplante alogênico de medula óssea 21 dias após o início do tratamento. Foi identificado aumento na abundância de *Actinomyces* três semanas antes do surgimento da lesão (Bruno *et al.*, 2023), sugerindo que esse gênero pode ser um indicador de risco de infecções oportunistas e lesões orais.

A análise de abundância diferencial identificou abundância aumentada de diversos gêneros, com destaque para *Staphylococcus* e *Enterococcus* (ambos em DECH), *Pseudomonas* (D0, D+30 e D+90) e *Rothia* (D-7 e D+90). O aumento de *Rothia*, *Staphylococcus* e *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*) está associado a complicações e inflamações orais (Chukhlovina *et al.*, 2019), podendo levar à queda da diversidade oral como foi observado em nossos pacientes. Além disso, o aumento de *Enterococcus* está associado à expansão de bactérias potencialmente patogênicas (Heidrich *et al.*, 2021). Diversos estudos observaram que o aumento de *Enterococcus* associa-se ao desenvolvimento de mucosite (Galili *et al.*, 1995; Osakabe *et al.*, 2017; Muro *et al.*, 2018) e influencia o desenvolvimento de DECH aguda e crônica (De Molla *et al.*, 2021; Heidrich *et al.*, 2021).

Em relação a gêneros diferencialmente escassos, observou-se em nossa população a redução de *Tannerella*, *Treponema* e *Porphyromonas*. Esses três gêneros juntos formam o chamado complexo vermelho que está presente em placas subgingivais associadas à periodontite crônica e periodontite invasiva (Chen *et al.*, 2022). Outras inflamações orais como mucosite também estão associadas a *Porphyromonas*, que exerce um papel importante nas fases iniciais do

desenvolvimento da doença, intensificando lesões e ulcerações orais (Laheji *et al.*, 2012). Tais reduções observadas podem estar relacionadas à perda da diversidade oral, como já foi observado pelos valores de Shannon e Simpson, bem como pela ação dos antibióticos administrados ao longo do transplante. Além disso, fica claro que todos os gêneros diferenciais estão associados a doenças e inflamações orais, reforçando que tanto o transplante como a disbiose oral favorecem um nicho ecológico adequado para bactérias oportunistas, aumentando as chances de desenvolvimento de complicações secundárias.

Para o nível taxonômico de espécie, embora tenha sido observada uma limitação devido à alta porcentagem de táxons não identificados (de 65% a 85%), identificou-se *Cellulosimicrobium funkei*, presente somente no grupo transplante e em maior proporção no grupo DECH (3,5%). Essa espécie tem um papel relevante em casos de bacteremia (translocação bacteriana que promove infecção da corrente sanguínea) e endocardite para indivíduos sob tratamento com dispositivos médicos, imunossuprimidos e pacientes de transplante de medula óssea (Gonzales Zamora; Camps, 2018; Rivero *et al.*, 2019).

Esses resultados concluem este bloco de análises de diversidade, abrindo a discussão sobre dominância e desfechos clínicos.

Em relação à dominância, poucos trabalhos da literatura abordam esse conceito no contexto da microbiota oral e alo-TMO/TCTH. No entanto, é amplamente explorado em diversos estudos de microbiota intestinal, onde eventos de dominância são associados a diversos desfechos pós-transplante incluindo gravidade da DECH, bacteremia e mortalidade (Taur *et al.*, 2012; Stein-Thoeringer *et al.*, 2019; Messina *et al.*, 2021).

Buscando encontrar preditores de eventos de dominância e variáveis clínicas diversas, tanto na análise univariada quanto multivariada, observou-se uma menor chance de ocorrência de dominância em pacientes ex-tabagistas comparados com não tabagistas, sugerindo um caráter protetivo em pacientes que tiveram contato prévio com o cigarro. Um estudo avaliando a diferença da microbiota oral da saliva de adultos fumantes, ex-fumantes e não fumantes na China demonstrou que a diversidade de Shannon de fumantes foi maior do que não fumantes, e que o perfil da microbiota de ex-fumantes se aproxima mais do perfil de adultos fumantes do que de

não fumantes devido ao efeito duradouro nos indivíduos que abandonaram o hábito (Jia *et al.*, 2021). Outro estudo avaliando biomarcadores lipídicos associados a disbiose do microbioma salivar de fumantes demonstrou que o perfil salivar de fumantes apresentou maior proporção de bactérias anaeróbias e redução de gêneros associados à saúde oral (Mohammed *et al.*, 2024). Juntos, esses dados corroboram com nossos resultados onde a microbiota de fumantes e ex-fumantes apresenta um ambiente de maior competição para espécies oportunistas, de modo a diminuir as chances de ocorrência de dominância por um único gênero.

Outro preditor encontrado na análise multivariada foi o tipo de regime de condicionamento, em que observamos uma menor chance de ocorrência de dominância em pacientes submetidos a intensidade reduzida quando comparada a regime mieloablativo. Um estudo recente corrobora com nossos achados ao verificar que no transplante alogênico, o tipo de regime mieloablativo utilizado pode provocar diferentes padrões de lesão na microbiota oral, onde regimes mais intensos levam à perda de diversidade e gravidade da mucosite (Ebadi *et al.*, 2025). A ocorrência de dominância bacteriana, portanto, poderá ser maior em pacientes com disbiose oral provocada pelo regime de condicionamento mieloablativo.

Nossos dados demonstraram que a dominância por *Streptococcus*, *Rothia* e *Veillonella* não apresentou correlação significativa com os desfechos clínicos de interesse e portanto, não se configura como marcador prognóstico independente. Mesmo com a ampliação do tamanho amostral e reanálise utilizando uma nova base de dados, nossos resultados reforçam a ausência de marcador de resposta clínica na microbiota oral dos pacientes submetidos ao transplante alogênico.

Embora a literatura seja limitada quanto à ocorrência de dominância na microbiota oral de pacientes submetidos ao alo-transplante, alguns estudos indicam que o aumento de *Streptococcus* pode estar associado a DECH aguda e crônica, mucosite e mortalidade (Heidrich *et al.*, 2021; Diamond; Cardones, 2023; Rashidi *et al.*, 2024; Bartha *et al.*, 2025), o que reforça a relevância desse gênero no contexto do transplante alogênico em coortes internacionais.

Referente à dominância de *Rothia*, um estudo que buscou descrever os efeitos do alo-TCTH na microbiota oral e examinar as diferenças entre pacientes que adquiriram complicações respiratórias revelou que o microbioma oral foi afetado pelo

aumento da presença de espécies do gênero *Rothia* após o alo-transplante. Esses achados foram observados em pacientes que desenvolveram sinais e sintomas respiratórios, uma das complicações associadas ao alo-transplante (Ames *et al.*, 2012).

O gênero *Rothia*, embora inclua espécies comensais, pode se tornar patogênico oportunista e está associado (especialmente *R. dentocariosa* e *R. mucilaginosa*) a doenças bucais como mucosite e outras infecções sistêmicas, que em casos mais graves podem causar bacteremia, endocardite e septicemia (Shouval *et al.*, 2019; Shouval *et al.*, 2020; Fatahi-Bafghi, 2021). Um artigo de revisão, que avaliou bactérias orais e intestinais no alo-TCTH, descreveu que a presença de *Rothia* nas fezes está associada ao desfecho de DECHa, o que pode complementar nossos achados, indicando uma maior abundância relativa e possível dominância por esse gênero (Beckman *et al.*, 2021).

Quanto ao gênero *Veillonella*, alguns estudos demonstraram que ele tem papel protetor quando sua abundância relativa é alta no pré-condicionamento, associada a menor risco de DECHa (Heidrich *et al.*, 2021), bem como associada ao desenvolvimento de mucosite quando em menor abundância no pré-condicionamento (Messina *et al.*, 2023).

Outros autores identificaram associações entre variações na microbiota oral e desfechos clínicos. De Molla *et al.* (2021) observaram que o domínio de um único gênero e a redução da diversidade oral pré-transplante estavam associados a maior risco de recaída e piores resultados de sobrevida sem progressão da doença. Resultados semelhantes foram relatados por Heidrich *et al.* (2021, 2023), nos quais a ocorrência de disbiose oral e crescimento repentino (*blooms*) de *E. faecalis* atuam como preditores de DECHa e piores desfechos clínicos. Shouval *et al.* (2020) demonstraram que perfis específicos de microbiota salivar e seus metabólitos estão correlacionados com a gravidade da mucosite. Um interessante estudo demonstrou que a modulação da microbiota oral por intervenções simples como higiene oral pode reduzir infecções orais, melhorando o prognóstico dos pacientes e sugerindo que a microbiota oral pode ser uma potencial ferramenta prognóstica no contexto do alo-transplante para aplicações futuras (Badia *et al.*, 2020).

Em termos de diversidade, vemos que a baixa diversidade oral no pré-condicionamento está associada a maior risco de recaída e menor sobrevida sem progressão da doença, bem como associada ao desenvolvimento de mucosite moderada e grave (Shouval *et al.*, 2019; Shouval *et al.*, 2020; Takahashi *et al.*, 2020; De Molla *et al.*, 2021).

Não observamos associações entre parâmetros de diversidade e desfechos clínicos do alo-transplante. Apesar disso, alguns estudos sugerem que a composição específica da microbiota, independentemente da diversidade, pode apresentar impactos prognósticos negativos, sugerindo que comunidades bacterianas mais diversas não necessariamente refletem um estado de proteção ao paciente (Hakim *et al.*, 2018; Immonen *et al.*, 2025).

Por fim, referente à comparação entre diferentes bases de dados, a HOMD (classifier_HOMD-16.01_V3-V4) é especificamente estruturada para estudos de microbiota oral, contendo taxonomia refinada e genomas de referência do ecossistema da cavidade oral (Chen *et al.*, 2010; Escapa *et al.*, 2018). Um estudo comparativo entre bases, como SILVA (v138, 341F-805R), RDP, Greengenes e outros, demonstrou uma alta correlação em níveis taxonômicos superiores, como reino, filo, classe, ordem e família, e maior variabilidade em níveis mais específicos, como gênero e espécie (Balvočiūtė, Huson, 2017). Nossos achados se alinham à literatura ao apresentarem alta correlação nos níveis taxonômicos superiores e específicos (valores de p entre 0,90 e 0,99 até gênero e 0,73 para espécie). Portanto, a utilização de uma base específica para microbiota oral como o HOMD mostrou-se apropriada para análises dependentes de maior resolução taxonômica, considerando que a escolha do banco pode influenciar a classificação final de uma comunidade microbiológica.

Nosso estudo apresentou algumas limitações. O tamanho amostral nos diferentes períodos analisados foi bastante divergente, em especial pela baixa consistência na coleta de amostras orais após o período de internação (geralmente do dia do transplante até 30 dias pós-infusão) e o baixo número de amostras para o grupo DECH. Essas diferenças dificultaram a obtenção de resultados estatísticos robustos e associações relevantes com os desfechos clínicos de interesse.

Outro desafio consistiu na coleta de dados clínicos. A ausência de informações completas para todos os pacientes (em decorrência de diferentes datas para cada transplante) interfere nas análises de preditores e nas associações com desfechos clínicos de interesse. Além disso, o uso de antibióticos não foi avaliado individualmente e portanto, não foi levado em consideração em nossas análises, representando uma forte limitação. Contudo, todos os pacientes fizeram uso de antibióticos no pré (profilático) e pós-transplante (terapêutico). Assim, o uso de antibióticos não foi definido como critério de exclusão para esse estudo, uma vez que os pacientes não podem ficar sem essa medicação.

Por fim, temos alguns achados divergentes da literatura. Houve limitações na discussão dos resultados obtidos em nosso estudo em comparação com achados da literatura, principalmente devido à heterogeneidade de metodologias e do próprio delineamento experimental: população alvo (crianças, adultos, idosos), forma de coleta da microbiota oral (swab, saliva), local de coleta específico (língua, palato, gengiva, mucosa, saliva, biofilme dental), diferentes técnicas de sequenciamento (16S RNAr, shotgun, regiões de sequenciamento variadas), análises estatísticas e ausência de análises multiômicas. Sem um consenso na comunidade científica, essas divergências dificultam a validação e a reprodutibilidade das pesquisas.

7. CONCLUSÃO

Nosso estudo demonstrou que o alo-transplante promove alterações significativas tanto na diversidade quanto na composição do microbioma oral, especialmente nos primeiros 30 dias pós-transplante. As variações nas abundâncias relativas de bactérias comensais ao longo do tratamento, bem como a maior frequência de gêneros com potencial patogênico, especialmente entre os pacientes que desenvolveram a DECHa, sugerem que a imunossupressão favorece a disbiose oral e a expansão de táxons oportunistas. Além disso, a frequente ocorrência de eventos de dominância bacteriana reforça a hipótese de que determinados indivíduos apresentam microbiota oral menos diversa e ecologicamente menos estável, tornando-os mais suscetíveis a desequilíbrios durante o alo-transplante, favorecendo o estabelecimento de infecções orais secundárias e outras complicações sistêmicas e clínicas.

Embora não tenham sido identificados biomarcadores de resposta clínica, nossos resultados contribuíram para a caracterização do bacterioma oral de pacientes da população brasileira e possibilitaram identificar gêneros diferencialmente abundantes e padrões de dominância no período pós-transplante e na DECHa.

8. REFERÊNCIAS

AMES, N. J.; SULIMA, P.; NGO, T.; BARB, J.; MUNSON, P. J.; PASTER, B. J.; HART, T. C. A characterization of the oral microbiome in allogeneic stem cell transplant patients. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e47628, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0047628.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS (ABTO). **Registro Brasileiro de Transplantes 2024: Ano XXXI, volume 4**. São Paulo: ABTO, 2025. Disponível em: <https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2025/05/rbt-n4-2024-populacao.pdf>. Acesso em: 2 out. 2025.

BADIA, P.; ANDERSER, H.; HASLAM, D.; NELSON, A. *et al.* Improving oral health and modulating the oral microbiome to reduce bloodstream infections from oral organisms in pediatric and young adult hematopoietic stem cell transplantation recipients: a randomized controlled trial. **Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 26, n. 9, p. 1704–1710, set. 2020. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.05.019.

BAKER, Jonathon L.; WELCH, Jessica L. Mark; KAUFFMAN, Kathryn M.; McLEAN, Jeffrey S.; HE, Xuesong. The oral microbiome: diversity, biogeography and human health. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 22, p. 89-104, 2024. DOI: 10.1038/s41579-023-00963-6.

BALVOČIŪTĖ, M.; HUSON, D. H. SILVA, RDP, Greengenes, NCBI and OTT — how do these taxonomies compare? **BMC Genomics**, London, v. 18, art. 114, 2017. DOI: 10.1186/s12864-017-3501-4.

BAQUERO, F.; NOMBELA, C. The microbiome as a human organ. **Clinical Microbiology and Infection**. Jul. 2012, 18:2-4. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03916.x.

BARTHA, V.; BOUTIN, S.; SCHÜßLER, D. L.; FELTEN, A.; FAZELI, S.; KOSELY, F.; LUFT, T.; WOLFF, D.; FRESE, C.; SCHOILEW, K. Exploring the influence of oral and gut microbiota on ulcerative mucositis: a pilot cohort study. **Oral Diseases**, v. 31, n. 6, p. 1776–1788, 2025. DOI: 10.1111/odi.15246.

BATY, J. J.; STONER, S. N.; SCOFFIELD, J. A. Oral commensal streptococci: gatekeepers of the oral cavity. **Journal of Bacteriology**, v. 204, n. 11, p. e00257-22, 2022. DOI: 10.1128/jb.00257-22.

BECKMAN, M.; MORTON, D. S.; BAHRANI MOUGEOT, F.; MOUGEOT, C. Allogenic stem cell transplant-associated acute graft versus host disease: a computational drug discovery text mining approach using oral and gut microbiome signatures. **Support Care Cancer**, v. 29, p. 1765–1779, 2021. DOI: 10.1007/s00520-020-05821-2.

BELL, A.; KASI, A. Oral mucositis. 29 maio 2023. In: *STATPEARLS* [Internet]. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; 2024 jan–. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK565848/>. Acesso em: 30 set. 2025.

BERG, G.; RYBAKOVA, D.; FISCHER, D.; CERNAVA, T. *et al.* Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome** 8, 103 (2020). DOI: 10.1186/s40168-020-00875-0.

BLAZAR, B. R.; HILL, G. R.; MURPHY, W. J. Dissecting the biology of allogeneic HSCT to enhance the GvT effect whilst minimizing GvHD. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 17, p. 475–492, ago. 2020. DOI: 10.1038/s41571-020-0356-4.

BLOCH, S.; HAGER-MAIR, F. F.; ANDRUKHOV, O.; SCHÄFFER, C. Oral streptococci: modulators of health and disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, p. 1357631, 2024. DOI: 10.3389/fcimb.2024.1357631.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114-2120, 2014.

BOLYEN, Evan *et al.* Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature biotechnology**, v. 37, n. 8, p. 852-857, 2019.

BORGO, P. V.; RODRIGUES, V.; FEITOSA, A.; XAVIER, K.; AVILA-CAMPOS, M. Association between periodontal condition and subgingival microbiota in

women during pregnancy: a longitudinal study. **Journal of applied oral science: revista FOB**, v. 22, n. 6, p. 528–533, dez. 2014. DOI: 10.1590/1678-775720140164.

BRUNO, J. S.; MIRANDA-SILVA, W.; HEIDRICH, V.; GONÇALVES, M. C.; NOVIS, Y.; ARRAIS-RODRIGUES, C.; CAMARGO, A. A.; FREGNANI, E. R. Unusual gingival actinomycosis post allogeneic hematopoietic stem-cell transplant: case report. **BMC Oral Health**, v. 23, n. 1, p. 62, 2023. DOI: 10.1186/s12903-023-02777-7.

CHEN, T.; YU, W.-H.; IZARD, J.; BARANOVA, O. V.; LAKSHMANAN, A.; DEWHIRST, F. E. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. **Database**, Oxford, v. 2010, p. baq013, 2010. DOI: 10.1093/database/baq013.

CHEN, X.; SUN, B.; LI, L.; SUN, Z.; ZHU, X.; ZHONG, X.; XU, Y.. The oral microbiome analysis reveals the similarities and differences between periodontitis and Crohn's disease-associated periodontitis. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 369, n. 1, p. fnac054, 2022. DOI: 10.1093/femsle/fnac054.

CHUKHLOVIN, A. B.; SPIRIDONOVA, A. A.; BARANOVA, I. B.; GRIGORIANTS, A. P.; VLADOVSKAYA, M. D.; ZUBAROVSKAYA, L. S.; AFANASYEV, B. V. Common bacterial cultures from oral mucosa after hematopoietic stem cell transplantation: dependence on the patient characteristics and therapeutic factors. **Cell Therapy & Transplantation**, v. 8, n. 4, p. 49–56, 2019. DOI: 10.18620/ctt-1866-8836-2019-8-4-49-56.

DANDOY, C. E. *et al.* Healthcare burden, risk factors, and outcomes of mucosal barrier injury laboratory-confirmed bloodstream infections after stem cell transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 22, n. 9, p. 1671–1677, set. 2016. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.06.002.

DANDOY, C. E. *et al.* Bacterial bloodstream infections in the allogeneic hematopoietic cell transplant patient: new considerations for a persistent nemesis. **Bone Marrow Transplantation**, v. 52, n. 8, p. 1091–1106, ago. 2017. DOI: 10.1038/bmt.2017.14.

DANDOY, C. E. *et al.* Incidence, risk factors, and outcomes of patients who develop mucosal barrier injury-laboratory confirmed bloodstream infections in the first

100 days after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. **JAMA Network Open**, v. 3, n. 1, p. e1918668, 3 jan. 2020. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.18668.

DE MOLLA, V. C. *et al.* Disruption of the oral microbiota is associated with a higher risk of relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 17552, 2 set. 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-96939-8.

DEO, P. N.; DESHMUKH, R. Oral microbiome: unveiling the fundamentals. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 23, n. 1, p. 122-128, jan.-abr. 2019. DOI: 10.4103/jomfp.JOMFP_304_18.

DEWHIRST, F. E.; CHEN, T.; IZARD, J.; PASTER, B. J.; TANNER, A. C. R.; YU, W.; LAKSHMANAN, A.; WADE, W. G. The human oral microbiome. **Journal of Bacteriology**, v. 192, p. 1-17, 2010. DOI: 10.1128/jb.00542-10.

DIAMOND, C.; CARDONES, A. Changes of the oral microbiome in bone marrow transplantation: a predictor of mortality and poor outcomes. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 143, n. 5, p. S179, supplement, 2023. DOI: 10.1016/j.jid.2023.03.1060.

EBADI, M.; GEM, H.; SEBASTIAN, G.; ABASAEED, R.; LLOID, M.; TSENG, Y. D.; MIAN, O. Y.; MINOT, S.; DEAN, D. R.; RASHIDI, A. Different patterns of oral mucositis and microbiota injury after total body irradiation– versus chemotherapy-based myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Advances in Radiation Oncology**, v. 10, n. 6, p. 101787, 2025. DOI: 10.1016/j.adro.2025.101787.

ENGLAND, C. G.; BOSCH, J. A.; CACIOPPO, J. T.; MARUCHA, P. T. Mucosal wound healing: the roles of age and sex. **Archives of Surgery**, v. 141, n. 12, p. 1193-1197, 2006. DOI: 10.1001/archsurg.141.12.1193.

ESCAPA, I. F.; CHEN, T.; HUANG, Y.; GAJARE, P.; DEWHIRST, F. E.; LEMON, K. P. New insights into human nostril microbiome from the expanded Human Oral Microbiome Database (eHOMD): a resource for the microbiome of the human aerodigestive tract. **mSystems**, Washington, v. 3, n. 6, p. e00187-18, 2018. DOI: 10.1128/mSystems.00187-18.

FARACI, M.; BONARETTI, C.; DELL'ORSO, G.; PIERRI, F.; GIARDINO, S.; ANGIERI, F.; BLASI, S.; FARRONATO, G.; DI MARCO, E.; TREVISIOL, A.

OLCENESE, E.; RUFINO, L.; SQUILLARIO, M.; BIASSONI, R. Association between oral and fecal microbiome dysbiosis and treatment complications in pediatric patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 6708, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-55690-6.

FATAHI-BAFGHI, M. Characterization of the *Rothia* spp. and their role in human clinical infections. **Infectious Genetics and Evolution**, v. 93, p. 104877, set. 2021. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104877.

FREY-FURTADO, L.; MAGALHÃES, I.; SAMPAIO-MAIA, B.; AZEVEDO, M. J. Oral microbiome characterization in oral mucositis patients: a systematic review. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 52, n. 10, p. 911-918, 2023. DOI: 10.1111/jop.13492.

GAFFEN, S. L.; MOUTSOPOULOS, N. M. Regulation of host-microbe interactions at oral mucosal barriers by type 17 immunity. **Science Immunology**, v. 5, n. 43, p. eaau4594, 3 jan. 2020. DOI: 10.1126/sciimmunol.aau4594.

GALILI, D.; TAGGER, N.; SELA, M. N.; GARFUNKEL, A. A. Surveillance of oral cultures for Enterobacteriaceae during bone marrow transplantation. **European Journal of Cancer B: Oral Oncology**, v. 31B, n. 1, p. 58–62, 1995. DOI: 10.1016/0964-1955(94)00029-4.

GANLY, I.; YANG, L.; GIESE, R. A.; HAO, Y.; NOSSA, C. W.; MORRIS, L. G. T.; ROSENTHAL, M.; MIGLIACCI, J.; KELLY, D.; TSENG, W.; HU, J.; LI, H.; BROWN, S.; PEI, Z. Periodontal pathogens are a risk factor of oral cavity squamous cell carcinoma, independent of tobacco and alcohol and human papillomavirus. **International Journal of Cancer**, v. 145, p. 775-784, 2019. DOI: 10.1002/ijc.32152.

GHAOUAS, S.; CHALA, S. The oral bacteriome. **Microbiology Research**, v. 16, n. 9, p. 194, 2025. DOI: 10.3390/microbiolres16090194.

GONZALES ZAMORA, J. A.; CAMPS, N. Bacteremia caused by *Cellulosimicrobium* in a bone marrow transplant patient: a case report and literature review. **IDCases**, v. 11, p. 64–66, 2018. DOI: 10.1016/j.idcr.2018.01.007.

GOVENDER, P.; GHAI, M. Population-specific differences in the human microbiome: factors defining the diversity. **Gene**, v. 933, p. 148923, 2024. DOI: 10.1016/j.gene.2024.148923.

HAKIM, H.; DALLAS, R.; WOLF, J.; TANG, L.; SCHULTZ-CHERRY, S.; DARLING, V.; JOHNSON, C.; KARLSSON, E. A.; CHANG, T.; JEHA, S.; PUI, C.; SUN, Y.; POUNDS, S.; HAYDEN, R. T.; TUOMANEN, E.; ROSCH, J. W. Gut microbiome composition predicts infection risk during chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 67, n. 4, p. 541–548, 2018. DOI: 10.1093/cid/ciy153.

HARRIS, A. C. *et al.* International, multicenter standardization of acute graft-versus-host disease clinical data collection: a report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 22, n. 1, p. 4-10, 2016. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.09.001.

HEIDRICH, V.; BRUNO, J. S.; KNEBEL, F. H.; DE MOLLA, V. C.; MIRANDA-SILVA, W.; ASPRINO, P. F.; TUCUNDUVA, L.; ROCHA, V.; NOVIS, Y.; ARRAIS-RODRIGUES, C.; FREGNANI, E. R.; CAMARGO, A. A. Dental biofilm microbiota dysbiosis is associated with the risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 692225, 18 jun. 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.692225.

HEIDRICH, V.; KNEBEL, F. H.; BRUNO, J. S.; DE MOLLA, V. C.; MIRANDA-SILVA, W.; ASPRINO, P. F.; TUCUNDUVA, L.; ROCHA, V.; NOVIS, Y.; FREGNANI, E. R.; ARRAIS-RODRIGUES, C.; CAMARGO, A. A. Longitudinal analysis at three oral sites links oral microbiota to clinical outcomes in allogeneic hematopoietic stem-cell transplant. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 6, p. e0291023, 2023. DOI: 10.1128/spectrum.02910-23.

HILL, G. R.; BETTS, B. C.; TKACHEV, V.; KEAN, L. S.; BLAZAR, B. R. Current concepts and advances in graft-versus-host disease immunology. **Annual Review of Immunology**, v. 39, p. 19–49, 26 abr. 2021. DOI: 10.1146/annurev-immunol-102119-073227.

ILLUMINA. **Nextera XT DNA Library Preparation Kit**: Low-input DNA library preparation for sequencing small genomes, PCR amplicons, plasmids, and cDNA. San Diego, CA: Illumina, 2026. Disponível em: <https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/nextera-xt-dna.html>. Acesso em: 2 fev. 2026.

IMMONEN, E.; PAULAMÄKI, L.; PIIPPO, H.; NIKKILÄ, A.; AINE, L.; PELTOMÄKI, T.; LOHI, O.; PARIKKA, M. Oral microbiome diversity and composition

before and after chemotherapy treatment in pediatric oncology patients. **BMC Oral Health**, v. 25, p. 981, 2025. DOI: 10.1186/s12903-025-06405-4.

INGHAM, A. C.; KIELSEN, K.; MORDHORST, H.; IFVERSEN, M.; AARESTRUP, F. M.; MÜLLER, K. G.; PAMP, S. J. Microbiota long-term dynamics and prediction of acute graft-versus-host disease in pediatric allogeneic stem cell transplantation. **Microbiome**, v. 9, p. 148, 28 jun. 2021. DOI: 10.1186/s40168-021-01100-2.

JIA, G.; ZHI, A.; LAI, P. F. H.; WANG, G.; XIA, Y.; XIONG, Z.; ZHANG, H.; CHE, N.; AI, L. The oral microbiota - a mechanistic role for systemic diseases. **British Dental Journal**, v. 224, n. 6, p. 447-455, 23 mar. 2018. DOI: 10.1038/sj.bdj.2018.217.

JIA, Y.; LIAO, Y.; HE, Y.; ZHENG, M.; TONG, X.; XUE, W.; ZHANG, J.; YUAN, L.; ZHANG, W.; JIA, W. Association between oral microbiota and cigarette smoking in the Chinese population. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 11, 2021. DOI: 10.3389/fcimb.2021.658203.

KHADDOUR, K.; HANA, C. K.; MEWAWALLA, P. Hematopoietic stem cell transplantation. In: **StatPearls**. Treasure Island: **StatPearls**, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536951/>. Acesso em: 30 set. 2025.

KOYAMA, M.; HILL, G. R. Alloantigen presentation and graft-versus-host disease: fuel for the fire. **Blood**, v. 127, n. 24, p. 2963–2970, 16 jun. 2016. DOI: 10.1182/blood-2016-02-697250.

LADEGAARD GRØNKJÆR, L.; HOLMSTRUP, P.; SCHOU, S.; JEPSEN, P.; VILSTRUP, H. Severe periodontitis and higher cirrhosis mortality. **United European Gastroenterology Journal**, v. 6, n. 1, p. 73-80, 2018. DOI: 10.1177/2050640617715846.

LAHEIJ, A. M. G. A.; DE SOET, J. J.; VON DEM BORNE, P. A.; KUIJPER, E. J.; KRANEVELD, E. A.; VAN LOVEREN, C.; RABER-DURLACHER, J. E. Oral bacteria and yeasts in relationship to oral ulcerations in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Supportive Care in Cancer**, v. 20, n. 12, p. 3231–3240, 2012. DOI: 10.1007/s00520-012-1463-2.

LAHEIJ, A. M. G. A.; ROZEMA, F. R.; BRENNAN, M. T.; VON BÜLTZINGSLÖWEN, I.; VAN LEEUWEN, S. J. M.; POTTING, C.; HUYSMANS, M.-C.

D. N. J. M.; HAZENBERG, M. D.; BRANDT, B. W.; ZAURA, E.; BUIJS, M. J.; DE SOET, J. J.; BLIJLEVEN, N. N. M.; RABER-DURLACHER, J. E. Long-term analysis of resilience of the oral microbiome in allogeneic stem cell transplant recipients. **Microorganisms**, v. 10, n. 4, p. 734, 2022. DOI: 10.3390/microorganisms10040734.

LARIN, A. K.; KLIMINA, K. M.; VESELOVSKY, V. A.; OLEKHNOVICH, E. I.; MOROZOV, M. D.; BOLDYREVA, D. I.; YUNES, R. A.; MANOLOV, A. I.; FEDOROV, D. E.; PAVLENKO, A. V.; GALEEVA, Y. S.; STARIKOVA, E. V.; ILINA, E. N. An improved and extended dual-index multiplexed 16S rRNA sequencing for the Illumina HiSeq and MiSeq platform. **BMC Genomic Data**, Londres, v. 25, art. 8, 2024. DOI: 10.1186/s12863-024-01192-3.

LEDERBERG, J.; MCCRAY, A. T. (2001) 'Ome sweet' omics—a genealogical treasury of words. **The Scientist**, (Apr., 2001) 15, 8. Disponível em: <https://lhncbc.nlm.nih.gov/LHC-publications/PDF/pub2001047.pdf>. Acesso em: 30 set. 2025.

LIU, X.; TONG, X.; JIE, Z.; ZHU, J.; TIAN, L.; SUN, Q.; JU, Y.; ZOU, L.; LU, H.; QIU, X.; LI, Q.; LIAO, Y.; LIAN, H.; ZUO, Y.; CHEN, X.; RAO, W.; REN, Y.; WANG, Y.; ZI, J.; WANG, R.; XU, X.; YANG, H.; WANG, J.; ZONG, Y.; LIU, W.; HOU, Y.; JIN, X.; XIAO, L.; KRISTIANSEN, K.; JIA, H.; ZHANG, T. Sex differences in the oral microbiome, host traits, and their causal relationships. **Cell Press Journal**, v. 26, n. 1, jan. 2023. DOI: 10.1016/j.isci.2022.105839.

MAGOČ, Tanja; SALZBERG, Steven L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 2957-2963, 2011.

MAJHAIL, N. S. *et al.* Indications for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 21, n. 11, p. 1863–1869, nov. 2015. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.07.032.

MASETTI, R. *et al.* Gut microbiota diversity before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as a predictor of mortality in children. **Blood**, v. 142, n. 16, p. 1387–1398, ago. 2023. DOI: 10.1182/blood.2023020026.

MEDEIROS, Giuliana Rosendo de Oliveira. **Resultados de transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas para pacientes com leucemia mielóide crônica que falharam aos inibidores de tirosina-quinase**. 2024. 46 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Interna e Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde, Curitiba, 2024. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/xmlui/handle/1884/88597>. Acesso em: 1 out. 2025.

MESSINA, J. A.; TAN, C. Y.; REN, Y.; HILL, L.; BUSH, A.; LEW, M.; ANDERMANN, T.; PELED, J. U.; GOMES, A.; VAN DEN BRINK, M. R. M.; CHAO, N. J.; SURANA, N. K.; SUNG, A. D. Enterococcus intestinal domination is associated with increased mortality in the acute leukemia chemotherapy population. **Clinical Infectious Diseases**, v. 78, n. 2, p. 414-422, 2021. DOI: 10.1093/cid/ciab1043.

MESSINA, J. A.; JIANG, D.; SELVAN, B.; HILL, L.; BUSH, A.; BOKMAN, J.; ANDERMANN, T.; JOHNSON, E.; CHAO, N.; SURANA, N.; SUNG, A. The impact of mucositis on the oral microbiome and clinical outcomes in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Open Forum Infectious Diseases**, Oxford, v. 10, supl. 2, p. ofad500.366, dez. 2023. DOI: 10.1093/ofid/ofad500.366.

MOHAMMED, L. I.; RAZALI, R.; ZAKARIA, Z. Z.; BENSLIMANE, F. M.; CYPRIAN, F.; AL-ASMAKH, M. Smoking induced salivary microbiome dysbiosis and is correlated with lipid biomarkers. **BMC Oral Health**, London, v. 24, art. 608, 2024. DOI: 10.1186/s12903-024-04340-4.

MOSADDAD, S. A.; TAHMASEBI, E.; YAZDANIAN, A. *et al.* Oral microbial biofilms: an update. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 11, p. 2005–2019, nov. 2019. DOI: 10.1007/s10096-019-03641-9.

MULLISH, B. H. *et al.* Intestinal microbiota transplant prior to allogeneic stem cell transplant (MAST) trial: study protocol for a multicentre, double-blinded, placebo-controlled, phase IIa trial. **BMJ Open**, v. 14, n. 12, p. e093120, dez. 2024. DOI: 10.1136/bmjopen-2024-093120.

MURO, M.; SOGA, Y.; HIGUCHI, T.; KATAOKA, K.; EKUNI, D.; MAEDA, Y.; MORITA, M. Unusual oral mucosal microbiota after hematopoietic cell transplantation with glycopeptide antibiotics: potential association with pathophysiology of oral

mucositis. **Folia Microbiologica (Praha)**, v. 63, n. 5, p. 587–597, 2018. DOI: 10.1007/s12223-018-0596-1.

NAKAGAKI, M.; KENNEDY, G. A.; GAVIN, N. C.; CLAVARINO, A.; WHITFIELD, K. The incidence of severe oral mucositis in patients undergoing different conditioning regimens in haematopoietic stem cell transplantation. **Supportive Care in Cancer**, v. 30, n. 11, p. 9141–9149, 2022. DOI: 10.1007/s00520-022-07328-4.

NICKOLS, W. A. *et al.* **MaAsLin 3**: Refining and extending generalized multivariable linear models for meta-omic association discovery. *bioRxiv*, 2024.

NIEDERWIESER, D.; BALDOMERO, H.; BAZUAYE, N.; BUPP, C. *et al.* One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. **Haematologica**, v. 107, n. 5, p. 1045–1053, 12 ago. 2021. DOI: 10.3324/haematol.2021.279189.

OHBAYASHI, Y.; IMATAKI, O.; TAKEUCHI, A.; SAKAJI, M.; UEMURA, M.; NAKAYAMA-IMAOJJI, H.; TADA, A.; KUWAHARA, T.; MIYAKE, M. Longitudinal dynamics of oral and gut microbiota during hematopoietic stem cell transplantation: detection of oral-associated bacteria in the gut. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology**, [S. l.], 2026. DOI: 10.1016/j.ajoms.2026.01.004.

ORUBA, Z.; GIBAS-STANEK, M.; PIHUT, M.; CZEŚNIKIEWICZ-GUZIŁ, M.; STÓŚ, W. Orthodontic treatment in patients with periodontitis: a narrative literature review. **Australian Dental Journal**, v. 68, n. 4, p. 238-246, dez. 2023. DOI: 10.1111/adj.12974.

OSAKABE, L.; UTSUMI, A.; SAITO, B.; OKAMATSU, Y.; KINOUCI, H.; NAKAMAKI, T.; HIRONAKA, S. Influence of oral anaerobic bacteria on hematopoietic stem cell transplantation patients: oral mucositis and general condition. **Transplantation Proceedings**, v. 49, n. 9, p. 2176–2182, 2017. DOI: 10.1016/j.transproceed.2017.09.012.

OZDEMIR, Z. N.; CIVRIZ BOZDAĞ, S. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Transfusion and Apheresis Science: Official Journal of the World Apheresis Association: Official Journal of the European Society for Haemapheresis**, v. 57, n. 2, p. 163–167, abr. 2018. DOI: 10.1016/j.transci.2018.04.014.

PELED, J. U. *et al.* Microbiota as predictor of mortality in allogeneic hematopoietic-cell transplantation. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 9, p. 822–834, fev. 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa1900623.

PENG, X.; CHENG, L.; YOU, Y. *et al.* Oral microbiota in human systematic diseases. **International Journal of Oral Science**, v. 14, n. 1, p. 14, 2 mar. 2022. DOI: 10.1038/s41368-022-00163-7.

QIAGEN. **Fast DNA Stool Mini Kit**: handbook. Hilden, Alemanha: QIAGEN, [2017]. Disponível em: <https://www.qiagen.com/br/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-fast-dna-stool-mini-kit?catno=51604>. Acesso em: 02 fev. 2026.

RASHIDI, A.; PIDALA, J.; HAMILTON, B. K.; PAVLETIC, S. Z.; KIM, K.; ZEVIN, A.; MAYS, J. W.; LEE, S. J. Oral and gut microbiome alterations in oral chronic GVHD disease: results from close assessment and testing for chronic GVHD (CATCH Study). **Clinical Cancer Research**, v. 30, n. 18, p. 4240-4250, 2024. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-24-0875.

REYES-GIBBY, C. C.; WANG, J.; ZHANG, L.; PETERSON, C. B.; DO, K.-A.; JENQ, R. R.; SHELburne, S.; SHAH, D. P.; CHAMBERS, M. S.; HANNA, E. Y.; YEUNG, S.-C. J.; SHETE, S. Oral microbiome and onset of oral mucositis in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. **Cancer**, v. 126, n. 23, p. 5124-5136, 2020. DOI: 10.1002/cncr.33161.

RIVERO, M.; ALONSO, J.; RAMÓN, M. F.; GONZALES, N.; POZO, A.; MARÍN, I.; NAVASCUÉS, A.; JUANBELTZ, R. Infections due to Cellulosimicrobium species: case report and literature review. **BMC Infectious Diseases**, Londres, v. 19, n. 1, p. 816, 2019. DOI: 10.1186/s12879-019-4440-2.

SALVUCCI, E. The human-microbiome superorganism and its modulation to restore health. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 2019, Vol. 70:7, 781-795, DOI: 10.1080/09637486.2019.1580682.

SHOUVAL, R.; ESHEL, A.; DANYLESKO, I.; DUBOVSKI, B.; FEIN, J. A.; FRIED, S.; GEVA, M.; KOUNIAVSKY, E.; KUPERMAN, A. A.; LOUZOUN, Y.; KOREN, O.; NAGLER, A. Oral mucositis is associated with distinctive patterns of oral microbiota injury in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**, v. 134, supplement 1, p. 3265, 2019. DOI: 10.1182/blood-2019-125433.

SHOUVAL, R.; ESHEL, A.; DUBOVSKI, B.; KUPERMAN, A. A.; DANYLESKO, I.; FEIN, J. A.; FRIED, S.; GEVA, M.; KOUNIAVSKI, E.; NEUMAN, H.; ARMON-OMER, A.; SHAHIEN, R.; MULLER, E.; NOECKER, C.; BORENSTEIN, E.; LOUZOUN, Y.; NAGLER, A.; KOREN, O. Patterns of salivary microbiota injury and oral mucositis in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Blood Advances**, v. 4, n. 13, p. 2912–2917, 14 jul. 2020. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020001827.

SIMIONE, A. J.; SILVA, C. C.; VIGORITO, A. C.; MACEDO, A. V. *et al.* Current use and outcomes of hematopoietic cell transplantation: brazilian summary slides – 2025. **Journal Of Bone Marrow Transplantation And Cellular Therapy**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 259, 2025. DOI: 10.46765/2675-374X.2025v6n1p259.

STEIN-THOERINGER, C. K.; NICHOLS, K. B.; LAZRAK, A.; DOCAMPO, M. D.; SLINGERLAND, A. E.; SLINGERLAND, J. B.; CLURMAN, A. G.; ARMIJO, G.; GOMES, A. L. C.; SHONO, Y.; STAFFAS, A.; *et al.* Lactose drives *Enterococcus* expansion to promote graft-versus-host disease. **Science**, v. 366, n. 6469, p. 1143–1149, 2019. DOI: 10.1126/science.aax3760.

STERN, J.; MILLER, G.; LI, X.; SAXENA, D. Virome and bacteriome: two sides of the same coin. **Current Opinion in Virology**, v. 37, p. 37–43, ago. 2019. DOI: 10.1016/j.coviro.2019.05.007.

SULAIMAN, Y.; PACAUSKIENĖ, I. M.; ŠADZEVIČIENĖ, R.; ANUZYTE, R. Oral and gut microbiota dysbiosis due to periodontitis: systemic implications and links to gastrointestinal cancer: a narrative review. **Medicina**, v. 60, n. 9, p. 1416, 2024. DOI: 10.3390/medicina60091416.

TAKAHASHI, M.; TOYOSAKI, M.; MATSUI, K.; MACHIDA, S.; KIKKAWA, E.; OTA, Y.; KANEKO, A.; OGAWA, Y.; ANDO, K.; ONIZUKA, M. An analysis of oral microbial flora by T-RFLP in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. **International Journal of Hematology**, v. 112, n. 5, p. 690–696, 2020. DOI: 10.1007/s12185-020-02958-y.

TAUR, Y.; XAVIER, J. B.; LIPUMA, L.; UBEDA, C.; GOLDBERG, J.; GOBOURNE, A.; LEE, Y. J.; DUBIN, K. A.; SOCCI, N. D.; VIALE, A.; PERALES, M.-A.; JENQ, R. R.; VAN DEN BRINK, M. R. M.; PAMER, E. G. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell

transplantation. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 7, p. 905-914, 2012. DOI: 10.1093/cid/cis580.

TEAM, R. Core. R development core team. **RA Lang Environ Stat Comput**, v. 55, p. 275-286, 2013.

TEAM, RStudio *et al.* **RStudio**: integrated development for R. RStudio, Inc., Boston, MA, URL <http://www.rstudio.com>, v. 42, p. 14, 2015.

VAN LEEUWEN, S. J. M.; POTTING, C. M. J.; HUYSMANS, M.-C. D. N. J. M.; BLIJLEVEN, N. M. A. Salivary changes before and after hematopoietic stem cell transplantation: a systematic review. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 25, n. 6, p. 1055-1061, 2019. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.01.026.

VAN LEEUWEN, S. J. M.; PROCTOR, G. B.; LAHEIJ, A. M. G. A.; POTTING, C. M. J.; SMITS, O.; BRONKHORST, E. M.; HAZENBERG, M. D.; HAVERMAN, T. M.; BRENNAN, M. T.; VON BÜLTZINGSLOWEN, I.; RABER-DURLACHER, J. E.; HUYSMANS, M.-C. D. N. J. M.; ROZEMA, F. R.; BLIJLEVEN, N. M. A. Significant salivary changes in relation to oral mucositis following autologous hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplantation**, v. 56, n. 6, p. 1381–1390, 2021. DOI: 10.1038/s41409-020-01185-7.

VAN LIER, Y. F.; VOS, J.; BLOM, B.; HAZENBERG, M. D. Allogeneic hematopoietic cell transplantation, the microbiome, and graft-versus-host disease. **Gut Microbes**, v. 15, n. 1, p. 2178805, 2023. DOI: 10.1080/19490976.2023.2178805.

WICKHAM, H.; AVERICK, M.; BRYAN, J.; CHANG, W.; MCGOWAN, L. D. A.; FRANÇOIS, R.; *et al.* Welcome to the Tidyverse. **Journal of Open Source Software**, [S. l.], v. 4, n. 43, p. 1686, 2019. DOI: 10.21105/joss.01686.

WU, R.-Q.; ZHANG, D.-F.; TU, E.; CHEN, Q.-M.; CHEN, W. The mucosal immune system in the oral cavity—an orchestra of T cell diversity. **International Journal of Oral Science**, v. 6, n. 3, p. 125-132, 2014. DOI: 10.1038/ijos.2014.48

WYSOCKA-SŁOWIK, A. *et al.* Oral mucositis in patients with acute myeloid leukemia treated with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in relation to the conditioning used prior to transplantation. **Annals of Hematology**, v. 100, n. 8, p. 2079–2086, ago. 2021. DOI: 10.1007/s00277-021-04568-y.

YUE, X. *et al.* Gut microbiota, microbiota-derived metabolites, and graft-versus-host disease. **Cancer Medicine**, v. 13, n. 3, p. e6799, jan. 2024. DOI: 10.1002/cam4.6799.

ZAURA, E.; KEIJSER, B. J.; HUSE, S. M.; CRIELAARD, W. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities. **BMC Microbiology**, v. 9, p. 259, 2009. DOI: 10.1186/1471-2180-9-259.

ZEISER, R.; BLAZAR, B. R. Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic process, prevention, and therapy. **The New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 22, p. 2167–2179, 30 nov. 2017. DOI: 10.1056/NEJMra1609337.

ANEXO 1

UNESP - INSTITUTO DE
BIOCIÊNCIAS LETRAS E
CIÊNCIAS EXATAS/ CAMPUS
DE SÃO JOSÉ DO RIO
PRETO/IBILCE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização da microbiota oral e intestinal em pacientes submetidos ao transplante alogênico e com doença do enxerto contra o hospedeiro aguda

Pesquisador: Gislane Lelis Vilela de Oliveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 51739721.0.1001.5466

Instituição Proponente: Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas/ Campus de São José do

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.138.190

Apresentação do Projeto:

Não houve alteração.

Objetivo da Pesquisa:

Não houve alteração.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Seguindo recomendação do Comitê, a pesquisadora modificou o texto para que fique claro que há um risco mínimo. Agora, nos documentos constam a seguinte frase: "Há um risco mínimo para os participantes envolvendo a coleta de mucosa oral e fezes, no entanto, se houver qualquer desconforto ou constrangimento, você poderá se recusar a doar as amostras. Para a coleta de sangue, há o risco de aparecimento de hematoma no braço onde a veia for puncionada para a coleta do material, mas a execução do procedimento será realizada por

profissionais treinados para minimizar as chances deste risco. Além disso, há um risco de possível quebra de sigilo entre os membros envolvidos no estudo, mas isto será evitado ao máximo. Todas as amostras coletadas serão devidamente identificadas com códigos/números que representam os pacientes, conforme são recrutados, sequencialmente, para inclusão no estudo."

Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265 - Prédio principal, Ala 1, 1º andar, sala 9.

Bairro: JARDIM NAZARETH

CEP: 15.054-000

UF: SP

Município: SAO JOSE DO RIO PRETO

Telefone: (17)3221-2480

E-mail: cep.ibilce@unesp.br

UNESP - INSTITUTO DE
BIOCIÊNCIAS LETRAS E
CIÊNCIAS EXATAS/ CAMPUS
DE SÃO JOSÉ DO RIO
PRETO/IBILCE



Continuação do Parecer: 5.138.190

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

No documento "Informacoes_Basicas_Projeto_v2.pdf" a fase de recrutamento e coleta de dados clínicos foi modificada para ter início no primeiro semestre de 2022, como consta no projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Seguindo recomendação do Comitê, a linguagem do TALE foi modificada, para facilitar a compreensão. Também foi inserido o TCLE para os pais/responsáveis.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Considero não haver outras pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião ordinária de 24 de novembro de 2021, deliberou, por unanimidade, pela aprovação do presente Projeto de Pesquisa. Os relatórios parciais deverão ser encaminhados semestralmente, contando a partir desta data, bem como o relatório final, conforme modelo em nossa página: <http://www.ibilce.unesp.br/#!/comite/etica-em-pesquisa/relatorio-projeto>

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1806339.pdf	19/10/2021 06:40:36		Aceito
Outros	Informacoes_Basicas_Projeto_v2.pdf	19/10/2021 06:39:29	Alexandre Soares Ferreira Junior	Aceito
Outros	Carta_Resposta_Pendencia_IBILCE_UNESP_2021.pdf	19/10/2021 06:36:38	Alexandre Soares Ferreira Junior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALEv2.pdf	19/10/2021 06:33:43	Alexandre Soares Ferreira Junior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE_Responsaveis.pdf	19/10/2021 06:32:56	Alexandre Soares Ferreira Junior	Aceito

Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265 - Prédio principal, Ala 1, 1º andar, sala 9.
Bairro: JARDIM NAZARETH **CEP:** 15.054-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DO RIO PRETO
Telefone: (17)3221-2480 **E-mail:** cep.ibilce@unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
BIOCIÊNCIAS LETRAS E
CIÊNCIAS EXATAS/ CAMPUS
DE SÃO JOSÉ DO RIO
PRETO/IBILCE**



Continuação do Parecer: 5.138.190

Justificativa de Ausência	TCLE_Responsaveis.pdf	19/10/2021 06:32:56	Alexandre Soares Ferreira Junior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Participantes.pdf	19/10/2021 06:32:44	Alexandre Soares Ferreira Junior	Aceito
Outros	Ficha_Coleta_2.xlsx	04/09/2021 15:39:13	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
Outros	Ficha_Coleta_1.xlsx	04/09/2021 15:38:55	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Hospital_Jau.pdf	04/09/2021 15:37:41	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Hospital_HB.pdf	04/09/2021 15:37:30	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Hospital_Barretos.pdf	04/09/2021 15:37:18	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE.pdf	04/09/2021 15:35:55	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	04/09/2021 15:35:45	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Microbiota_GvHD_Gislane_2021.pdf	04/09/2021 15:35:23	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	23/08/2021 06:54:36	Gislane Lelis Vilela de Oliveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DO RIO PRETO, 01 de Dezembro de 2021

Assinado por:
LAURO MAIA AMORIM
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265 - Prédio principal, Ala 1, 1º andar, sala 9.
Bairro: JARDIM NAZARETH **CEP:** 15.054-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DO RIO PRETO
Telefone: (17)3221-2480 **E-mail:** cep.ibilce@unesp.br

ANEXO 2

ros - Caracterização da microbiota oral e intestinal em pacientes submetidos ao transplante alogênico e com doença do enxerto contra o hospedeiro aguda

Page 1

Ficha 1 - Dados Sociodemograficos

Record ID	
Numero do prontuario	
Nome	
Qual centro o paciente pertence	☐ FAMERP ☐ Fundacao Amaral Carvalho de Jau ☐ Hospital de Cancer de Barretos ☐ Hospital Israelita Albert Einstein ☐ Beneficência Portuguesa ☐ Outros
Peso (Kg)	
Altura (cm)	
IMC	
Tabagista	☐ Nao ☐ Sim ☐ Ex-tabagista ☐ Ignorado
Data de nascimento	
Idade	
Estado civil	☐ Indefinido ☐ Separado ☐ Divorciado ☐ Casado ☐ Solteiro ☐ Viuvo ☐ Uniao estavel ☐ Outro ☐ Ignorado
Se outro estado civil, detalhar	

Cor	☐ Indefinido ☐ Branco ☐ Negro ☐ Amarelo ☐ Pardo ☐ Indigena ☐ Cafuzo ☐ Outro ☐ Ignorado
Se outa raca/cor, detalhar	
Grau de instrucao	☐ Indefinido ☐ Analfabeto ☐ Primeiro grau incompleto ☐ Primeiro grau completo ☐ Segundo grau incompleto ☐ Segundo grau completo ☐ Superior incompleto ☐ Superior completo ☐ Pos graduacao incompleto ☐ Pos graduacao completo ☐ Ignorado
Sexo	☐ Feminino ☐ Masculino

Ficha 2 - Doenças de Base e Transplante

Record ID	
Comorbidades	☐ HAS ☐ DM ☐ DRC ☐ IAM previo ☐ AVE previo ☐ Outras
Se outras comorbidades, detalhar	
Descrever Indicação TMO	(Descrever 99 - Ignorado)
Doença de Base	☐ Maligna ☐ Benigna
Data do diagnóstico da doença que indicou TMO	
Tratamento/ Profilaxia Bucal Pre-TMO	☐ Não ☐ Sim ☐ Ignorado
Condicionamento	☐ Sem TBI ☐ Com TBI
Tipo de Condicionamento	☐ Mieloablativo ☐ Intensidade reduzida ☐ Não mieloablativo ☐ Outros
Descrever Regime de Condicionamento	
Fonte das Células	☐ Sangue Periférico ☐ Medula Óssea ☐ Outras
Se outras, descrever	
Sexo do Doador	☐ Masculino ☐ Feminino ☐ Ignorado

Tipo de Transplante e Compatibilidade HLA
(Descrever)

- ☐ MRD (Matched Related Donor ou Aparentado full match)
- ☐ MUD (Matched Unrelated Donor ou Não aparentado 10/10)
- ☐ Haploidentico
- ☐ MMUD (Mismatch Unrelated Donor ou Nao aparentado com mismatch - normalmente 9/10)
- ☐ Aparentado com mismatch HLA entre 5 e 10
- ☐ Outros

Se outros, descreva

Data do transplante (dia de infusao das celulas - DO)

Ficha 3 - Complicações do Transplante

Record ID	
CMV antes do transplante (considerer como positivo se o paciente possui qualquer teste positivo antes do início do transplante)	☐ Negativo ☐ Positivo ☐ Ignorado
Data do CMV positivo	
CMV depois do transplante (durante follow-up do estudo)	☐ Negativo ☐ Positivo ☐ Ignorado
Data do CMV positivo	
Antibióticos usados durante o TMO(somente aqueles do D-7 até o D+90)	
	((Listar nome e data de uso))
Uso de probiótico durante TMO	☐ Não ☐ Sim ☐ Ignorado
Se sim, especificar	
Mucosite durante TMO	☐ Não ☐ Sim ☐ Ignorado
Terapia usado para mucosite durante TMO	
Complicações TMO	☐ Neutropenia Febril ☐ Colite Neutropênica ☐ Falha de Enxertia ☐ Doença Veno-Oclusiva Hepática ☐ Microangiopatia Trombótica (MAT/TMA) associado ao transplante ☐ Outra
Se outra, descrever	
Recaída durante os 180 dias de acompanhamento	☐ Não ☐ Sim
Se sim, especificar data de recaída	

Infecção após TMO	☐ Pneumonia ☐ TGI ☐ ICS ☐ Trato urinário ☐ Meningoencefalite ☐ Partes moles e pele ☐ Outras
Se outra, especificar	
Culturas positivas em vigência da infecção	☐ Não ☐ Sim
Quantidade de Culturas Positivas	☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever germe	
Se sim, descrever data	
Reativação de CMV durante o TMO	☐ Não ☐ Sim

Profilaxia de DECH	☐ Ciclosporina ☐ MTX ☐ ATG ☐ Outro
Se outro, descreva	_____
Obito ate 180 apor TMO	☐ Nao ☐ Sim
Se sim, descreva a data do obito	_____
Se sim, descreva a causa do obito	_____

Ficha 4 - Informações Relacionados ao DECH

Record ID	
Paciente apresentou DECH durante Follow-up	☐ Não ☐ Sim
Data do diagnostico de DECH	
Orgaos Acometidos pelo DECH ate Terminio de Follow-Up	☐ Pele ☐ TGI ☐ Fígado
Manifestacoes	☐ Febre ☐ Rash ☐ Diarreia ☐ Nauseas ou vomitos ☐ Icterícia ☐ Anorexia ☐ Dor abdominal ☐ Ascite
Grau de Acometimento Cutaneo (Por favor, coloque o pior resultado de todas as avaliacoes realizadas ao longo do follow-up do paciente)	☐ < 25% de superficie corporal ☐ 25 a 50% da superficie corporal ☐ Eritoderma generalizado ☐ Eritoderma generalizado associado a bolhas e descamacao ☐ Sem acometimento cutaneo
Grau de Acometimento TGI (Por favor, coloque o pior resultado de todas as avaliacoes realizadas ao longo do follow-up do paciente)	☐ Diarreia >30ml/kg ou >500ml/dia ☐ Diarreia >60ml/kg ou >1000ml/dia ☐ Diarreia >90ml/kg ou >1500ml/dia ☐ Diarreia >90ml/kg ou >2000ml/dia ou dor abdominal severa sem ileo ☐ Sem Diarreia
Grau de Acometimento Hepatico (Por favor, coloque o pior resultado de todas as avaliacoes realizadas ao longo do follow-up do paciente)	☐ BT 2 a 3 ☐ BT 3.1 a 6.0 ☐ BT 6.1 a 15.0 ☐ BT>15 ☐ Sem acometimento hepatico
Escore de Glucksberg disponivel na instituicao	☐ Não ☐ Sim
Escore Glucksberg (Por favor, coloque o pior resultado de todas as avaliacoes realizadas ao longo do follow-up do paciente)	☐ Acometimento de pele grau 1 ou 2; sem acometimento hepatico/TGI; ECOG PS 0 ☐ Acometimento de pele grau 1 a 3; acometimento grau 1 hepatico ou TGI; ECOG PS 1 ☐ Acometimento de pele, hepatico ou TGI grau 2 ou 3; ECOG PS2 ☐ Acometimento de pele grau 1 a 4; acometimento hepatico/TGI grau 2 a 4; ECOG PS3

Escore Magic (Por favor, coloque o pior resultado de todas as avaliacoes realizadas ao longo do follow-up do paciente)	☐ Grau 0 ☐ Grau 1 ☐ Grau 2 ☐ Grau 3 ☐ Grau 4
Tratamento	☐ Corticoides Topicos ☐ Corticoides Sistemicos ☐ Octreotide
Refratario a Corticoide (Progressao do Quadro apos 3 dias de corticoide e ausencia de melhora dos sintomas apos 7 dias de corticoide)	☐ Nao ☐ Sim ☐ Ignorado
Tratamento de Segunda Linha	(Descrever)