

EDNA APARECIDA FERRAZ DE ARAUJO NAVAS

**PREVALÊNCIA DE MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE
SUPERINFECTANTES NA CAVIDADE BUCAL DE
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**



2009

EDNA APARECIDA FERRAZ DE ARAUJO NAVAS

**PREVALÊNCIA DE MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE
SUPERINFECTANTES NA CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES COM
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Microbiologia / Imunologia.

Orientadora: Prof^a. Adj. Cristiane Yumi Koga Ito
Co-orientadora: Prof^a. Tit. Emília Inoue Sato

São José dos Campos

2009

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da FOSJC. São José dos Campos: FOSJC/UNESP; 2008.

Navas, Edna Aparecida Ferraz de Araujo.

Prevalência de microrganismos potencialmente superinfectantes na cavidade bucal de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico / Edna Aparecida Ferraz de Araujo Navas. São José dos Campos-SP, 2009.

78fl.

Tese (Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista-UNESP

Orientadora: Prof^a. Adj. Cristiane Yumi Koga Ito.

Co-orientadora: Prof^a.Tit. Emília Inoue Sato

1.Lúpus Eritematoso Sistêmico. 2.Oportunistas. 3. Imunossupressores. 4. SLEDAI. I. Koga Ito, Cristiane Yumi. II. Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista-UNESP. São José dos Campos-SP

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 15 de outubro de 2009.

Assinatura:

Email: edna.navas@vivax.com.br

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Adj. Cristiane Yumi Koga Ito (Orientadora)

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-
Universidade Estadual Paulista-UNESP

Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-
Universidade Estadual Paulista-UNESP

Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Rodrigues Querido

Faculdade de Pindamonhangaba-FAPI

Prof^a. Dr^a. Célia Regina Gonçalves e Silva

Faculdade de Medicina de Taubaté
Universidade de Taubaté - UNITAU

Prof^a. Dr^a. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-
Universidade Estadual Paulista-UNESP

São José dos Campos, 23 de novembro de 2009.

DEDICATÓRIA

Aos pacientes portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico, que apesar de todo o seu sofrimento, colaboraram com muita generosidade para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", na pessoa do Diretor da Faculdade de Odontologia de S. J. dos Campos, Prof. Adj. José Roberto Rodrigues e do vice-diretor Prof. Dr. Carlos Augusto Pavanelli.

À Prof^a. Adj. Rosilene Fernandes da Rocha, vice-coordenadora do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, pela competência e dedicação com que administra este curso, pelo apoio e amizade;

A todos os Profs. do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, especialmente à Prof^a. Dr^a. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão, que com carinho me recebeu logo no início deste curso;

À FAPESP (Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo) Processo número 2007/59980-3, pelo auxílio à pesquisa;

Ao Sr. Carlos Guedes, pela grande colaboração referente ao Processo FAPESP;

Ao Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge que me acolheu de braços abertos no Laboratório de Microbiologia desta Instituição de Ensino.

À Prof^a. Dr^a. Juliana Campos Junqueira e à Prof^a. Dr^a. Luciane Dias de Oliveira, da Disciplina de Microbiologia e do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal desta Universidade, pela colaboração e amizade sempre com palavras de apoio e estímulo;

Ao Prof. Ivan Balducci da Disciplina de Bioestatística do Departamento de Odontologia Social da Faculdade de Odontologia de São José dos

Campos, pela valiosa e paciente colaboração na elaboração da análise estatística;

À Prof^a. Tit. Dra. Emília Inoue Sato do Departamento de Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, que com muita competência co-orientou este trabalho;

À Dr^a. Ivone Meinão e aos demais médicos e residentes do Departamento de Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo, que me receberam durante o período de coletas;

Ao Prof. Tit. Francisco Gorgônio da Nóbrega, pela viabilização da identificação das cepas de *C. dubliniensis* no laboratório de genomas;

Ao amigo e colega de Pós-graduação Daniel Freitas, que com toda competência, dedicação e carinho realizou o exame intra-bucal dos pacientes, contribuindo de forma decisiva na execução deste trabalho, devo muito a ele;

Aos colegas da Pós-graduação, Bruno, Ana Carolina, Emanuele, Simone, Vanessa, Martha e Roselene pelos laços de amizade estabelecidos pelo convívio diário, particularmente Graziela Nuernberg Back Brito que cedeu parte das amostras do grupo controle e a Guilherme Rodrigues Teodoro pela grande colaboração na realização deste trabalho;

À amiga Prof^a. Dr^a. Fernanda Lourenção Brighenti, que apesar do pouco tempo de convívio já demonstrou o valor de uma grande amizade;

Aos alunos de Iniciação Científica, particularmente Jussimara Akemi Ishikawa, bolsista FAPESP, que muito me auxiliou neste projeto;

À assistente administrativa, Sílvia Scarpel, pela formatação da estrutura do trabalho final;

Às secretárias da Seção de Pós-Graduação Rosemary de Fátima Salgado, Erena Michie Hasegawa, Maria Aparecida Consiglio de Souza e Lílian Faria das Graças, pela atenção dispensada;

À Sivana, Maria das Dores Nogueira e demais funcionários da biblioteca pela imensa atenção e paciência na busca de artigos e literatura;

À Ana Paula, funcionária do laboratório da Disciplina de Microbiologia e Imunologia desta Universidade;

Aos técnicos de laboratório Sérgio Giovani Alves e Domingos Gonçalves Pontes, funcionários da Disciplina de Microbiologia e Imunologia desta Universidade, que sempre com boa vontade me atenderam, muito me ajudando neste trabalho;

Aos amigos pessoais que sempre me incentivaram;

À Vivian, meu braço direito, que há tantos anos cuida de tudo em casa;

Aos pacientes portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico, que embora todo o sofrimento da doença, sempre colaboraram gentilmente para a realização deste trabalho;

À minha família, especialmente meu marido Gilson Pereira Maria Navas e minha filha Lívia Maria de Araujo Navas, que efetivamente foram toda a força, incentivo e apoio que precisei para a realização deste trabalho, que sempre entenderam as ausências e de onde sempre recebi estímulo e encorajamento, sem eles nada teria conseguido;

Muito especialmente à minha orientadora Prof^a. Adj. Cristiane Yumi Koga Ito, pela grande competência com que orientou este trabalho, pelos laços de amizade formados durante estes anos de convívio e trabalho, sempre com palavras de encorajamento e estímulo, minha grande admiração, respeito e profunda estima;

A meus pais Geraldina Silva Araujo e Benedito Ferraz de Araujo que, de onde estão certamente sentem-se orgulhosos neste momento,

A Deus, fonte de toda a Sabedoria;

MUITO OBRIGADA!

LISTA DE ABREVIATURAS

aids = *acquired immunodeficiency syndrome*

AAN = anticorpo anti-núcleo

ANOVA = análise de variância

ATCC = *American Type Culture Collection*

C3 = proteína 3 do Sistema Complemento

C4 = proteína 4 do Sistema Complemento

CPO-D = Índice – número de dentes cariados, perdidos ou obturados

DNA = ácido desoxirribonucleico

HIV = *Human Immunodeficiency Virus*

LES = Lúpus Eritematoso Sistêmico

MSSA = *Staphylococcus aureus* Meticilina Sensível

MRSA = *Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente

ml = mililitro

M = molar

mg = miligrama

NaCl = Cloreto de Sódio

PBS = tampão fosfato

pH = potencial hidrogeniônico

PCR = reação em cadeia polimerase

RNA = ácido ribonucléico

SLEDAI = *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*

ssp. = espécies

UFC = unidades formadoras de colônia

Xg = vezes gravidade

SUMÁRIO

RESUMO	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico	14
2.2 Microbiota bucal	20
3 PROPOSIÇÃO	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Seleção dos pacientes	26
4.1.1 Aspectos éticos	26
4.1.2 Critérios de inclusão	26
4.1.3 Critérios de não inclusão.....	27
4.2 Anamnese e exame clínico	27
4.3 Avaliação do fluxo salivar	28
4.4 Coleta das amostras	28
4.5 Processamento das amostras	29
4.6 Identificação dos isolados de <i>Candida</i> spp.	30
4.7 Identificação dos isolados de Enterobactérias e <i>Pseudomonas</i> spp.	30
4.8 Identificação dos isolados de <i>Staphylococcus</i> spp.	30
4.9 Análise dos resultados.....	31
5 RESULTADOS	32
5.1 Gênero <i>Candida</i>	34
5.2 Gênero <i>Staphylococcus</i>	36
5.3 Enterobactérias e <i>Pseudomonas</i> spp.	37
5.4 Análise dos resultados frente aos parâmetros clínicos	40
5.4.1 Utilização de fármacos imunossupressores	40
5.4.2 Índice de atividade de doença (SLEDAI)	41
5.4.3 Demais variáveis clínicas	42
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	53
8 REFERÊNCIAS	55
ANEXOS	64
APÊNDICES	75
ABSTRACT	78

Navas EAFA. Prevalência de microrganismos potencialmente superinfectantes na cavidade bucal de pacientes com Lúpus Eritematoso sistêmico [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2009.

RESUMO

Considerando-se que pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico são submetidos a tratamento com corticosteróides e imunossupressores, podemos concluir que esta condição pode interferir na presença de microrganismos potencialmente oportunistas na cavidade bucal. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida*, estafilococos, enterobactérias e *Pseudomonas* spp. na cavidade bucal de pacientes com LES comparando os resultados com indivíduos controle. Desta forma, foram selecionados 40 pacientes com idades entre 19 e 53 anos com LES e que estavam em tratamento por no mínimo 60 dias. Para o grupo controle foram selecionados 40 indivíduos sistemicamente saudáveis com perfil semelhante (quanto à idade, gênero e condições bucais) aos pacientes do grupo em estudo. Não foram incluídos pacientes diabéticos, portadores de próteses bucais totais e outras doenças sistêmicas e que estavam sob terapia com medicamentos que pudessem interferir com as condições bucais. Foram realizados anamnese, exame clínico e coleta de enxágüe bucal de cada paciente. A amostra de enxágüe bucal foi semeada em meios de cultura específicos para cada microrganismo e após período de incubação foram realizadas contagens de unidades formadoras de colônia (UFC), obtendo-se o número de UFC/mL. A partir dos isolados obtidos, foram realizadas provas de identificação a fim de caracterizar as espécies dos gêneros em estudo. As contagens de microrganismos foram comparadas entre os grupos LES e controle por ANOVA, Mann Whitney (5%). Contagens de microrganismos em indivíduos sob tratamento com fármacos imunossupressores ou não e atividade positiva ou negativa da doença (SLEDAI) também foram comparadas. Não foram observadas diferenças significativas nas contagens de microrganismos entre os grupos em estudo (leveduras, $p=0,55$; estafilococos, $p=0,24$; enterobactérias/*Pseudomonas* spp., $p=0,26$). Não foram observadas diferenças nas contagens de microrganismos relacionadas aos parâmetros clínicos testados. Maior prevalência de *Candida albicans* e *Staphylococcus epidermidis* foi observada nos grupos LES e controle. *Klebsiella oxytoca* foi a espécie mais frequentemente observada no grupo LES e *Enterobacter cloacae* no grupo controle

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico. Superinfectantes. Imunossupressores. SLEDAI.

1 INTRODUÇÃO

De causa ainda desconhecida e natureza auto-imune, Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é doença inflamatória crônica, que acomete vários órgãos ou sistemas, caracterizada por uma grande quantidade de auto-anticorpos, particularmente dirigidos contra constituintes nucleares (Janeway et al., 2002; Sato, 2004). A incidência da doença em estudos internacionais realizados nas últimas décadas tem variado de 3,7 a 5,5 por 100 mil habitantes. Frequentemente aparece na segunda e terceira décadas de vida (Wunder, 2001, Janeway Junior et al., 2002). Cerca de 90% dos casos de LES ocorrem em mulheres (Sato, 2004; Zandman- Goddard et al., 2009).

Fluxo salivar é importante na prevenção da colonização bucal por *Candida* spp., lactobacilos, *Streptococcus mutans* e Enterobactérias (Kindelan et al, 1998; Jensen et al, 1999; Almstahl; Wikstrom, 1999). Pacientes com LES tem o fluxo salivar significativamente menor em relação a indivíduos controle segundo Ben-Aryeh et al. (1993). Enterobactérias, estafilococos e leveduras são considerados microrganismos potencialmente oportunistas e podem ser encontrados na saliva e mucosas bucais (Slots et al., 1988; Rams et al., 1990). Reservatórios bucais destes microrganismos podem causar doenças e comprometer a vida de pacientes debilitados ou imunocomprometidos, podendo causar infecções sistêmicas, uma vez que a cavidade bucal representa uma porta de entrada para estas infecções (Jobbins et al., 1992; Dahlén, 1993; Senpuku et al., 2003; Parahitiyawa et al., 2009).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida*, estafilococos, enterobactérias e *Pseudomonas* spp. na cavidade bucal destes pacientes comparando os resultados com indivíduos controle.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico

Hipócrates (460-375 DC) foi o primeiro a descrever as lesões cutâneas relacionadas ao lúpus eritematoso sistêmico. O termo foi empregado inicialmente por Roger Frugardi no ano de 1230, mas somente documentado no décimo século. A doença foi considerada exclusivamente de interesse dermatológico, os primeiros a descrever o envolvimento sistêmico e visceral foram Moriz Kohn Kaposi e William Osler com a publicação de 29 casos diagnosticados como lúpus (Smith; Cyr, 1988; Rampudda et al., 2009).

Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é doença inflamatória crônica de origem auto-imune, multifatorial, que acomete vários órgãos ou sistemas, caracterizada por uma grande quantidade de auto-anticorpos, particularmente dirigidos contra constituintes nucleares. Estes anticorpos participam da lesão tecidual imunologicamente mediada. A somatória de diversos fatores como hormonal, ambiental e infeccioso em indivíduos com predisposição genética, leva à perda de tolerância imunológica e o desencadeamento da doença (Wardle, 2009). Com um variado espectro de apresentação clínica, a evolução pode ser aguda ou de forma insidiosa, crônica e recorrente. Cursa com períodos em que a doença está ativa e períodos em que a doença está inativa e o comprometimento de diversos órgãos ou sistemas pode ocorrer de forma simultânea ou seqüencial (Fabbri et al, 2003; Mattew et al, 2004; Sato et al, 2004; Pettigrew et al, 2009; Froy, Sthoeger, 2009; Quadrelli et al, 2009; Hak et al. 2009; Vera-Recabarren et al, 2009; Zandman-Goddard et al, 2009; Wardle, 2009).

LES é de distribuição universal. A incidência da doença em estudos internacionais realizados nas últimas décadas tem variado de 3,7 a 5,5 por 100.000 habitantes. O único estudo epidemiológico realizado no Brasil revelou prevalência de 8,7 por 100.000 habitantes na cidade de Natal (RN) no ano de 2000 (Vilar et al., 2002).

Freqüentemente o LES aparece na segunda e terceira décadas, podendo se manifestar em qualquer idade, sendo menos freqüente antes da puberdade e após menopausa, refletindo a influência dos estrógenos na sua fisiopatogenia (Wunder, 2001; Janeway Junior et al., 2002). Cerca de 90% dos casos de LES ocorrem em mulheres (Sato et al., 1991; Sato, 2004; Bezerra et al., 2005).

A etiologia do LES provavelmente é multifatorial, envolvendo predisposição genética e fatores ambientais (Wunder, 2001; Sato, 2004). O grande número de auto-anticorpos nos pacientes com LES demonstram uma deficiência dos mecanismos reguladores que suprimem a auto-imunidade. É caracterizado pela presença de anticorpos contra antígenos que são abundantes em todas as células do corpo, assim como anticorpos anti-cromatina e anticorpos contra proteínas do complexo de processamento do RNA mensageiro dentro da célula (Janeway Junior et al., 2002). Os mecanismos de lesão tecidual no LES são na maior parte devidos a reações de hipersensibilidade. As teorias atuais sugerem que as anormalidades imunológicas no LES são primariamente geneticamente determinadas e que as infecções virais poderiam levar ao surgimento de auto-anticorpos. Fatores ambientais como drogas (procainamida, hidralazina), radiação ultravioleta (luz solar), agentes microbianos (vírus Epstein Barr), assim como influências hormonais (aumento da relação estrógeno/andrógeno) também podem atuar no desencadeamento ou potencialização de auto-imunidade no LES (Sato et al, 1991; Sato et al, 2004; Zandman-Goddard et al, 2009; Wardle, 2009; Froy, 2009).

Assim, as evidências sugerem que o LES resulte de um estado em que há uma acentuada resposta imune contra antígenos

próprios, determinada por defeitos em genes reguladores e potencializada ou modulada por fatores virais, hormonais ou ambientais e estresse emocional. Além disso, deficiência na depuração de material originário da apoptose celular também parece ser um dos fatores que colaboram para o desenvolvimento da auto-imunidade. A deficiente depuração de imunocomplexos, por outro lado, favorece a resposta inflamatória nos órgãos afetados. Basicamente, há perda da tolerância imunológica, com ativação policlonal de linfócitos B, produção de auto-anticorpos e falha nos mecanismos supressores e de regulação imunológica (Sato, 2004; Pettigrew et al., 2009).

As manifestações clínicas mais comuns no LES em fase ativa da doença são mal-estar, fadiga, perda de peso e febre acompanhados de dor articular, usualmente envolvendo mãos e punhos, mas também grandes articulações (92%); erupções de pele, incluindo o eritema em asa de borboleta (72%); alterações renais, incluindo hematuria, proteinúria, hipertensão e síndrome nefrótica (60%); efusões pleurais (50%), anormalidades cardiopulmonares, incluindo sintomas e sinais de pericardite e pleuritis (50%), manifestações neurológicas (25%) e alterações hematológicas com anemia hemolítica, leucopenia, linfopenia (50%) incluindo plaquetopenia em menos de 10% dos casos (Sato et al., 1991; Wunder, 2001; Bezerra et al., 2005).

O curso da doença é variável e quase imprevisível, a atividade da doença é caracterizada por oscilações, com períodos assintomáticos e períodos com a doença ativa. Casos fatais por LES se tornaram menos frequentes por causa dos procedimentos de diálise, melhor tratamento das infecções e do transplante renal (Sato, 1991; Wunder, 2001). Apesar disso, ainda há raros casos agudos que resultam em morte dentro de semanas ou meses. Felizmente, com terapia adequada, a doença, caracteriza-se por fases de agudização e remissão por tempo prolongado. Os ataques agudos são usualmente tratados e controlados com corticosteróides e drogas imunossupressoras. Mesmo

sem tratamento, alguns pacientes podem ter uma evolução benigna com manifestações cutâneo-articulares. A insuficiência renal é a causa mais comum de morte, podendo infecções intercorrentes, insuficiências cardíacas, hemorragias e doenças do sistema nervoso central também contribuir para o óbito (Sato, 2004).

O diagnóstico é baseado principalmente pelas evidências laboratoriais e um conjunto de sinais clínicos (achados isolados não permitem determinar o diagnóstico de LES). Teste de Imunofluorescência Indireta positivo para anticorpos anti-núcleo (AAN) é encontrado em mais de 95% dos casos, mas este resultado não é específico para a doença e também pode ser encontrado em artrite reumatóide, esclerodermia, Síndrome de Sjögren e até mesmo em indivíduos saudáveis (Vera-Recabarren et al., 2009; Froy, Sthoeger, 2009; Pettigrew et al., 2009; Alessandri et al., 2009). Em particular, os anticorpos anti-DNA, antinucleossomo, anti-Sm e anti P-ribossomal são considerados específicos do LES, mas sua sensibilidade é relativamente baixa, menos de 60% dos casos. Portanto, sua ausência não afasta o diagnóstico de LES. Os anticorpos anti-DNA e antinucleossomo tem especial importância, pois, além de serem específicos, estão associados à doença em atividade (Sato, 2004). Fazem parte da avaliação laboratorial do paciente com LES o hemograma e exame de sedimento urinário a creatinina, os níveis de complemento hemolítico total e das frações C3 e C4 (Sato et al, 1991; Sato et al, 2004; Bezerra et al., 2005; Froy, Sthoeger, 2009; Pettigrew et al, 2009; Alessandri et al., 2009).

Mundialmente, utilizam-se os critérios propostos pelo *American College of Rheumatology* para a classificação do LES, modificado em 1982 e 1997. A presença de quatro ou mais desses critérios tem sensibilidade e especificidade de 96%, a seguir (Tan et al., 1982; Hochberg et al., 1997):

- a) lesão discóide;
- b) eritema malar;

- c) artrite não erosiva;
- d) fotossensibilidade;
- e) úlcera de mucosa oral ou nasal;
- f) serosite (pericardite e/ou pleuris);
- g) comprometimento neurológico: psicose ou convulsão;
- h) comprometimento renal: proteinúria maior que 0,5 g/24 horas ou cilindrúria anormal;
- i) comprometimento hematológico: anemia hemolítica, leucopenia inferior a 4.000, linfopenia inferior a 1.500 células/mm³ e/ou plaquetopenia inferior a 100.000;
- j) anticorpo antinuclear positivo;
- l) critério imunológico: presença de anticorpo fosfolípide, anti-Sm e/ou anti-DNA nativo.

O tratamento de LES deve ser individualizado, tem como objetivos prevenir as crises da atividade da doença, tratar as crises quando ocorrerem e diminuir ou evitar os danos a órgãos, assim como evitar as complicações agudas e tardias da doença e do próprio tratamento, dependerá dos órgãos e sistemas acometidos e da gravidade do quadro (Reiko et al., 2008). Quando houver manifestação que não responda a uma droga, pode ser necessário o uso simultâneo de outros medicamentos. Os mais importantes para o controle da atividade da doença são os fármacos antiinflamatórias como o metotrexato, os corticosteróides e imunossupressores azatioprina, micofenolato mofetil, ciclosporina e ciclofosfamida (pulsoterapia) nos casos agudos (Sato et al., 2002; Bezerra et al., 2005).

O tratamento de pacientes com LES deve abordar orientações gerais como a proteção solar, dieta balanceada e rica em cálcio, atividade física regular, eliminação do tabagismo, tratamento da hipertensão arterial e das dislipidemias, orientações sobre a evolução da doença, sendo importante informar que o tratamento adequado, na

grande maioria dos casos, permite uma vida longa, produtiva e de boa qualidade (Sato, 2004; Bezerra et al, 2005).

No Brasil, devido à heterogeneidade do nível de assistência médica oferecida à população, estima-se que a sobrevida também seja muito variável. As causas de óbito nos primeiros cinco anos da doença continuam sendo a sua atividade, principalmente a renal, neurológica e também as infecções intercorrentes. Souza (2007) em seu estudo realizado no Estado de São Paulo, analisando atestados de óbito das últimas duas décadas em que constava LES como causa básica de morte observou que 83% dos óbitos ocorreram antes dos 50 anos de idade, revelando que, infelizmente LES continua sendo uma das causas de óbito principalmente em mulheres jovens.

Dentre a maioria dos pacientes a hipossalivação ou diminuição do fluxo salivar pode ocorrer por inúmeros fatores como o uso de medicamentos, estresse crônico excessivo, radioterapia de cabeça e pescoço, doenças sistêmicas e alterações patológicas das glândulas salivares (Conceição et al., 2006). Relata-se que pacientes com LES têm o fluxo salivar significativamente menor em relação a indivíduos controle (Ben-Aryeh et al., 1993).

Meyer et al. (1997) estudando manifestações bucais em pacientes com LES concluiu que imunodeficiência combinada à terapia de imunossupressão são responsáveis pelas altas taxas de lesões bucais nestes pacientes. Pascual-Ramos et al. (2006) observaram alta prevalência de cáries dentre pacientes portadores de LES hospitalizados com pneumonia.

A xerostomia produz dificuldade na deglutição de alimentos sólidos, uma diminuição na capacidade de degustação, rupturas e fissuras na boca e ressecamento na mucosa oral (Robbins, Cotran, 1983; Wunder, 2001; Janeway Junior et al., 2002).

2.2 Microbiota bucal

O único trabalho sobre a microbiota bucal em pacientes com LES encontrado na literatura foi realizado por Jensen et al. (1999). Os autores relataram que a ocorrência de candidoses não foi elevada nestes pacientes. Foram usados os testes Oricult-N, Dentocult SM e Dentocult LB (Orion Diagnóstica, Finlândia) para determinar a presença de leveduras do gênero *Candida*, *Streptococcus mutans* e lactobacilos encontrando significativo aumento na presença destes microrganismos em pacientes com LES em relação aos controles.

Superinfecções são infecções que dificultam o tratamento de um processo já existente, podendo representar complicação de uma terapia, que alterou a microbiota benéfica, causando desenvolvimento de patógenos residentes prejudiciais ou oportunistas (Van Winkelhoff et al., 1996). Enterobactérias, estafilococos e leveduras são considerados microrganismos potencialmente oportunistas e podem ser encontrados na saliva e mucosas bucais (Slots et al., 1988; Rams et al., 1990). Sua ocorrência na cavidade bucal tem sido associada à antibioticoterapia prolongada, resposta imune deficiente e higiene bucal inadequada (Slots et al., 1990).

Infecções fúngicas na cavidade bucal são frequentemente causadas por *Candida albicans*, mas outras espécies de *Candida* podem frequentemente ser identificadas. Sua prevalência está aumentada principalmente em usuários de próteses odontológicas e idosos, podendo levar a infecções invasivas com altas taxa de mortalidade (Ten Cate et al., 2009). A utilização de aparelho ortodôntico pode facilitar a adesão e colonização por *Candida albicans* alterando o equilíbrio ecológico da cavidade bucal e favorecendo a candidose (Hibino et al., 2009). Delgado et al. (2009) detectaram 161 isolados de *Candida* spp. entre 147 de 331 pacientes HIV positivos (44%). A mortalidade causada por *Candida* spp. atingiu o índice de 35 a 60% em infecções nosocomiais, sendo *C.*

albicans responsável por mais de 50% dos casos seguidas por *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* (Sheng-Yuan e Po-Ren, 2009)

Thein et al. (2009) afirmaram que a interação entre espécies de *Candida* ou a interação *Candida* e bactérias parece ser mais complexa do que tem sido reconhecido até agora, causando grandes danos para o hospedeiro. Segundo Bamford et al. (2009), *C. albicans* coloniza a cavidade bucal associada a uma complexa microbiota bacteriana que desempenha importante papel nos processos infecciosos na cavidade bucal. *C. albicans* foi encontrada em 54% de indivíduos submetidos à radioterapia, explicando porque estes pacientes têm um aumento de patologias da cavidade bucal e que a análise microbiológica é necessária no planejamento de cuidados preventivos no tratamento destes pacientes (Almstähl et al., 2008).

A ocorrência de patologias sistêmicas também está relacionada com microrganismos como coliformes e estafilococos coagulase-positivos (Samaranayake et al., 1986; Jobbins et al., 1992). Bacilos entéricos, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. e leveduras foram descritos como oportunistas em infecções na cavidade bucal (Flynn ; Slots, 1993). Dahlén (1993) sugeriu que a presença de patógenos potenciais, como enterobactérias, *S. aureus* e *Candida* spp. deve ser avaliada, especialmente em pacientes com desordens sistêmicas como *diabetes mellitus*, neutropenia, agranulocitose ou AIDS. Reservatórios bucais destes microrganismos podem causar doenças e comprometer a vida de pacientes debilitados ou imunocomprometidos, podendo causar infecções sistêmicas, uma vez que a cavidade bucal representa uma porta de entrada para estas infecções (Jobbins et al., 1992; Dahlén, 1993; Senpuku et al., 2003; Parahitiyawa et al., 2009). Segundo Jones e Munro (2008), bacteremia pode ocorrer até mesmo em população saudável tendo como via de entrada a mucosa bucal.

Algumas espécies do gênero *Staphylococcus* são freqüentemente encontradas como agente etiológico de uma variedade de

infecções humanas e de animais principalmente domésticos (Martins, 2001). *Staphylococcus aureus* é o mais importante patógeno do gênero, relacionado com as infecções humanas, como pneumonia, sepsis, infecções nosocomiais e oportunistas. Jones e Munro (2008) afirmaram que os três microrganismos mais frequentemente associados a infecções nosocomiais são *S. aureus*, estafilococos coagulase-negativos e *Enterococcus* spp.

Apesar de poucos relatos na literatura, estafilococos têm sido freqüentemente isolados da cavidade bucal de crianças, idosos, alguns pacientes terminais, pacientes com doenças reumáticas e hematológicas. Queilite angular, infecções endodônticas, osteomielites na mandíbula, parotidites e mucosites são algumas das infecções que podem ser causadas por *S. aureus* (Jackson et al., 2000; Smith et al., 2001).

Smith et al., (2003) afirmaram que a cavidade bucal é um reservatório de estafilococos potencial para a infecção sistêmica. Foi constatada a presença de *Staphylococcus* spp. em 68% dos indivíduos estudados, sendo que 18% dos isolados foram identificados como *S. aureus* meticilina-resistentes (MRSA), 18% *S. aureus* meticilina-sensíveis (MSSA) e 32% de estafilococos coagulase-negativos de pacientes. Lee et al. (2009) afirmaram que MRSA é um importante patógeno causador de infecções nosocomiais e responsável por consideráveis índices de morbidade e mortalidade no Reino Unido.

Jackson et al. (2000) isolaram *Staphylococcus* spp. da cavidade bucal de 92% de 23 crianças saudáveis. *S. aureus* foram 64% das amostras, sendo que em 69% das crianças também na cavidade nasal. *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos foram isolados de 64% dos pacientes, dentre as quais 16 amostras de *S. epidermidis* e 4 amostras de *S. warneri*. A presença de microrganismos do gênero *Staphylococcus* na cavidade bucal humana foi estudada por Martins (2001) que encontrou 92,85% de indivíduos saudáveis positivos para este

microrganismo. Destes, 63% dos isolados foram coagulase-negativos. Das 24 amostras coagulase-positivas, 11 *S. hyicus*, 9 *S. aureus* e 4 *S. schleiferi* subespécie *coagulans*.

Ohara-Nemoto et al. (2008) isolaram bactérias de 83,9% das amostras de saliva sendo *S. aureus* a espécie mais frequentemente observada (46,4%), seguida por *S. epidermidis* (41,1%) *S. hominis*, *S. warneri*, *S. intermedius*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* e *S. gallinarum*. Os autores sugeriram que infecções na cavidade bucal podem ser uma possível porta de entrada para endocardite infecciosa. Rams et al. (1990) isolaram estafilococos da microbiota subgengival de 50,4% dos pacientes com periodontite crônica.

As bactérias da família Enterobacteriaceae e do gênero *Pseudomonas* pertencem à microbiota intestinal humana normal, porém podem atuar como patógenos oportunistas em larga faixa de infecções humanas (Santos, 2001). Estas bactérias não são consideradas residentes da microbiota bucal humana, entretanto podem colonizá-la em alguns casos, como em indivíduos com doenças debilitantes (Schmidt-Westhausen et al., 1990). Santos e Jorge (1998) encontraram elevada prevalência (51%) de Enterobactérias/*Pseudomonas* spp., na cavidade bucal de pacientes da Região do Vale do Paraíba e que demonstraram resistência a vários agentes antimicrobianos (Santos e Jorge, 1999 e 2000). *Pseudomonas* spp. são também frequentemente relacionadas a patologias bucais (Ledder et al., 2007).

O número de coliformes na cavidade bucal de indivíduos com doenças sistêmicas é significativamente maior do que em indivíduos saudáveis (Samaranayake et al., 1986; Jobbins et al., 1992). Bacilos entéricos e *Pseudomonas* spp. têm sido recuperados da microbiota subgengival e implicados como patógenos em alguns casos de periodontite refratária e em formas agravadas de doença periodontal destrutiva em pacientes com AIDS (Rams et al., 1991). Algumas espécies da família Enterobacteriaceae e do gênero *Pseudomonas* podem agir

como co-fator na periodontite destrutiva, pois eles produzem enzimas e toxinas que podem ser de importância para a destruição dos tecidos da cavidade bucal (Slots et al., 1988). A partir de sítios bucais infectados, estes microrganismos podem atingir a corrente sanguínea e induzir septicemia em pacientes debilitados (Santos, 2001).

A presença de *Candida* spp. e coliformes na cavidade bucal de HIV positivos foi pesquisada por Tsang e Samaranayake (2000), sendo que *C. albicans* foi isolada de 52,1% dos pacientes, *P. aeruginosa* de 15,1% e *E. cloacae* de 9,6% dos indivíduos. Figueiredo et al. (2001) obtiveram 37,8% dos indivíduos HIV-positivos e 34,4% no grupo controle, com amostras positivas para enterobactérias predominando *E. coli* e *K. pneumoniae*.

Considerando-se que pacientes com LES podem apresentar diminuição de fluxo salivar, são submetidos a tratamento com corticosteróides e imunossupressores, podemos inferir que estas condições podem interferir sobremaneira na presença de microrganismos potencialmente superinfectantes na cavidade bucal. Segundo salientado por estudos anteriores, reservatórios bucais de microrganismos podem causar doenças e comprometer a vida de pacientes debilitados ou imunocomprometidos, podendo causar infecções sistêmicas, uma vez que a cavidade oral representa uma porta de entrada para estas doenças. O único estudo encontrado na literatura sobre a microbiota bucal em pacientes com LES relatou resultados sobre a microbiota cariogênica destes pacientes, utilizando *kits* comerciais de *screening* microbiológico. Desta forma, acreditamos que os dados gerados por este estudo podem trazer subsídios importantes para a terapia antibiótica profilática e de tratamento de doenças infecciosas bucais em pacientes com LES.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida*, estafilococos, enterobactérias e *Pseudomonas* spp. na cavidade bucal dos pacientes portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico comparando os resultados com indivíduos sem esta doença.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção de pacientes

4.1.1 Aspectos éticos

A pesquisa foi realizada de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras da pesquisa envolvendo seres humanos, conforme as resoluções 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Os procedimentos descritos não trouxeram dor, desconforto ou risco de espécie alguma ao paciente, que foi conscientizado do intuito da pesquisa e, ao optar por participar do projeto, deu seu consentimento livre e esclarecido (Apêndice A) mediante a assinatura em formulário próprio. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Local da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP (protocolo número 084/2007-PH/CEP) (Anexo E) e do Comitê de Ética Institucional da Universidade Federal de São Paulo (Protocolo CEP 2001/07) (Anexo F).

4.1.2. Critérios de inclusão

Foram incluídos no presente estudo 40 indivíduos, com idade entre 19 e 53 anos, diagnosticados clinicamente como portadores de LES e em tratamento com antiinflamatórios, corticosteróides e/ou imunossupressores por pelo menos 60 dias. Estes pacientes foram

selecionados dentre aqueles diagnosticados de acordo com os critérios estabelecidos pelo *American College of Rheumatology* em tratamento no Setor de Doenças Reumáticas Auto-imunes da Disciplina de Reumatologia, Departamento de Medicina da Universidade Federal de São Paulo.

Para o grupo controle, foram selecionados 40 indivíduos pareados aos pacientes LES quanto à idade, sexo e condições bucais, dentre os pacientes das clínicas da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, obedecendo os critérios de não inclusão.

4.1.3 Critérios de não inclusão

Não foram incluídos indivíduos diabéticos, gestantes, portadores de próteses totais bucais ou outras doenças sistêmicas, fumantes, e que estivessem sob terapia com antidepressivos. Também não foram incluídos indivíduos submetidos à antibioticoterapia ou antifungicoterapia nos últimos 60 dias antecedentes à coleta.

4.2 Anamnese e exame clínico

Foram avaliados durante a realização da anamnese os dados pessoais, as condições de saúde geral e bucal de todos os indivíduos, a dosagem e tempo de tratamento. Foi também realizado exame intra-bucal, pelo mesmo examinador cirurgião-dentista, para avaliação da presença de lesões bucais e determinação do índice CPO-D. Os dados foram anotados em ficha própria. A partir da ficha clínica do paciente, foi levantado também o índice SLEDAI – *Systemic Lupus*

Erythematous Disease Activity Index, índice este que mede a atividade da doença (Mattew et al., 2004) de acordo com a avaliação clínica. Foram também anotadas informações relativas ao protocolo de medicação e dosagem utilizada, contagem de leucócitos, linfócitos e dosagem de creatinina (Apêndice B).

4.3 Avaliação do fluxo salivar

A determinação do fluxo salivar foi realizada de acordo com Krasse (1986), após a coleta do enxágüe bucal. Foi fornecido ao paciente um recipiente esterilizado com graduação de volume e realizada a coleta de saliva estimulada pelo período de 5 minutos. Após este período, foi obtido o valor da produção de saliva em mililitro por minuto (ml/min).

4.4 Coleta das amostras

A coleta de material na cavidade bucal foi realizada por meio de 10 ml de solução fisiológica esterilizada (NaCl a 0,9%) tamponada com fosfato (PBS 0,1 M e pH 7,2) contida em um recipiente universal estéril descartável. Os indivíduos realizaram bochecho com a solução durante um minuto, devolvendo em seguida a solução para o mesmo recipiente. Os recipientes foram mantidos em uma bolsa térmica com gelo até serem transportados para o laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, onde foi realizada a pesquisa, respeitando-se o período máximo de 3 horas entre a coleta e o processamento das amostras.

4.5 Processamento das amostras

As amostras de enxágüe bucal foram centrifugadas por 10 minutos, a 8000 xg e o sobrenadante foi descartado. O depósito foi ressuspenso em 2,5 ml de PBS e misturado em agitador de tubos (vortex) por 30 segundos, produzindo assim a suspensão de concentração final. De cada amostra de concentração final foi semeado 0,1 ml em duplicata em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco) acrescido de 0,1mg/ml de meio de cloranfenicol (União Química Farmacêutica Nacional SA), ágar Manitol (Difco) e ágar MacConkey (Difco). As placas foram incubadas a 37°C por um período de 48 horas e mais 5 dias para Sabouraud dextrose cloranfenicol à temperatura ambiente nas placas que não apresentaram crescimento. A alíquota excedente de enxágüe bucal foi esterilizada e descartada.

Após o crescimento, as colônias foram examinadas quanto às características morfológicas (tamanho, forma, superfície) e contadas. Foram realizados esfregaços em lâminas e corados pelo método de Gram para cada colônia com morfologia diferente.

Para obtenção de culturas puras as colônias sugestivas de leveduras foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose inclinado e incubadas por 24 horas a 37°C; as colônias de cocos Gram-positivos e bacilos negativos foram semeadas em gelose e incubadas por 24 horas a 37°C. Após o crescimento, os tubos foram armazenados para posterior identificação.

4.6 Identificação dos isolados de *Candida* spp.

As culturas obtidas foram novamente semeadas em ágar Sabouraud dextrose e incubadas por 24 horas a 37°C. Para a identificação foi utilizado o sistema API 20 C AUX (*Bio-Merieux*, França). Para a identificação definitiva de *C. dubliniensis*, as amostras previamente identificadas como *C. albicans* ou *C. dubliniensis* foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR), de acordo com a metodologia proposta por Donnelly et al. (1999) e Mähneß et al. (2005).

4.7 Identificação dos isolados de Enterobactérias e *Pseudomonas* spp.

As culturas puras foram novamente semeadas em ágar MacConkey e incubadas por 24 horas a 37°C, e em seguida identificadas utilizando-se o sistema API 20 E - *Bio-Merieux*, França.

4.8 Identificação dos isolados de *Staphylococcus* spp.

Os isolados de estafilococos foram semeados em ágar manitol e incubados a 37°C por 24 horas. A identificação foi realizada pelo Sistema API Staph (*Bio-Merieux*, França).

4.9 Análise dos resultados

As contagens de microrganismos nos grupos LES e controle foram comparadas estatisticamente por ANOVA, teste de Mann-Whitney, com nível de significância 5%.

Os pacientes foram divididos em: SLEDAI igual a zero (nenhuma atividade da doença) e SLEDAI maior ou igual a 4 (doença em atividade). Foram formados grupos equilibrados quantitativamente descartando os valores intermediários de SLEDAI (1 a 3) por expressarem pouca atividade da doença e que poderiam confundir a interpretação dos resultados. Os resultados de contagem de microrganismos foram comparados entre os grupos por ANOVA, teste de Mann-Whitney, com nível de significância 5%.

Com o objetivo de comparar os resultados, os pacientes foram divididos em dois grupos: sob tratamento com medicação imunossupressora e tratamento sem medicação imunossupressora. Os resultados de contagem de microrganismos destes grupos foram comparados por ANOVA, teste de Mann-Whitney, com nível de significância 5%.

5 RESULTADOS

A partir da avaliação e triagem de 300 indivíduos segundo os critérios de inclusão e não-inclusão, foram coletadas amostras de 40 indivíduos do gênero feminino portadores de lúpus eritematoso sistêmico (LES), com idade variando entre 19 e 53 anos, média de 36 anos \pm 2, em tratamento de acordo com a avaliação clínica. O exame intra-bucal foi realizado, pelo mesmo examinador, para avaliação de CPOD e presença de lesões. Foi observada a presença de uma lesão bucal sugestiva de leucoplasia. O CPOD variou de 3 a 18 com média 10 e o fluxo salivar variou de 0,4 a 4,6 ml/min com média de 1,9 ml/min. Em nosso estudo 27 pacientes (67,5%) apresentaram fluxo salivar normal (entre 1,5 e 3,0 ml/min), 3 (7,5%) sialorréia (acima de 3,0 ml/min), 3 (7,5%) hipossalivação leve (entre 1,05 e 1,45 ml/min), 4 (10%) hipossalivação moderada (entre 0,55 e 1,0 ml/min), 3 (7,5%) hipossalivação severa (entre 0,05 e 0,5 ml/min). Os dados Individuais referentes aos pacientes do grupo LES estão representados no Anexo A.

Simultaneamente foram coletadas amostras de 40 indivíduos do grupo controle com idade variando entre 19 e 55 anos, com média de 33 anos \pm 2. Os dados individuais referentes aos pacientes do grupo controle estão representados no Anexo B.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores de UFC/ml obtidos no grupo LES e Controle para *Candida* spp. ($p=0,5496 > 0,05$), *Staphylococcus* spp. ($p=0,2391 > 0,05$) e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. ($p=0,2589 > 0,05$).

Os dados obtidos para as contagens de *Candida* spp., *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. nos grupos estudados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Estatística descritiva dos dados obtidos para contagens de *Candida* spp., *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. nos grupos lúpus eritematoso sistêmico (LES) e Controle (valores em UFC/ml)

	<i>Candida</i> spp.		<i>Staphylococcus</i> spp.		Enterobactérias/ <i>Pseudomonas</i> spp.	
	LES	Controle	LES	Controle	LES	Controle
Mínimo	0	0	0	0	0,0	0
Percentual 25%	0	0	63	50	0,0	0
Mediana	10	0	563	350	0,0	19
Percentual 75%	463	185	3944	1022	175,0	488
Máximo	42950	4400	49275	21250	2425,0	50000
Média	1964	414	3312	1294	316,7	3144
Desvio padrão	7088	900	8189	3476	631,7	10478

Na figura 1 estão representados os valores de medianas e desvios-padrão de UFC/ml obtidos nos grupos LES e controles para leveduras do gênero *Candida*, estafilococos e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp.

Os dados individuais de contagens de microrganismos e espécies identificadas estão apresentados nos anexos C e D.

Tabela 2 - Distribuição porcentual de indivíduos positivos e negativos para levedura do gênero *Candida* nos grupos LES e controle

	LES		Controle	
	n	%	n	%
Positivos	20	50	18	45
Negativos	20	50	22	55
Total	40	100	40	100

Foi obtido, um total de 66 isolados de leveduras, das quais 30 das amostras foram coletadas do grupo LES e 36 do grupo controle. A Tabela 3 demonstra as espécies isoladas e identificadas em cada grupo. Observa-se que em ambos os grupos *C. albicans* foi a espécie mais frequentemente identificada.

Tabela 3 – Espécies de *Candida* isoladas e identificadas no grupo LES e controle

Espécie	LES		Controle	
	n	%	n	%
<i>C. albicans</i>	22	74	28	78
<i>C. tropicalis</i>	4	13	1	3
<i>C. glabrata</i>	1	3	2	5
<i>C. parapsilosis</i>	0	0	2	5
<i>C. dubliniensis</i>	1	3	1	3
<i>C. famata</i>	2	7	2	6
Total	30	100	36	100

Em ambos os grupos, foi detectada uma amostra identificada fenotipicamente como *C. dubliniensis*. Após submetidas à análise molecular esta identificação foi confirmada.

5.2 Gênero *Staphylococcus*

Trinta e dois (80%) dos pacientes portadores de LES estudados foram positivos para estafilococos na cavidade bucal. No grupo controle, observou-se que 34 (85%) dos indivíduos coletados, foram positivos para este gênero (Tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição porcentual de indivíduos positivos e negativos para isolados de estafilococos identificados nos grupos LES e controle

	LES		Controle	
	n	%	n	%
Positivos	32	80	34	85
Negativos	08	20	6	15
Total	40	100	40	100

Foram obtidos 156 isolados de estafilococos, 83 amostras no grupo LES e 73 no grupo controle. No grupo LES, *S. epidermidis* foi a espécie prevalente seguida por *S. aureus*, assim como no grupo controle. As amostras isoladas de *Staphylococcus* spp. estão representadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Isolados de estafilococos identificados nos grupos LES e controle

Espécies	LES		Controle	
	n	%	n	%
<i>S. epidermidis</i>	34	41	36	49
<i>S. aureus</i>	29	35	20	27
<i>S. haemolyticus</i>	2	2	0	0
<i>S. capitis</i>	0	0	3	4
<i>S. warneri</i>	10	12	3	4
<i>S. saprophyticus</i>	1	1	2	3
<i>S. xylosus</i>	3	4	2	3
<i>S. chromogenes</i>	2	2	0	0
<i>S. sciuri</i>	0	0	1	1
<i>S. cohnii</i>	1	1	1	1
<i>S. lugdunensis</i>	1	1	1	1
<i>S. hominis</i>	0	0	3	4
<i>S. simulans</i>	0	0	1	1
Total	83	100	73	100

5.3 Enterobactérias e *Pseudomonas* spp.

Dezesseis (40%) dos pacientes portadores de LES estudados foram positivos para Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. na cavidade bucal. No grupo controle observou-se que 22 (55%) foram positivos para este microrganismo (Tabela 6).

Tabela 6 - Distribuição porcentual de indivíduos positivos e negativos para isolados de Enterobactérias e *Pseudomonas* spp. nos grupos LES e controle

	LES		Controle	
	n	%	n	%
Positivos	16	40	22	55
Negativos	24	60	18	45
Total	40	100	40	100

Foi obtido um total de 84 isolados de Enterobactérias/*Pseudomonas* spp., sendo que 37 amostras foram coletadas do grupo LES e 47 no grupo controle. Observa-se as espécies mais frequentemente identificadas foram *K. oxytoca* no grupo LES e *Enterobacter cloacae* no grupo controle. A Tabela 7 demonstra as espécies isoladas e identificadas em cada grupo.

Tabela 7 – Isolados de Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. identificados nos grupos LES e controle

Espécies	LES		Controle	
	n	%	n	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0%	1	2%
<i>calcoaceticus</i>	0	0%	1	2%
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0%	1	2%
<i>Citrobacter koseri</i>	1	3%		0%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	5%	1	2%
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	3%	0	0%
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	11%	11	23%
<i>Enterobacter sakazakii</i>	3	8%	2	4%
<i>Escherichia coli</i>	2	5%	0	0%
<i>Hafnia alvei</i>	0	0%	1	2%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	14%	5	11%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	2	5%	6	13%
<i>Kluyera</i> spp.	1	3%	0	0%
<i>Pantoea</i> spp.	2	5%	0	0%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3%	1	2%
<i>Pseudomonas luteola</i>	2	5%	9	19%
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	3	8%	0	0%
<i>Raoultella terrigena</i>	2	5%	0	0%
<i>Serratia ficaria</i>	0	0%	2	4%
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	5%	6	13%
<i>Serratia marcescens</i>	4	11%	1	2%
Total	37	100%	47	100%

5.4 Análise dos resultados frente aos parâmetros clínicos

5.4.1 Utilização de fármacos imunossupressores

Foram observados 23 pacientes em uso de imunossupressores micofenolato mofetil (dose média 2000 mg/dia), Azatioprina (dose média 148 mg/dia), ciclosporina (dose média 200 mg/dia), Prednisona (60 mg/dia) e pulsoterapia com ciclofosfamida (dose média 1,4 gr/pulso) e metilprednisona (dose média 1gr/pulso) (5 pacientes com pulso há mais de 1 mês) e 17 pacientes sem o uso de imunossupressores. Os resultados estão apresentados na Tabela 8. Ambos os grupos foram comparados às contagens de microrganismos. O teste indicou que as contagens de microrganismos não diferiram estatisticamente para as contagens de leveduras ($p=0,5937>0,05$), *Staphylococcus* spp. ($p=0,6602>0,05$) e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. ($p= 0,7611>0,05$).

Tabela 8 – Estatística descritiva dos dados obtidos para Indivíduos do grupo LES com uso de Imunossupressor e sem uso de Imunossupressor (valores em UFC/ml)

	<i>Candida</i> spp.		<i>Staphylococcus</i> spp.		Enterobactérias/ <i>Pseudomonas</i> spp.	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
Número	23	17	23	17	23	17
Mínimo	0	0	0	0	0,0	0
Percentual						
25%	50	0	100	650	0	0
Mediana	500	538	475	3513	600	113
Percentual						
75%	10550	42950	4275	49275	2425	1650
Máximo	500	538	15500	3513	600	113
Média	500	538	475	3513	2425	1650
Desvio padrão	2355	10554	4039	11785	706	527

5.4.2 Índice de atividade da doença (SLEDAI)

Foram observados 14 pacientes com SLEDAI igual a 0 e 17 pacientes com SLEDAI maior ou igual a 4. Estes pacientes foram comparados às contagens de microrganismos. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 9. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para as contagens de leveduras ($p=0,9471>0,05$), *Staphylococcus* spp. ($p=0,6596>0,05$) e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. ($p=0,7515>0,05$).

Tabela 9 – Estatística descritiva dos dados obtidos para Indivíduos do grupo LES com índice *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI) igual a 0 e SLEDAI maior ou igual a 4 (valores em UFC/ml)

	<i>Candida</i> spp.		<i>Staphylococcus</i> spp.		Enterobactérias/ <i>Pseudomonas</i> spp.	
	ID=0	ID≥4	ID=0	ID≥4	ID=0	ID≥4
Número	14	17	14	17	14	17
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
Percentual 25%	0,0	0,0	6,8	0,0	0,00	0,00
Mediana	0,0	0,0	22,5	9,0	0,00	0,00
Percentual 75%	8,5	11,5	107,3	96,0	5,00	13,00
Máximo	444,0	422,0	212,0	620,0	63,0	97,0
Média	0,0	0,0	58,6	96,6	9,57	11,29
Desvio padrão	117,8	102,2	77,8	182,5	20,94	25,18

ID = índice SLEDAI

5.4.3 Demais variáveis clínicas

Foram também analisadas as variáveis: atividade hematológica - leucopenia ($< 4.000/\text{mm}^3$ e $>4.000/\text{mm}^3$), linfocitopenia ($<1.000/\text{mm}^3$ e $> 1.000/\text{mm}^3$) e atividade renal (creatinina $\geq 1,3$ mg/dl e $< 1,3$ mg/dl).

Não foram observadas diferenças significativas das contagens de microrganismos dentro das variáveis analisadas. Para leveduras do gênero *Candida* os valores de p observados foram: leucopenia ($p = 0,6645 > 0,05$), linfocitopenia ($p = 0,2441 > 0,05$) e atividade renal ($p = 0,6645 > 0,05$). Para estafilococos os valores de p foram: leucopenia ($p = 0,9459 > 0,05$), linfocitopenia ($p = 0,4919 > 0,05$) e atividade renal ($p = 0,9459 > 0,05$). Para Enterobactérias/Pseudomonas os valores de p foram: leucopenia ($p = 0,3044 > 0,05$), linfocitopenia ($p = 0,1064 > 0,05$) e atividade renal ($p = 0,3044 > 0,05$).

6 DISCUSSÃO

A microbiota bucal tem sido considerada relativamente equilibrada em indivíduos saudáveis, porém alterações sistêmicas e/ou locais podem levar ao desequilíbrio entre microbiota e hospedeiro causando doença (Dáhlen, 2006). Dentre os fatores que podem alterar a microbiota bucal residente, a imunossupressão e a antibioticoterapia prolongada são relatadas na literatura (Jobbins et al., 1992; Dahlén, 2006). Alterações da microbiota associadas a doenças sistêmicas como o diabetes mellitus, o uso de medicamentos como corticosteróides e antibióticos, assim como o uso de próteses totais podem significar uma predisposição à candidose (Samaranayake et al, 1994). A associação entre o tabagismo e as alterações da microbiota bucal foi relatada por Soysa et al. (2005), em particular o aumento de colonização por leveduras do gênero *Candida* (Jenhsen et al., 1999). Os critérios de exclusão adotados neste estudo foram baseados nestes relatos da literatura na tentativa de minimizar a influência de variáveis não relacionadas ao lúpus eritematoso sistêmico (LES) e sua terapia.

LES é considerada doença de causa ainda desconhecida, pouco freqüente, sendo a mais comum doença auto-imune sistêmica do tecido conjuntivo (Bezerra et al., 2005). Os fármacos mais freqüentemente utilizados para o controle da atividade da doença são as drogas antiinflamatórias como o metotrexato, os corticosteróides e imunossupressores azatioprina, micofenolato mofetil, ciclosporina e ciclofosfamida (pulsoterapia) nos casos agudos (Sato et al., 2002). Assim, pode-se inferir que tanto o curso da doença quanto o seu tratamento

poderiam interferir na microbiota bucal, podendo predispor os pacientes a quadros infecciosos oportunistas.

Um único trabalho que analisou a microbiota bucal de pacientes com LES foi desenvolvido por Jensen et al. (1999) onde foi estudada a presença de *Candida* spp., *Streptococcus mutans* e lactobacilos. Este estudo incluiu 20 pacientes e utilizou kits comerciais para screening microbiológico. Assim, o presente estudo foi delineado objetivando trazer novas informações a respeito da microbiota bucal destes pacientes.

Por outro lado, leveduras do gênero *Candida*, estafilococos e enterobactérias são considerados microrganismos oportunistas e apresentam fatores de virulência importantes, portanto, reservatórios bucais destes microrganismos podem causar patologias e infecções sistêmicas, especialmente em pacientes debilitados ou imunossuprimidos (Slots et al., 1990; Rams et al., 1990). Diante deste pressuposto julgou-se de valia a investigação da presença e o comportamento destes microrganismos na cavidade bucal do paciente com LES.

Para a obtenção da amostra, foram avaliados 300 pacientes do Setor de Doenças Auto-Imunes da Disciplina de Reumatologia, Departamento de Medicina da UNIFESP, porém devido aos critérios de inclusão e não-inclusão foram selecionados 40 pacientes. Na ficha clínica procuramos contemplar o máximo de informações que permitissem a melhor avaliação possível de cada indivíduo, visto que o tratamento do paciente com LES é bastante individualizado.

No processo de amostragem, confirmou-se o predomínio de pacientes LES do gênero feminino como descrito por Sato et al. (2004) que relatou que cerca de 90% dos casos de LES ocorrem em mulheres. Embora verificada a presença de homens com diagnóstico de LES em atendimento, estes não foram incluídos na amostra para evitar interferências relacionadas ao gênero.

Quanto às características étnicas e etárias, verificou-se que 17 mulheres foram classificadas como não-brancas, dado difícil de ser avaliado, visto que no Brasil a miscigenação é muito grande, ficando portanto impraticável avaliar este critério. Observou-se que 31 das pacientes foram diagnosticadas entre a segunda e terceira décadas de vida, o que está de acordo com a literatura (Sato et al., 2002; Sato et al., 2004), 2 casos antes da segunda década e 5 depois da terceira década de vida. Esta observação pode ser explicada pelo fato de muitas pacientes ter seu diagnóstico tardio devido às dificuldades nos centros de triagem.

Com relação à presença de lesões bucais, foi encontrado apenas um caso de lesão branca na língua e uma paciente referiu manchas no palato no passado. Este dado difere de relato anterior que afirmam que lesões bucais, como gengivite ou lesões erosivas da mucosa, foram observadas em mais de 40% dos pacientes LES (Albilia et al., 2007). Esta diferença pode ser relacionada ao fato de que tais autores relataram a presença de gengivite como sendo uma lesão bucal. No delineamento do presente estudo, não foram incluídas as doenças periodontais, já que não seria possível a execução de um exame periodontal completo para diagnóstico em ambiente ambulatorial sem a disponibilidade de equipe odontológico. Por outro lado, ausência de lesões bucais por *Candida* não foram observadas por Jensen et al. (1999), analisando 20 pacientes com LES.

Albilia et al. (2007) relatou que pacientes LES frequentemente apresentam sintomas de secura em olhos, boca e pele. No presente estudo, este parâmetro foi variável entre os pacientes estudados: 27 pacientes (67,5%) apresentaram fluxo salivar normal, 3 (7,5%) sialorréia, 3 (7,5%) hipossalivação leve, 4 (10%) hipossalivação moderada, 3 (7,5%) hipossalivação severa. Foram comparados os valores obtidos para os pacientes com os parâmetros estabelecidos por Conceição et al. (2006).

O CPO-D médio observado foi 10 (valor mínimo 3; valor máximo 18) valor considerado como experiência de cárie muito alta (CPOD>7,0, segundo García-Cortes et al., 2009). Este dado chama atenção para a necessidade de medidas odontológicas preventivas intensivas nesta população e estratégias de tratamento multidisciplinares. De fato, Albilis et al. (2007) relataram a necessidade de medidas específicas no tratamento odontológico de pacientes com LES, como por exemplo, alterações de dosagens de medicamentos para pacientes com grave comprometimento renal, cuidado com interações medicamentosas e profilaxia antibacteriana para pacientes com risco de endocardite bacteriana.

No que se refere aos métodos aplicados, a coleta de amostras por enxágüe bucal foi adotada por ser rápida, não invasiva, indolor e sem transtornos ao paciente. Esta metodologia foi preconizada por Samaranayake et al. (1986), que consideram que este método é o mais sensível e ideal para uma análise da cavidade bucal como um todo.

Vinte (50%) das pacientes LES foram positivas em relação à presença de leveduras, enquanto 18 (45%) dos indivíduos controles foram positivos para este microrganismo. Os valores encontrados tanto para o grupo LES como para o grupo controle estão dentro dos intervalos reportados previamente para indivíduos controle (25 a 75%) (Samaranayake e Mac Farlane, 1990). Por outro lado, também não houve diferença estatística entre a contagem do número de colônias de leveduras do gênero *Candida* nos grupos LES e controle. Estes resultados divergem de estudos anteriores onde grupos com outras doenças sistêmicas apresentam maior prevalência de microrganismos oportunistas em relação aos indivíduos controle. Ellepola e Samaranayake (2000) estudando indivíduos portadores do vírus HIV relataram que mais de 90% dos indivíduos infectados desenvolveram candidose bucal. Sanchez-Vargas et al., (2005) estudaram 312 indivíduos

HIV positivos encontrando 66,7% colonizados por leveduras do gênero *Candida*; Samaranayake et al. (2002) encontraram 100% de 750 indivíduos portadores de HIV com candidose. Navas (2007) observou que 65,79% de 38 indivíduos hansenianos foram positivos para leveduras do gênero *Candida* enquanto Reichart et al. (1976) relataram 80% de pacientes com hanseníase positivos para este gênero. O resultado deste estudo também é inferior ao observado em outros estudos em pacientes com outros fatores sistêmicos, assim como tuberculose sob tratamento com antibiótico (72%) (Querido, 2006) e transplantados cardíacos (88%), (Ribeiro, 2003). Maior número de pacientes sob radioterapia na região de cabeça e pescoço foram portadores de *Candida* (n=22; 86,36%) em relação ao grupo controle (n=22; 45,45%) (Thaweboon et al., 2008). Por outro lado, Lund et al. (2009) também não encontraram número mais elevado de pacientes positivos para *Candida* dentre aqueles com candidose atrófica crônica em relação ao grupo controle. Olczak-Kowalczyk et al., (2008) em seu estudo avaliou 25 pacientes transplantados de rim e fígado, sob tratamento de imunossupressão e apenas 6 (24%) foram positivos para *Candida* spp. Destes, 12 (48%) tinham lesões sugestivas de candidose.

Do ponto de vista das espécies, foi observada a maior prevalência de *C. albicans* nos grupos LES (74%) e controle (78%). Este resultado está de acordo com Sanchez e Vargas et al., 2005, que identificou como *C. albicans* 73% dos isolados.

Segundo Smith et al. (2003), *Staphylococcus* spp. são frequentemente isolados da cavidade bucal de indivíduos saudáveis ou com doença sistêmica. Um total de 32 pacientes (80%) positivos para gênero *Staphylococcus* spp. no grupo LES e 34 (85%) positivos no grupo controle, não sendo observada diferença significativa entre os grupos. Este resultado está de acordo com estudos anteriores que não encontraram diferença quantitativa na presença destes microrganismos

na cavidade bucal de pacientes com outras doenças sistêmicas, como infecção por HIV ou tuberculose (Back-Brito, 2006; Querido, 2006). De acordo, Jackson et al. (2000) isolaram *Staphylococcus* spp. da cavidade bucal de 92% de 23 crianças saudáveis. *S. aureus* estava presente em 64% das amostras, sendo que em 69% das crianças também na cavidade nasal. *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos foram isolados de 64% dos pacientes, dentre as quais 16 amostras de *S. epidermidis* e 4 amostras de *S. warneri*. A presença de microrganismos do gênero *Staphylococcus* na cavidade bucal humana foi estudada por Martins (2001) que encontrou 92,85% dos indivíduos analisados positivos para este microrganismo. Destes, 63% dos isolados foram coagulase-negativos. Das 24 amostras coagulase-positivas, 11 eram *S. hyicus*, 9 eram *S. aureus* e 4 eram *S. schleiferi* subespécie *coagulans*.

Ohara-Nemoto et al. (2008) isolaram bactérias em 83,9% das amostras de saliva coletadas de pacientes saudáveis, sendo *S. aureus* a espécie mais freqüentemente observada (46,4%), seguida por *S. epidermidis* (41,1%). Foram isoladas também *S. hominis*, *S. warneri*, *S. intermedius*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* e *S. gallinarum*. Os autores sugeriram que infecções na cavidade bucal podem ser uma possível porta de entrada para endocardite infecciosa.

As bactérias da família Enterobacteriaceae e do gênero *Pseudomonas* pertencem à microbiota intestinal humana, porém podem atuar como patógenos oportunistas em uma grande variedade de infecções humanas (Santos, 2001). Estas bactérias não são consideradas residentes da microbiota bucal humana, entretanto podem colonizá-la em alguns casos, como em indivíduos com doenças debilitantes como no caso da infecção por HIV (Schmidt-Westhausen et al., 1991). Santos e Jorge (1998) encontraram elevada prevalência (51%) destes microrganismos na cavidade bucal de pacientes da Região do Vale do Paraíba e que demonstraram resistência a vários agentes antimicrobianos

(Santos e Jorge, 1999 e 2000). *Pseudomonas* spp. são também freqüentemente relacionadas a patologias bucais (Ledder et al., 2007).

No grupo Enterobactérias/*Pseudomonas* observou-se 16 (40%) indivíduos positivos no grupo LES e 22 (55%) no grupo controle, não havendo diferença significativa entre os grupos. Schmidt-Westhausen et al. (1991) e Figueiredo (2001), consideram estes microrganismos como sendo transitórios na cavidade bucal e o seu aumento como um desequilíbrio da microbiota residente. Este estudo está de acordo com Senpuku et al. (2003) que encontraram enterobactérias em 16% de um grupo de idosos, ao contrário de Back-Brito (2006), no qual enterobactérias e *Pseudomonas* foram encontradas em 77,7% dos isolados de pacientes HIV positivos.

O número de coliformes na cavidade bucal de indivíduos com alguma doença é significativamente maior do que em indivíduos saudáveis (Samaranayake et al., 1986, Jobbins et al., 1992). Bacilos entéricos e *Pseudomonas* têm sido recuperados da microbiota subgengival e implicados como patógenos em alguns casos de periodontite refratária e em formas agravadas de doença periodontal destrutiva em pacientes com AIDS (Rams et al., 1991). Algumas espécies da família Enterobacteriaceae e do gênero *Pseudomonas* podem agir como co-fator na periodontite destrutiva, pois eles produzem enzimas e toxinas que podem ser de importância para a destruição dos tecidos da cavidade bucal (Slots et al., 1988). A partir de sítios bucais infectados, estes microrganismos podem atingir a corrente sanguínea e induzir septicemia em pacientes debilitados (Santos, 2001).

A presença de *Candida* spp. e coliformes na cavidade bucal de HIV positivos foi pesquisada por Tsang e Samaranayake (2000), sendo que *C. albicans* foi isolada de 52,1% dos pacientes, *P. aeruginosa* de 15,1% e *E. cloacae* de 9,6% dos indivíduos. Figueiredo (2001) obteve 37,8% dos indivíduos HIV-positivos e 34,4% no grupo controle, com

amostras positivas para enterobactérias predominando as espécies *E. coli* e *K. pneumoniae*. Neste trabalho, foram predominantes *K. oxytoca* em 5(14%) dos pacientes LES e *E. cloacae* em 11(23%) do grupo controle.

A ausência de diferenças significativas na presença dos microrganismos estudados em pacientes com LES e indivíduos controle não estão de acordo com o estudo realizado por Jensen et al. (1999). Estes autores encontraram aumento na presença de leveduras do gênero *Candida*, *Streptococcus mutans* e lactobacilos em pacientes com LES em relação aos controles. Porém, é imprescindível ressaltar as diferenças metodológicas entre os estudos. Jensen et al. (1999) utilizou de *screening* (kits microbiológicos) que não permitem a obtenção de valores exatos de UFC/ml, fornecendo os resultados por escores baseados em densidade de crescimento. Além disso, no referido estudo, a coleta foi realizada com utilização de swabs da mucosa bucal e da língua. Segundo Samaranayake et al. (1986) a metodologia de enxágüe bucal é a mais indicada para estudos de colonização bucal, permitindo análise de toda a boca. Os isolados obtidos foram identificados pelo sistema API, que verifica a capacidade da amostra em metabolizar determinado substrato como única fonte de energia. A reação fornece um código numérico que comparado a uma base de dados resulta em identificação de gênero e espécie. Este sistema é considerado confiável para identificação de estafilococos (Cunha et al., 2004), leveduras (Bernal et al., 1998) e enterobactérias (Tokajian , Hashwa, 2004). Além disto, no estudo de Jensen et al. (1999) foram incluídos pacientes fumantes, que não foram incluídos neste estudo por terem conhecidamente aumentada a sua colonização por leveduras do gênero *Candida*.

A maioria dos trabalhos que avalia a eficácia dos diferentes esquemas terapêuticos não inclui grande número de pacientes e nem são aleatórios e controlados, por isso o tratamento medicamentoso precisa ser individualizado para cada paciente dependendo dos órgãos e sistemas comprometidos e da gravidade desse comprometimento. Nos

pacientes com comprometimento de vários sistemas, o tratamento sempre é voltado para o mais grave. Se não há resposta a determinado fármaco, pode ser indicado o uso simultâneo de diversos medicamentos (Sato et al, 2002). Diante do exposto, fica explicada a dificuldade em formar grupos de acordo com o tratamento medicamentoso. Assim, com o intuito de confirmar a semelhança estatística entre os grupos aqui descrita, o grupo LES ainda foi dividido em dois subgrupos: com imunossupressores e sem imunossupressores. Este teste também não revelou diferenças significativas com relação ao grupo controle. Dongari-Bagtzoglou et al. (2009) também não encontraram diferença significativa entre a dosagem ou tipo de imunossupressores e níveis bucais de *Candida* ou ocorrência de candidose em pacientes transplantados.

Para possibilitar a avaliação da associação entre presença dos microrganismos estudados e a atividade de doença foi adotado critério a divisão do grupo LES de acordo com o SLEDAI. Os índices SLEDAI observados variaram de 0 a 14, tendo sido divididos em dois grupos: SLEDAI igual a zero (sem atividade da doença), contando com 14 pacientes e SLEDAI maior ou igual a 4 (com atividade da doença), com 17 pacientes. Procurou-se formar grupos equilibrados quantitativamente descartando os valores intermediários de SLEDAI (1 a 3) por expressarem pouca atividade da doença e que poderiam confundir a interpretação dos resultados. A análise estatística revelou que ambos os grupos não diferem estatisticamente no que se refere à contagem de microrganismos. Não existe na literatura trabalhos anteriores que relacionem a atividade da doença medida pelo SLEDAI e contagem de microrganismos, o que dificulta a comparação dos resultados obtidos. Da mesma forma, não existem comparações anteriores com atividade hematológica e renal em pacientes com LES e níveis bucais de microrganismos.

Pelo nosso conhecimento, este é o primeiro estudo abrangente sobre a microbiota bucal de pacientes com LES. Apesar dos achados freqüentes na literatura associando imunossupressão com níveis aumentados de microrganismos oportunistas (em particular, leveduras e enterobactérias) na cavidade bucal, este estudo não encontrou diferenças significativas. Estes resultados são intrigantes, salientam a complexidade da interação entre os microrganismos bucais e variáveis ambientais, e reforçam a necessidade de mais estudos na área. Estudos futuros abrangendo outros microrganismos, maior número de pacientes, além do aprofundamento nas características fenotípicas dos isolados encontrados são necessários.

7 CONCLUSÃO

De acordo com o estudo realizado, podemos concluir que:

- a) Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores de UFC/ml obtidos no grupo LES e controle para *Candida* spp., *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp.;
- b) Na utilização ou não de fármacos imunossupressores as contagens de microrganismos não diferiram estatisticamente para as contagens de leveduras, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp.;
- c) Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para as contagens de leveduras, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. entre pacientes com ou sem atividade da doença (índice SLEDAI);
- d) Não foram observadas diferenças significativas das contagens de microrganismos dentro das variáveis clínicas analisadas: atividade hematológica e atividade renal;

- e) *Candida. albicans* e *Staphylococcus epidermidis* foram as espécies prevalentes em ambos os grupos de estudo. Houve maior prevalência de *K. oxytoca* no grupo LES enquanto no grupo controle foi *E. cloacae*.

8 REFERÊNCIAS*

Alessandri C, Conti F, Conigliaro P, Mancini R, Massaro L, Valesini G. Soronegative autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2009 Sept.; 1173:52-9.

Albilis JB, Lam DK, Clokie CML, Sander GKB. Systemic Lupus Erythematosus: a review for dentists. *J Canadian Dent Assoc.* 2007; 73(9):822-8.

Almstahl A, Wikström M, Fagerberg-Mohlin B. Microflora in oral ecosystems in subjects with radiation-induced hyposalivation. *Oral Dis.* 2008; 14:541-9.

Almstahl A, Wikström M, Fagerberg-Mohlin B. Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. *J Dent Res.* 1999; 78(8):1410-16.

Back-Brito GNB. Presença de *Candida*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonaceae* na cavidade bucal de pacientes HIV positivos [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Universidade Estadual Paulista; 2006.

Bamford CV, d'Mello A, Nobbs AH, Dutton LC, Vickerman MM, Jenkinson HF. *Streptococcus gordonii* modulates *Candida albicans* biofilm formation through intergeneric communication. *Infect Immun.* 2009 Sep;77(9): 3696-704. Epub 2009 Jun 15.

Ben-Aryeh H, Gordon N, Szargel R, Toubi E, Laufer D. Whole saliva in systemic lupus erythematosus patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993; 75(6):696-9.

* Baseado em:

Internacional Comité of Medical Journal Editors. Bibliographic Services Division. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: simple referents [homepage na Internet]. Bethesda: US National Library; c2003 [disponibilidade em 2006 fev; citado em 20 mar.]. Disponível em : http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bernal S, Martin Mazuelos E, Chávez M, Coronilla J, Valverde A. Evaluation of the new Api *Candida* system for identification of the most clinically important yeast species. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998 Nov; 32(3):217-21.

Bezerra ELM, Vilar MJP, Barbosa OFC, Santos SQ, Castro MA, Trindade MC, et al. Lúpus Eritematoso Sistêmico(SLE): clinical and laboratory profile of patients followed at the Onofre Lopes University Hospital (UFRN – Natal/Brasil) and early organ damage in patients with recently diagnosed disease. *Rev Bras Reumatol*. 2005 Nov/Dec; 45(6):339-42.

Conceição MD; Marocchio LS, Fagundes LR. Técnica de sialometria para uso na prática clínica diária. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2006;60(5):350-4.

Cunha MLRS, Sinzato YK, Silveira LVA. Comparison of Methods for the identification of coagulase-negative staphylococci. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(8):860-885.

Dáhlen G. Microbiological diagnostics in oral diseases. *Acta Odontol Scand*. 2006; 64:164-8.

Dahlén G. Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. *Adv Dent Res*. 1993; 7(2):163-74.

Delgado ACD, Pedro RJ, Aoki FH, Resende MR, Trabasso P, Colombo AL, et al. Clinical and microbiological assesment of patients with a long-term diagnosis of human immunodeficiency virus infection and *Candida* oral colonization. *J Comp Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;15:364-71.

Donnelly SM, Sullivan DJ, Shanley DB, Coleman DC. Phylogenetic analysis and rapid identification of *Candida dubliniensis* based on analysis of ACT1 intron and exon sequences. *Microbiol*. 1999;145:1871-82.

Dongari-Bagtzoglou A, Diwivedi P, Loannidou E, Shaqman M, Hull D, Bureson J. Oral *Candida* infection and colonization in solid organ transplant recipients. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 June;3(24):249-54.

Ellepola ANB, Samaranayake LP. Oral candidal infections and antimycotics. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(2)172-98.

Fabbri P, Cardinali C, Giomi B, Caproni M. Cutaneous lupus erythematosus: diagnosis and management. *AM J Clin Dermatol*. 2003; 4(7):449-65.

Figueiredo RLQ. Estudo microbiológico da prevalência de enterobactérias na cavidade bucal de pacientes HIV positivos e sua relação com gênero *Candida*. J Bras Clin Estet Odontol. 2001 mar./abr.; 5(26):111-5.

Flynn MJ, Slots J. Beta-hemolytic streptococci in advanced periodontitis. Oral Microbiol Immunol. 1993;8(5):295-7.

Froy O, Stoeberl ZM. Defensin in Systemic lupus erythematosus. Ann N Y Acad Sci. 2009 Sept;173:365-9.

García-Cortés, Medina-Solis CE, Loyola-Rodríguez JP, Mejía-Cruz JA, Medina-Cerda E, Patiño-Marin N, Pontigo-Loyola P. Dental caries experience, prevalence and severity in mexican adolescents and young adults. Rev Salud Pública. 2009 Jan/Feb; 11(1):82-91.

Hak AE, Karison EW, Feskanich D, Stampfer MJ, Costenbader KH. Systemic Lupus Erythematosus and the risk of cardiovascular disease: results from the nurses' health study. 2009 Sept;61(10):1396-402. [Epub ahead of print].

Hibino K, Wong RW, Hägg U, Samaranayake LP. The effects of orthodontic appliances on *Candida* in the human mouth. Int J Paediatr Dent. 2009 Sep; 19(5):301-8. Epub 2009 Apr 16.

Hochberg M. Updating the american college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Letter Arthritis Rheum. 1997;40:1725.

Jackson, M.S. *Staphylococci* in the oral flora of healthy children and those receiving treatment for malignant disease. Microbial Ecol Health Dis. 2000; 12:60-4.

Janeway Junior CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. In: *Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.

Jensen JL, Bergem HO, Gilboe IM, Husby G, Axéll T. Oral and ocular sicca symptoms and findings are prevalent in systemic lupus erythematosus. J Oral Pathol Med. 1999;28:317-22.

Jobbins J, Bagg J, Parsons K, Finlay I, Addy M, Newcombe RG. Oral carriage of yeasts, coliforms and staphylococci in patients with advanced malignant disease. J Oral Pathol Med. 1992; 21:305-8.

Jones DJ, Munro C. Oral Care and the risk of bloodstream infections in mechanically ventilated adults: A review. *Intensive Crit Care Nurs*. 2008 June;24(3):152-61.

Kindelan SA, Yeoman CM, Douglas CWI, Franklin C, Sheffield UK, A comparison of intraoral *Candida* carriage in Sjögren's syndrome patients with healthy xerostomic controls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod*. 1998;85:162-7.

Koneman EW, Winn Jr. J, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, et al. The Gram-positive cocci: *Staphylococcus* and related organisms. In: *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott; 1997, Cap.11, p.539-76.

Krasse B. Interpretation and use of microbiologic findings in dental caries. *Oral Microbiol Immunol*. 1986;1:85-6.

Ledder RG, Gilbert P, Huws Sa, Aarons L, Ashley MP, Hull PS, et al. Molecular analysis of the subgingival microbiota in health and disease. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Jan.; 73(2):516-23.

Lee D, Howlett J, Pratten J, Mordan, Mc Donald A, Wilson M, et al. Susceptibility of MRSA biofilms to denture-cleansing agents. *FEMS Microbiol Lett*. 2009; 291(2):241-6.

Lund RG, da Silva Nascente P, Etges A, Ribeiro GA, Rosalen PL, Del Pino FA. Occurrence, Isolation and differentiation of *Candida* spp. and prevalence of variables associated to chronic atrophic candidiasis. *Mycoses*. 2009 Mar; 7 [Epub ahead of print].

Mac Farlane TW, Mason DK. Changes in the oral flora in Sjögren's syndrome. *J Clin Pathol*. 1974; 27(5):416-9.

Mähnß B, Stehr F, Schäfer W, Neuber K. Comparison of standard phenotypic assays with a PCR method to discriminate *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Mycoses*. 2005;48:55-61.

Martins CAP. Presença de microrganismos dos gêneros *Staphylococcus* e *Candida* na cavidade bucal humana [Dissertação]. Faculdade de Odontologia de São José dos Campos: UNESP-Universidade Estadual Paulista; 2001.

Matthew HL, Schneider M, Abrahamowicz M, Alarcón GS, Bombardieri MD, Balow J, et al. The american college of rheumatology response criteria for systemic lupus erythematosus clinical trials: Measures of overall disease activity. *Arthritis & Rheumatism*. 2004; 50(11):3418-26.

Meyer U, Kleinheinz J, Gaubitz M, Shulz M, Weingart D, Joos U. Oral manifestations in patients with systemic lupus erythematosus. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 1997;1(2):90-4.

Navas EAFA. Prevalência e Susceptibilidade aos antifúngicos de isolados de leveduras do gênero *Candida* da cavidade bucal de pacientes com hanseníase [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Universidade Estadual Paulista; 2007.

Olczak-Kowalczyk D, Pawloska J, Cukrowska B, Kluge P, Witkowska-Vogt E, Dzierzanowska-Fangrat K, et al. Local presence of cytomegalovirus and *Candida* species vs oral lesions in liver and kidney transplant recipients. *Ann Transplant.* 2008;13(4):28-33.

Ohara-Nemoto Y, Haraga H, Kimura S, Nemoto TK. Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal-oral trafficking of the bacteria. *J Med Microbiol.* 2008; 57:95-9.

Parahitiyawa NB, Jin LJ, Leung WK, Yam WC, Samaranayake LP. Microbiology of odontogenic bacteremia: beyond endocarditis. *Clin Microbiol Rev.* 2009; 22(1):46-64.

Pascual-Ramos V, Hernandez-Hernandez C, Soto-Rojas AE, Celis-Aguilar E, Sanches Guerrero J. Association between dental caries and pneumonia in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2006 Oct;33(10):1996-2002.

Pettigrew HD, Teuber SS, Gershwin ME. Clinical Significance of complement deficiencies. *Ann N Y Acad Sci.* 2009 Sept;1173:108-23.

Quadrelli S, Alvarez C, Arce S, Paz L, Sarano J, Sobrino E, et al. Pulmonary Involvement of systemic lupus erythematosus: analysis of 90 necropsies. *Lúpus.* 2009;18(12):1053-60.

Querido SMR. Microrganismos superinfectantes na cavidade bucal de indivíduos submetidos a antibioticoterapia para tratamento de tuberculose pulmonar [tese] São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Universidade Estadual Paulista; 2006.

Rampudda M, Marson P, Pasero G. The main stages in the history of systemic lupus erythematosus. *Reumatismo.* 2009 Apr/Jun; 61(2):145-52.

Rams TE, Feik D, Slots J. Staphylococci in human periodontal diseases. *Oral Microbiol Immunol.* 1990; 5:29-32.

Rams TE, Andriolo M Jr, Feik D, Abel SN, Mc Givern TM, Slots J. Microbiological study of HIV-related periodontitis. *J Periodontol.* 1991 Jan; 62(1):74-81.

Reiko T, Kenji T, Keiko S, Chiyuk S, Yuko T, Jun K, et al. Observations on the occurrence of exacerbations in clinical course of systemic lupus erythematosus. *J Med Investig.* 2008;55:112-9.

Reichart PA. Facial and oral manifestations in leprosy: an evaluation of seventy cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1976; 41:385-99.

Ribeiro PM. Presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de receptores de transplante cardíaco [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Universidade Estadual Paulista; 2003.

Robbins SL, Cotran RS. Patologia estrutural e funcional. In_Vinay K, Doença da Imunidade. 2ª ed. Rio de Janeiro: Interamericana; 1983. p.219-71.

Samaranayake LP, Mac Falane TW, Laney PJ, Ferguson MM. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *J Oral Pathol.* 1986;15:386-8.

Samaranayake LP. Introduction and Historical Aspects. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW (eds). *Oral Candidosis.* London: Wright-Butterworth, 1990 p.1-9.

Samaranayake YH, Wu PC, Samaranayake LP, So M, Yuen KY. Adhesion and colonization of *Candida krusei* on host surfaces. *J Med Microbiol.* 1994;4:250-8.

Samaranayake LP, Fidel PL, Naglik JR, Sweet SP, Teanpaisan R, Coogan MM, et al. Fungal infections associated with HIV infection. *Oral Dis.* 2002;8(2):151-60.

Sánchez-Vargas LO, Ortiz-López NG, Villar M, Moragues MD, Aguirre JM, Cashat-Cruz M, et al. Oral *Candida* isolates colonizing or infecting human immunodeficiency virus-infected and healthy persons in Mexico. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(8):4159-62.

Santos SSF. Presença de Enterobacteriaceae e bactérias do gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com

periodontite crônica [Tese]. Faculdade de Odontologia de São José dos Campos: UNESP - Universidade Estadual Paulista ; 2001.

Santos SSF, Jorge AOC. Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonaceae na cavidade bucal humana. Rev Odontol UNESP. 1998; 27(2):473-84.

Santos SSF, Jorge AOC. Sensibilidade *in vitro* de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae isoladas da cavidade bucal humana a agentes antimicrobianos. Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos. 1999 jan/jun;2(1): 41-5.

Santos SSF, Jorge AOC. Sensibilidade *in vitro* de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal humana a espiramicina, metronidazol e tetraciclina. Rev Biociênc. 2000;6(1):7-10.

Sato EI. Consenso brasileiro para o tratamento do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). Rev Bras Reumatol. 2002 nov./dez;42(6);362-70.

Sato EI. Lupus Eritematoso Sistêmico in Guia de Medicina Ambulatorial e Hospitalar UNIFESP – REUMATOLOGIA. São Paulo: Editora Manole; 2004 p.139-54.

Sato EI, Natour J, Martineli VPL, Assis LSS, Farão SR, Medeiros EL, et al. Seguimento clínico e laboratorial de 132 pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico. Rev Bras Reumatol. 1991 mar/abr;31(2):57-62.

Schmidt-Westhausen A, Shiller RA, Pohle HD, Reichart PA. Oral *Candida* and Enterobacteriaceae in HIV-1 infection: correlation with clinical candidiasis and antimycotic therapy. J Oral Pathol Med. 1991;20(10):469-72.

Senpuku H, Sogame A, Inoshita E, Tsuha Y, Miyazaki H, Hanada N. Systemic disease in association with microbial species in oral biofilm from elderly requiring care. Gerontol. 2003 Sept/Oct;49(5):301-9.

Sheng-Yuan R, Po-Ren H. Invasive Candidiasis: an overview from Taiwan. J Formos Med Assoc. 2009;108(6):443-51.

Smith AJ, Robertson D, Tang MK, Jackson MS, Mackenzie D, Bagg J, et al. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. Brit Dent J. 2003 Dec; 195(12):701-3.

Smith AJ, Jackson MS, Bagg J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. J Med Microbiol. 2001; 50:940-6.

Smith CD, Cyr M. The history of lupus erithematosus. From Hipocrates to Osler. *Rheum Dis Clin North Am*. 1988 Apr; 14(1):1-14.

Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeast, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 1988 June; 3(2):47-52.

Slots J, Feik D, Rams TE. Prevalence and antimicrobial susceptibility of enterobacteriaceae, pseudomonadaceae and acinetobacter in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 1990;5(3):149-54.

Souza DCC. Tendência da Mortalidade por Lúpus Eritematoso Sistêmico no Estado de São Paulo de 1985 a 2004. [dissertação]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP; 2007.

Soysa NS, Ellepola ANB. The impact of cigarette/tobacco smoking on oral candidosis: an review. *Oral Dis*. 2005;11:268-73.

Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, Mcshane DJ, Rothfield NF, et al: Special article: the 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982;25:1271-7.

Ten Cate JM, Klis FM, Pereira-Cenci T, Crielaard W, de Groot PW. Molecular and cellular mechanisms that lead to *Candida* biofilm formation. 2009 Feb; 88(2):105-15.

Thaweboon S, Thaweboon B, Srithavaj T, Choonharuangdej S. Oral colonization of *Candida* species in patients receiving radiotherapy in the head and neck area. *Quintessence Int*. 2008 Feb; 39(2):52-7.

Tokajian S, Hashwa F. Incidence of antibiotic resistance in coliforms from drinking water and their identification using the Biolog and the API identification systems. *J Chemother*. 2004 Feb;16(1):45-50.

Thein ZM, Seneviratne CJ, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Community lifestyle of *Candida* in Mixed biofilms: a mini review. *Mycoses*. 2009 Nov; 52(6):467-75. Epub 2009 May 27.

Tsang, CSP; Samaranayake, L.P. Oral yeasts and coliforms in HIV-infected individuals in Hong Kong. *Mycoses*. 2000 Sep; 43(7/8):303-8.

Van Winkelhoff AJ, Rams TE, Slots J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontol*. 1996;10(2):45-78.

Vera-Recabarren MA, Garcia-Carrasco M, Ramos-Casals M, Herrero C. Comparative analysis of subacute cutaneous lúpus erythematosus and

chronic cutaneous lúpus erythematosus: clinical and immunological study of 270 patients. *Br J Dermatol.* 2009 Sep 28. [Epub ahead of print]

Vilar MJP, Bezerra ELM, Sato EI. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region. *Lupus* 2002;11:528-32.

Wardle EN. Systemic lupus erythematosus conundrums. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2009 Sept/Oct;20(5):731-6.

Wunder PR, Doenças auto-imunes. In: Ferreira AW, Ávila SLM. *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes.* 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. Cap 35, p. 414-35.

Zandman-Godard G, Berkun Y, Barzilai O, Boaz M, Blank M, Sherer Y, et al. Exposure to Epstein-Barr vírus infection is associated with mild systemic lupus erythematosous disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2009 Sep; 1173:658-63.

Anexo A - Quadro 1 - Dados individuais dos pacientes LES

Paciente	Idade	CPOD	SLEDAI	Fluxo Salivar (ml/min)
P 1	36	3	9	1,2
P 2	49	12	4	1,0
P 3	20	6	13	0,4
P 4	37	ap. ortod 15	2	2,2
P 5	30	12	2	4,6
P 6	24	12	5	2,0
P 7	33	18	14	1,6
P 8	19	3	8	0,8
P 9	32	12	0	1,6
P 10	53	PPR 7	4	1,6
P 11	46	15	0	2,0
P 12	31	12	10	1,6
P 13	25	3	0	2,2
P 14	33	12	2	4,0
P 15	34	12	2	1,8
P 16	33	15	2	0,4
P 17	37	PPF 15	0	0,5
P 18	36	12	3	1,6
P 19	29	12	4	2,4
P 20	53	PPF+PPR 15	5	0,8
P 21	37	15	0	2,0
P 22	23	6	4	2,0
P 23	23	3	1	1,2
P 24	25	6	0	1,8
P 25	39	5	6	1,6
P 26	27	3	4	2,0
P 27	29	9	1	1,2
P 28	23	9	0	1,6
P 29	41	PPR 18	0	2,0
P 30	36	12	4	2,0
P 31	42	3	0	0,9
P 32	30	6	4	2,9
P 33	34	9	0	4,4
P 34	43	9	0	3,0
P 35	37	12	0	2,0
P 36	36	9	1	2,0
P 37	19	6	0	2,1
P 38	21	3	5	2,0
P 39	38	18	4	1,6
P 40	29	12	0	2,0

PPR= Prótese Parcial Removível

PPF= Prótese Parcial Fixa

Anexo B - Quadro 2 - Dados individuais dos indivíduos controle

Numeração	Idade	CPOD
C1	46	0
C2	36	12
C3	20	Ap. Ortod. 6
C4	29	9
C5	30	12
C6	32	12
C7	35	16
C8	31	17
C9	32	18
C10	37	Ap. Ortod. 13
C11	31	10
C12	49	15
C13	41	13
C14	42	5
C15	36	17
C16	22	5
C17	33	12
C18	41	PPR 16
C19	55	PPR 7
C20	46	9
C21	28	5
C22	32	18
C23	23	12
C24	44	21
C25	23	5
C26	32	15
C27	26	PPF 13
C28	27	15
C29	57	PPF+PPR 17
C30	21	7
C31	23	9
C32	20	6
C33	34	14
C34	28	9
C35	33	13
C36	38	23
C37	34	15
C38	19	7
C39	20	1
C40	26	12

PPR= Prótese Parcial Removível

PPF= Prótese Parcial Fixa

Anexo C – Quadro 3 - Contagens e identificações de leveduras do gênero *Candida*, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/
Pseudomonas spp. no grupo de pacientes de Lúpus Eritematoso Sistêmico.

(continua)

Paciente	UFC/ml	<i>Candida</i> spp.	UFC/ml	<i>Staphy</i> spp.	UFC/ml	Enterobactérias / <i>Pseudomonas</i> spp.
P1	0		4	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. aureus</i>		
P2	0		0		0	
P3	0		483	<i>S. chromogenes</i>	1	<i>K. oxytoca</i>
				<i>S. epidermidis</i>		
P4	0		2	<i>S. aureus</i>	52	<i>R. ornithinolytica</i>
						<i>R. ornithinolytica</i>
P5	3	<i>C. tropicalis</i>	8	<i>S. epidermidis</i>	0	
		<i>C. famata</i>		<i>S. epidermidis</i>		
P6	11	<i>C. tropicalis</i>	0		0	
		<i>C. albicans</i>				
P7	0		65	<i>S. epidermidis</i>	24	<i>K. oxytoca</i>
P8	0		8	<i>S. epidermidis</i>	97	<i>P. aeruginosa</i>
				<i>S. epidermidis</i>		<i>E. sakazakii</i>
				<i>S. warneri</i>		<i>E. aerogenes</i>
				<i>S. aureus</i>		
P9	0		9	<i>S. aureus</i>	0	
				<i>S. aureus</i>		
P10	0		0		0	
P11	0		168	<i>S. aureus</i>	1	<i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>
P12	0		40	<i>S. aureus</i>	0	
				<i>S. haemolyticus</i>		
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. aureus</i>		
P13	0		10	<i>S. epidermidis</i>	4	<i>E. sakazakii</i>
				<i>S. epidermidis</i>		<i>Kluyera</i> spp.
				<i>S. aureus</i>		<i>S. liquefaciens</i>
				<i>S. aureus</i>		<i>P. luteola</i>

Anexo C – Quadro 3 - Contagens e identificações de leveduras do gênero *Candida*, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/
Pseudomonas spp. no grupo de pacientes de Lúpus Eritematoso Sistêmico.

(continuação)

Paciente	UFC/ml	<i>Candida</i> spp.	UFC/ml	<i>Staphy</i> spp.	UFC/ml	Enterobacterias / <i>Pseudomonas</i> spp.
P14	14	<i>C. albicans</i>	113	<i>S. epidermidis</i>	1	<i>K. oxytoca</i>
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. epidermidis</i>		
P15	162	<i>C. albicans</i>	10	<i>S. warneri</i>	79	<i>S. marcescens</i>
				<i>S. aureus</i>		
P16	122	<i>C. albicans</i>	171	<i>S. aureus</i>	0	
		<i>C. albicans</i>		<i>S. aureus</i>		
				<i>S. aureus</i>		
				<i>S. aureus</i>		
P17	1	<i>C. albicans</i>	30	<i>S. epidermidis</i>	54	<i>E. coli</i>
				<i>S. epidermidis</i>		<i>E. coli</i>
						<i>E. sakazakii</i>
						<i>S. marcescens</i>
P18	54	<i>C. albicans</i>	318	<i>S. aureus</i>	38	<i>R. terrigena</i>
		<i>C. albicans</i>		<i>S. aureus</i>		<i>R. terrigena</i>
				<i>S. xylosum</i>		<i>E. cloacae</i>
				<i>S. epidermidis</i>		<i>E. cloacae</i>
P19	3	<i>C. albicans</i>	620	<i>S. warneri</i>	0	
		<i>C. albicans</i>		<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. aureus</i>		
P20	80	<i>C. albicans</i>	127	<i>S. xylosum</i>	2	<i>E. cloacae</i>
P21	0		42	<i>S. aureus</i>	0	
				<i>S. aureus</i>		
P22	4	<i>C. dubliniensis</i>	51	<i>S. epidermidis</i>	0	
		<i>C. albicans</i>		<i>S. epidermidis</i>		
P23	0		1148	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
P24	0		205	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		

Anexo C – Quadro 3 - Contagens e identificações de leveduras do gênero *Candida*, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/
Pseudomonas spp. no grupo de pacientes de Lúpus Eritematoso Sistêmico.

(conclusão)

Paciente	UFC/ml	<i>Candida</i> spp.	UFC/ml	<i>Staphy</i> spp.	UFC/ml	Enterobacterias / <i>Pseudomonas</i> spp.
P25	0		0		36	<i>K. oxytoca</i>
						<i>P. luteola</i>
P26	0		0		0	
P27	90	<i>C. albicans</i>	196	<i>S. aureus</i>	0	
		<i>C. famata</i>		<i>S. aureus</i>		
P28	29	<i>C. albicans</i>	0		8	<i>K. pneumoniae</i>
		<i>C. albicans</i>				<i>P. oryzihabitans</i>
P29	0		87	<i>S. haemolyticus</i>	0	
				<i>S. warneri</i>		
P30	0		221	<i>S. warneri</i>	32	<i>E. aerogenes</i>
				<i>S. warneri</i>		<i>Pantoea</i> spp.
				<i>S. epidermidis</i>		
P31	0		0		0	
P32	20	<i>C. albicans</i>	9	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
P33	28	<i>C. albicans</i>	13	<i>S. epidermidis</i>	4	<i>E. amnigenus</i>
				<i>S. epidermidis</i>		<i>Citrobacter koseri</i>
P34	444	<i>C. tropicalis</i>	26	<i>S. epidermidis</i>	0	
		<i>C. albicans</i>		<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. warneri</i>		
				<i>S. aureus</i>		
P35	0		0		0	
P36	1718	<i>C. glabrata</i>	1971	<i>S. aureus</i>	66	<i>S. marcescens</i>
				<i>S. lugdunensis</i>		<i>S. liquefaciens</i>
						<i>Pantoea</i> spp.
P37	2	<i>C. albicans</i>	19	<i>S. chromogenes</i>	0	
				<i>S. aureus</i>		
				<i>S. epidermidis</i>		
P38	12	<i>C. tropicalis</i>	13	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. warneri</i>		
				<i>S. warneri</i>		
P39	422	<i>C. albicans</i>	2	<i>S. aureus</i>	0	
				<i>S. aureus</i>		
P40	2	<i>C. albicans</i>	212	<i>S. warneri</i>	0	
				<i>S. saprophyticus</i>		
				<i>S. cohnii</i>		
				<i>S. xylosus</i>		

Anexo D – Quadro 4 - Contagens e identificações de leveduras do Gênero *Candida*, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. no grupo de indivíduos controle.

(continua)

Controles	UFC/ml	<i>Candida</i> spp.	UFC/ml	<i>Staphy</i> spp.	UFC/ml	Enterobacterias / <i>Pseudomonas</i> spp.
C1	0		0		0	
C2	0		0		0	
C3	0		1250	<i>S. aureus</i>	0	
				<i>S. aureus</i>		
C4	1750	<i>C. albicans</i>	50	<i>S. aureus</i>	25	<i>S. ficaria</i>
						<i>S. ficaria</i>
C5	0		50	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
C6	0		0		0	
C7	125	<i>C. albicans</i>	275	<i>S. xylosus</i>	0	
				<i>S. lugdunensis</i>		
C8	1900	<i>C. albicans</i>	0		0	
		<i>C. albicans</i>				
C9	0		50	<i>S. warneri</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. hominis</i>		
C10	25	<i>C. parapsilosis</i>	1275	<i>S. epidermidis</i>	500	<i>K. oxytoca</i>
				<i>S. aureus</i>		<i>E. cloacae</i>
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. epidermidis</i>		
C11	0		975	<i>S. warneri</i>	10	<i>P. luteola</i>
				<i>S. aureus</i>		<i>S. liquefaciens</i>
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. epidermidis</i>		
C12	0		150	<i>S. epidermidis</i>	700	<i>P. luteola</i>
				<i>S. aureus</i>		<i>P. luteola</i>
C13	0		350	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
C14	25	<i>C. albicans</i>	125	<i>S. epidermidis</i>	400	<i>P. luteola</i>
						<i>S. liquefaciens</i>
C15	100	<i>C. albicans</i>	100	<i>S. epidermidis</i>	0	
		<i>C. albicans</i>		<i>S. capitis</i>		

Anexo D – Quadro 4 - Contagens e identificações de leveduras do Gênero *Candida*, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. no grupo de indivíduos controle.

(continuação)

Controles	UFC/ml	<i>Candida</i> spp.	UFC/ml	<i>Staphy</i> spp.	UFC/ml	Enterobacterias / <i>Pseudomonas</i> spp.
C16	200	<i>C. albicans</i>	2200	<i>S. epidermidis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
C17	0		475	<i>S. capitis</i>	450	<i>S. liquefaciens</i>
				<i>S. aureus</i>		
C18	25	<i>C. parapsilosis</i>	25	<i>S. saprophyticus</i>	0	
C19	4400	<i>C. tropicalis</i>	3100	<i>S. aureus</i>	125	<i>S. marcescens</i>
		<i>C. famata</i>		<i>S. epidermidis</i>		
C20	0		350	<i>S. epidermidis</i>	125	<i>E. cloacae</i>
				<i>S. warneri</i>		<i>Hafnia alvei</i>
C21	0		0		425	<i>P. luteola</i>
						<i>E. cloacae</i>
C22	1413	<i>C. albicans</i>	1925	<i>S. aureus</i>	0	
		<i>C. albicans</i>				
C23	1638	<i>C. dubliniensis</i>	21250	<i>S. epidermidis</i>	1650	<i>S. liquefaciens</i>
				<i>S. epidermidis</i>		<i>S. liquefaciens</i>
				<i>S. epidermidis</i>		
C24	0		150	<i>S. epidermidis</i>	1563	<i>Citrobacter freundii</i>
				<i>S. aureus</i>		<i>P. luteola</i>
						<i>S. liquefaciens</i>
						<i>P. aeruginosa</i>
C25	0		0		0	
C26	350	<i>C. albicans</i>	338	<i>S. cohnii</i> spp. <i>cohniii</i>	11200	<i>E. cloacae</i>
		<i>C. albicans</i>		<i>S. epidermidis</i>		
		<i>C. albicans</i>		<i>S. sciuri</i>		
		<i>C. albicans</i>		<i>S. epidermidis</i>		
C27	25	<i>C. albicans</i>	788	<i>S. aureus</i>	13	<i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>
		<i>C. albicans</i>				<i>E. aerogenes</i>
C28	113	<i>C. glabrata</i>	1675	<i>S. aureus</i>	1350	<i>E. cloacae</i>
		<i>C. glabrata</i>				
C29	138	<i>C. albicans</i>	6775	<i>S. xylosus</i>	50	<i>E. cloacae</i>
		<i>C. albicans</i>		<i>S. simulans</i>		<i>E. cloacae</i>
				<i>S. saprophyticus</i>		
C30	0		400		0	

Anexo D – Quadro 4 - Contagens e identificações de leveduras do Gênero *Candida*, *Staphylococcus* spp. e Enterobactérias/*Pseudomonas* spp. no grupo de indivíduos controle.

(conclusão)

Controles	UFC/ml	<i>Candida</i> spp.	UFC/ml	<i>Staphy</i> spp.	UFC/ml	Enterobactérias / <i>Pseudomonas</i> spp.
C31	0		663	<i>S. epidermidis</i>	225	K. pneumoniae spp. pneumoniae
				<i>S. epidermidis</i>		E. sakazakii
				<i>S. epidermidis</i>		K. oxytoca
C32	0		463	<i>S. epidermidis</i>	43750	E. cloacae
				<i>S. epidermidis</i>		
				<i>S. aureus</i>		
				<i>S. aureus</i>		
C33	0		13	<i>S. epidermidis</i>	0	
C34	0		13	<i>S. capitis</i>	0	
				<i>S. epidermidis</i>		
C35	2013	<i>C. albicans</i>	675	<i>S. epidermidis</i>	1650	K. oxytoca
		<i>C. albicans</i>		<i>S. aureus</i>		K. oxytoca
						P. luteola
						P. luteola
						K. pneumoniae spp. pneumoniae
						K. pneumoniae spp. pneumoniae
C36	513	<i>C. albicans</i>	3300	<i>S. aureus</i>	0	
		<i>C. albicans</i>				
C37	0	<i>C. albicans</i>	1038	<i>S. hominis</i>	25	E. cloacae
		<i>C. albicans</i>		<i>S. aureus</i>		Ac. baumannii calcoaceticus
C38	0		138	<i>S. epidermidis</i>	288	
				<i>S. epidermidis</i>		E. cloacae
				<i>S. epidermidis</i>		K. oxytoca
				<i>S. hominis</i>		
C39	1788	<i>C. albicans</i>	425	<i>S. epidermidis</i>	50000	E. cloacae
		<i>C. albicans</i>				
		<i>C. albicans</i>				
		<i>C. famata</i>				
		<i>C. albicans</i>				
C40	0		925	<i>S. aureus</i>	11250	P. luteola
				<i>S. aureus</i>		K. pneumoniae spp. pneumoniae
				<i>S. aureus</i>		K. pneumoniae spp. pneumoniae
				<i>S. epidermidis</i>		E. sakazakii

Anexo E – Certificado do Comitê de Ética de Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Faculdade de Odontologia – campus de São José dos Campos

unesp  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Dimas
CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9028
Fax: (12) 3947-9010 unesp@foso.unesp.br

CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Seres Humanos

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº **084/2007-PH/CEP**, sobre “ **Prevalência e sensibilidade aos antimicrobianos de microrganismos potencialmente superinfetantes na cavidade bucal de pacientes com lúpus “eritematoso sistêmico”**”, sob a responsabilidade de **CRISTIANE YUMI KOGA ITO** está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa, envolvendo seres humanos, conforme Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 31 de outubro de 2007.



Prof. Dra. Suely Carvalho Mutti Naressi
Coordenadora do CEP/HUMANOS/FOSJC

Anexo F – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 21 de dezembro de 2007.
CEP 2001/07

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) EMILIA INOUE SATO
Co-Investigadores: Cristiane Yumi Koga Ito, Daniel Freitas, Edna Aparecida Ferraz de Araújo Navas
Disciplina/Departamento: Reumatologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Prevalência e sensibilidade aos antimicrobianos de microrganismos potencialmente superinfecantes na cavidade bucal de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Estudo clínico observacional transversal - multicêntrico nacional.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: sem risco, desconforto mínimo, nenhum procedimento invasivo.

OBJETIVOS: Avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida*, estafilococos, enterobactérias e *Pseudomonas* spp., na cavidade bucal destes pacientes comparando os resultados com indivíduos controles.

RESUMO: Serão incluídos no estudo 40-50 indivíduos, com idade de 18 a 35 anos, diagnosticados clinicamente como portadores de LES e em tratamento por pelo menos 60 dias. Estes pacientes serão selecionados dentre aqueles em tratamento no Ambulatório de Doenças Reumáticas Auto-Imunes da Disciplina de Reumatologia, Departamento de Medicina da Unifesp. Para o grupo controle, serão selecionados 40-50 indivíduos sistematicamente saudáveis com perfil semelhante (quanto à idade, sexo e condições bucais), dentre os pacientes das clínicas da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP. Serão avaliados durante a realização da anamnese os dados pessoais, as condições de saúde geral e bucal de todos os indivíduos, a dosagem e tempo de tratamento. Será também realizado exame intra-bucal, pelo mesmo examinador, para avaliação da presença de lesões bucais e determinação do índice CPO-D. Os dados serão anotados em ficha própria. A amostra do enxágue bucal será semeada em meios de cultura específicos para cada microrganismo e após período de incubação serão realizadas contagens de unidades formadoras de colônia(ufc), obtendo-se o número de ufc/mL. A partir dos isolados obtidos, serão realizadas provas de identificação a fim de caracterizar as espécies de gêneros em estudo. Os dados de contagem de ufc serão comparados entre os grupos em estudo, utilizando o teste t de Student. As prevalências das espécies de microrganismos isolados serão comparadas nos grupos LES e controle. Serão também realizados testes de suscetibilidade aos antifúngicos dos isolados de leveduras e antibióticos dos isolados bacterianos obtidos, assim como analisadas possíveis associações entre a presença de culturas positivas e uso de imunossupressores e dose de corticóides..



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Os dados gerados por este estudo podem trazer subsídios importantes para a terapia antibiótico profilática e de tratamento de doenças infecciosas bucais.

MATERIAL E MÉTODO: descritos os procedimentos que serão realizados.

TCLE: apresentado adequadamente.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: sem financiamento específico.

CRONOGRAMA: 24 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: .

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 20/12/2008 e 20/12/2009.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

CEP 3801/01

Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido**Termo de consentimento livre e esclarecido**

Eu, Edna Aparecida Ferraz de Araújo Navas, Biomédica, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Cristiane Yumi Koga Ito, portadora do CPF 157 453 278-20, RG 19 491 653-4, CRO 52 286; estabelecida na Rua Armando de Oliveira Cobra, 99, CEP 12 240-610, na cidade de São José dos Campos, cujo telefone de contato (12) 3947 9033, vou desenvolver uma pesquisa cujo título é “Prevalência e sensibilidade aos antimicrobianos de microrganismos potencialmente superinfecantes na cavidade bucal de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico”.

O objetivo deste estudo é estudar a presença de alguns tipos de microrganismos na boca de pacientes com lúpus. Desta forma, é necessário coletar amostras por meio de enxágüe bucal em recipientes descartáveis e que serão levados ao laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos para serem processados. Este enxágüe consiste em bochechar solução fisiológica durante 1 minuto. Este processamento será de passar a amostra para meios de cultura específicos e verificar a presença destes microrganismos. O trabalho é de extrema importância, pois vai fornecer aos médicos e aos dentistas informações necessárias para a prevenção de doenças causadas por estes microrganismos nos pacientes com Lúpus.

O Sr (a) tem a garantia de acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas e sobre o andamento do trabalho. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, situada na Av. Eng. Francisco José Longo, 777, CEP 12 245-000, em São José dos Campos, Fone: 3947 9033 e comunique-se com o coordenador Profa. Dra. Suely Mutti Naressi. Informo que será garantida a liberdade de retirada do consentimento a qualquer momento e assim deixar de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela colaboração.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Acredito ter sido esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Prevalência e sensibilidade aos antimicrobianos de microrganismos potencialmente superinfecantes na cavidade bucal de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico”, e concordo em participar sabendo quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que a minha participação não implicará em nenhuma despesa. Concordo em participar voluntariamente deste estudo e com a publicação anônima dos dados gerados por ele. Poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade, prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Data: ____/____/____

Nome do paciente: _____ RG: _____

Endereço completo _____

Assinatura do paciente

Assinatura da pesquisadora

Apêndice B – Ficha clínica utilizada na anamnese e exame clínico dos pacientes.**FICHA CLÍNICA**

Nome: _____

Sexo: () Fem () Masc Cor: ()branca () não branca Idade: _____

Residência: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ Estado: _____ Fone: _____

Natural de: _____ Nacionalidade: _____

Coleta: ___/___/___

(Para os pacientes LES)

PRONTUÁRIO MÉDICO: _____

01. Tempo de tratamento: _____

02. Medicamento/dosagem: (nos últimos 60 dias)

() prednisona _____ () ciclosporina _____ () micofenolato _____ () cloroquina _____

() azatioprina _____ () talidomida _____ pulsoterapia () ciclofosfamida _____
() corticosteróide _____

03. SLEDAI/comprometimento: _____

04. Outras patologias: _____

EXAMES LABORATORIAIS COMPLEMENTARES (atuais):

01. HEMOGRAMA: Hb/Ht _____

leucócitos _____

linfócitos _____

02. VHS: ____/____

03. CREATININA: _____

04. PROTEINÚRIA 24hs: _____

Apêndice B – Ficha clínica utilizada na anamnese e exame clínico dos pacientes.
(continuação)

(Para todos os pacientes)

ANAMNESE- HISTÓRIA MÉDICA

01. Está grávida? () Sim () Não

02. É diabético? () Sim () Não

03. Algum destes hábitos? () Fumo () Álcool () Dependência química

04. Medicamentos nos últimos 60 dias: () Antidepressivos () Antibióticos () Antifúngicos

ANAMNESE - HISTÓRIA DENTAL

01. Sente a boca seca? () Sim () Não

02. Escova os dentes? () Sim () Não Quantas vezes ao dia? _____

Navas EAFA. Prevalence of potentially superinfectant microorganisms from the oral cavity of systemic erithematous lupus [doctorate thesis]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Universidade Estadual Paulista; 2009.

ABSTRACT

Considering that patients with systemic erithematous lupus are treated with corticoids and immunossuppressive drugs, this condition may interfere in the presence of potentially opportunistic microorganisms in the oral cavity. The aim of this study was to evaluate the presence of Candida spp. staphylococci, enterobacteria and Pseudomonas spp. in the oral cavity of patients with systemic erithematous lupus (LES) comparing the results with control individuals. Forty patients aged 19-53 years with LES and under therapy for at least 60 days were selected. For the control group, 40 healthy individuals paired to the test group in relation to age, gender and oral conditions were selected. Diabetic and other systemic diseases patients, denture users and individuals under therapy with drugs that affect the oral conditions were not included. Clinical examination, anamnesis and oral rinses sampling were performed. Oral rinse samples were plated on specific culture media and after the period of incubation the number of colony forming units were counted, and the value of cfu/ml was obtained. The isolates were identified in order to obtain the species. The counts of microorganisms were compared between LES and control groups by ANOVA, Mann Whitney (5%). Also, counts of microorganisms in patients under treatment with immunossuppressive drugs of not and positive or negative activity of the disease (SLEDAI) were compared. No significant differences in the counts of microorganisms between the studied groups were observed (yeasts, $p= 0.55$; staphylococci, $p=0.24$; enterobacteria/Pseudomonas spp., $p=0.26$). No differences in the counts of microorganisms were observed related to the clinical parameters tested. Higher prevalence of Candida albicans and Staphylococcus epidermidis was observed in LES and control group. Klebsiella oxytoca was the most frequently observed in the LES group and Enterobacter cloacae in the control group.

Keywords: systemic erithematous lupus, superinfection, immunossuppressive drugs.