

GRAZIELLA NUERNBERG BACK BRITO

**PRESENÇA DE *CANDIDA*, *STAPHYLOCOCCUS*,
ENTEROBACTERIACEAE E PSEUDOMONADACEAE NA
CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES HIV POSITIVOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

GRAZIELLA NUERNBERG BACK BRITO

**PRESENÇA DE *CANDIDA*, *STAPHYLOCOCCUS*,
ENTEROBACTERIACEAE E PSEUDOMONADACEAE NA
CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES HIV POSITIVOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Yumi Koga-Ito

São José dos Campos
2006

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Ao meu marido Manoel Luiz Gonçalves Brito, que durante nossos primeiros meses de casados soube entender minha dedicação a este trabalho e minha ausência em muitos momentos. Obrigada pelo apoio nos momentos difíceis, por trazer paz e serenidade nas horas conturbadas, por estar sempre ao meu lado. Você é a pessoa mais importante da minha vida, hoje e sempre!

Aos meus pais, que sempre zelaram por mim, que muitas vezes adiaram seus sonhos e projetos para que eu pudesse realizar os meus. Graças a vocês dois, sou o que sou e estou onde estou. Obrigada pelo empenho em minha educação, pelo exemplo, apoio, por todo carinho e amor. Amo muito vocês!

DEDICATÓRIA

A todos que me incentivaram a ingressar na vida acadêmica, que me apoiaram, torceram por mim e que contribuíram não só para a realização deste trabalho, mas para a concretização de um sonho.

Aos pacientes HIV positivos, seus familiares e amigos. Que a esperança de cura persista!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, **Prof. Adj. Paulo Villela Santos Júnior**, e do vice-diretor **Prof. Dr. José Roberto Rodrigues**;

À **Profa. Adj. Rosilene Fernandes da Rocha**, coordenadora do Programa de Pós-graduação em odontologia, na Área de Biopatologia Bucal, pela competência e dedicação com que administra este curso, pelo auxílio e amizade;

A todos os professores do **Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal** que colaboraram no projeto deste trabalho e nesta etapa de minha formação profissional, em especial a **Profa. Adj. Yasmin Rodarte Carvalho** que carinhosamente me recebeu, logo no início deste curso;

A **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão de minha bolsa de estudo e a **FAPESP** (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio à pesquisa (Processo nº04/12382-6);

À minha orientadora **Profa. Dra. Cristiane Yumi Koga Ito**, pela amizade e por todo ensinamento, pela confiança em mim depositada, por todo apoio e auxílio na execução prática deste trabalho e pela orientação durante a elaboração desta dissertação. Além de agradecer, deixo registrado meu enorme respeito e gratidão;

Ao **Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge** por gentilmente me receber no Laboratório de Microbiologia desta faculdade e por toda atenção e colaboração destinada a mim e a este trabalho. Grande exemplo de professor e pesquisador;

À **Profa. Dra. Juliana Campos Junqueira**, da Disciplina de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal pela amizade e convivência;

À **Patrícia Monteiro Ribeiro**, minha primeira referência no início deste curso e que prosseguiu durante estes dois anos me apoiando e ajudando dentro e fora dos limites desta faculdade, como uma verdadeira “mãezona”. Tenho por você grande amizade e admiração;

À minha amiga e “irmã” **Silvia Maria Rodrigues Querido**, que esteve sempre ao meu lado, colaborando em todos os momentos deste trabalho e em minha vida nestes anos. Sua amizade, seu companheirismo, sua alegria, suas histórias tornaram a rotina do trabalho mais simples e agradável. Agradeço-lhe de coração;

Aos colegas, **Edson, Karla, Luciane, Edna, Fátima e Thaís** que dividiram comigo o dia-a-dia do laboratório de microbiologia, e puderam vivenciar o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço também aos alunos de iniciação científica, em especial a **Thassia Castro de Vasconcellos**, aos estagiários, técnicos de laboratório e alunos da pós-graduação de outras áreas que também compartilharam dessa jornada;

A colega **Francine Cristina da Silva Rosa**, que intermediou os primeiros contatos que possibilitaram a coleta das amostras e pelo convívio laboratório;

À **Sílvia Scarpel** por toda instrução e amizade;

À **Ângela de Brito Bellini** pela revisão da estrutura do trabalho e às demais funcionárias da biblioteca pela atenção e paciência;

Às secretárias da Seção de Pós-graduação **Rosemary de Fátima Salgado, Erena Michie Hasegawa, Lílian Faria das Graças e Maria Aparecida Consiglio de Souza**, pela gentileza, presteza e disponibilidade no decorrer do curso;

Ao **Prof. Ivan Balducci**, da Disciplina de Bioestatística do Departamento de Odontologia Social da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, pela elaboração da análise estatística, e ao **Fernando Claro**, responsável pelo cálculo do tamanho amostral do projeto desta pesquisa;

Ao **Carlos Guedes** por toda colaboração referente ao processo FAPESP;

A **Maria de Fátima Pires** e a todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos;

A **Profa. Dra. Ana Cristina de Oliveira Solis e Profa. Dra. Maria Aparecida Neves Jardim**, que me ingressaram na pesquisa durante a graduação e que foram as principais responsáveis pela minha opção em fazer o mestrado. Muito obrigada pelo apoio e incentivo;

A **Profa. Dra. Silvana Soléo Ferreira dos Santos** e aos técnicos do laboratório de Microbiologia da UNITAU, pela orientação na utilização do sistema API e em outras provas de identificação deste trabalho.

A **Profa. Dra. Célia Regina Gonçalves e Silva** que participou do exame de qualificação de meu mestrado;

Ao **Fábio Hasegawa**, representante da Bio-Merieux;

Ao **Departamento de Saúde** da Prefeitura de Taubaté, **Hospital Dia do Hospital Escola** (antigo CEDIT) da Universidade de Taubaté e ao **Ambulatório Regional de Especialidades** do Estado de São Paulo, que permitiram o contato com os pacientes para a coleta das amostras;

Ao **Dr. Alexandre de Souza de Macedo Reis** que nos recebeu com muita simpatia, nos cedeu um espaço para a coleta e nos orientou sobre toda parte médica. Tenho muito a agradecê-lo, por toda colaboração e respeito;

A **Dra. Maria Elisa Moreira**, que com a mesma gentileza e colaboração nos recebeu no Ambulatório Regional de Especialidades;

Ao **Prof. Francisco Gorgonio da Nóbrega** pela oportunidade de trabalho em parceria com o Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da UNIVAP.

A todos os **pacientes** que apesar de tantos exames a que são submetidos e todo sofrimento que enfrentam, contribuíram para a realização deste estudo;

Ao **Manoel Luiz Gonçalves Brito**, meu marido, por toda compreensão, apoio e carinho. Agradeço a Deus por tê-lo colocado em meu caminho. Eu o amo muito;

A minha **família**, por ser minha base, meu exemplo, meu porto seguro. Aos meus **pais** por compartilharem comigo esta empreitada;

A **família de meu marido**, em especial a **D. Gipsi e Sr. Manoel** que carinhosamente me acolheram muitas vezes em seu lar e a **Emanuele** que dividiu comigo seu quarto;

Aos meus **amigos pessoais**, que também souberam entender as minhas faltas, os meus “sumiços”. Sei o quanto vocês torcem por mim e que estão sempre ao meu lado. Obrigada;

A **DEUS**, força maior que guia meus caminhos, só tenho a agradecer.

*“Feliz aquele que
transfere o que sabe e
aprende o que ensina.”*

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	12
RESUMO.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS).....	18
2.1.1 Dados epidemiológicos.....	24
2.3 Microrganismos potencialmente superinfectantes	26
2.4 Gênero <i>Candida</i>.....	31
2.4.1 Características gerais e fatores de virulência.....	31
2.4.2 Gênero <i>Candida</i> na cavidade bucal.....	37
2.5 Gênero <i>Staphylococcus</i>.....	44
2.5.1 Características gerais e fatores de virulência	44
2.5.2 Gênero <i>Staphylococcus</i> na cavidade bucal	50
2.6 Família Enterobacteriaceae e Pseudomonaceae	53
2.6.1 Características gerais e fatores de virulência da família Enterobacteriaceae.....	53
2.6.2 Características gerais e fatores de virulência da família Pseudomonadaceae	56
2.6.3 Enterobactérias e <i>Pseudomonas</i> spp. na cavidade bucal	58
3 PROPOSIÇÃO.....	61
4 MATERIAL E MÉTODO.....	62
4.1 Aspectos éticos.....	62
4.2 Cálculo do tamanho amostral.....	62
4.3 Grupo de estudo.....	63
4.4 Grupo controle.....	63

4.5 Critérios de inclusão.....	64
4.6 Critérios de exclusão.....	64
4.7.....	64
Anamnese.....	
...	
4.8.....	65
Exame clínico.....	
4.9 Coleta das amostras.....	65
4.10 Processamento das amostras.....	66
4.11 Identificação das amostras de <i>Candida</i>.....	67
4.11.1 Produção de tubo germinativo.....	67
4.11.2 Microcultivo.....	68
4.11.3 Fermentação de carboidratos (Zimograma).....	69
4.11.4 Assimilação de carboidratos (Auxonograma).....	69
4.12 Identificação das amostras de <i>Staphylococcus</i>.....	72
4.12.1 Produção de catalase.....	72
4.12.2 Produção de coagulase.....	72
4.12.3 Produção de ácido a partir da D-trealose.....	73
4.12.4 Voges-Proskauer.....	73
4.12.5 Sistema API Staph (Bio-Merieux, França).....	75
4.13 Identificação das amostras de Enterobactérias e <i>Pseudomonas</i>	75
4.13.1 Sistema API 20 E (<i>Bio-Merieux</i> , França).....	75
4.14 Análise estatística.....	76
5 RESULTADOS.....	77
5.1 Gênero <i>Candida</i>.....	77
5.2 Gênero <i>Staphylococcus</i>.....	81
5.3 Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae.....	86
5.4 Contagens dos microrganismos em relação as variáveis clínicas (grupo HIV).....	91
5.5 Contagens dos microrganismos em relação aos pacientes.....	98

fumantes e não fumantes do grupo HIV.....	
6 DISCUSSÃO.....	101
7 CONCLUSÃO.....	115
8 REFERÊNCIAS	117
ANEXO.....	151
APÊNDICES.....	152
<i>ABSTRACT</i>	159

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS/SIDA = Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANOVA = análise de variância
API = sistema de identificação padronizado
ARE = Ambulatório regional de especialidades do estado de São Paulo
ART = anti-retroviral
BHI = Infusão cérebro-coração
C = *Candida*
CB = cavidade bucal
CCR5 = co-receptor de membrana de macrófagos e células dendríticas
CD4 = *clusters of differentiation*
CDC = *Centers for Disease Control and Prevention*
CI = clamidoconídeo
CXCR4 = co-receptor de membrana de linfócitos T
DNA = Ácido desoxirribonucléico
E = estafilococos
ELISA = Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima
EP = enterobactérias e/ou pseudomonas
EUA = Estados Unidos da América
g = grama
GL= glicose
GA = galactose
gp = glicoproteínas
h = hora
HAART = *highly active anti-retroviral therapy*
Hf = Hifa
HIV = Vírus da Imunodeficiência Humana
HIV-1 = Vírus da Imunodeficiência Humana subtipo 1
HIV-2 = Vírus da Imunodeficiência Humana subtipo 2
HTLV-III = Vírus T-Linfotrópico Humano tipo III
Ig = Imunoglobulina
L = lactose
LAV = Vírus Associado à Linfadenopatia

LTR = Repetições terminais longas
M = maltose
mg = miligrama
mL = mililitros
mm³ = milímetros cúbicos
MRSA = *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes
nm = nanômetros
OMS = Organização Mundial de Saúde
PBS = tampão fosfato
PCR = Reação em cadeia da polimerase
pH = potencial hidrogênio-iônico
PMN = Polimorfonuclear neutrófilo
R = rafinose
RNA = Ácido ribonucléico
S = sacarose
SAP = Proteinases aspartil secretórias
SIVcpz = Vírus da Imunodeficiência dos Símios de chimpanzés
SIVsm = Vírus da Imunodeficiência dos Símios de macacos mangabey
SP = sítios periodontais
spp. = espécies
SUS = Sistema Único de Saúde
TARV = terapia anti-retroviral
TG = tubo germinativo
Th = linfócito T *helper*
TSA = *Tryptic Soy Agar*
TSI = Tríplice Açúcar Ferro
TSST-1 = toxina1 da Síndrome do choque tóxico
UDI = usuários de drogas injetáveis
UFC = unidades formadoras de colônias
VP = Voges-Proskauer
WHO = *World Health Organization*
xg = vezes gravidade
µL = microlitros
% = porcentagem
°C = grau Celsius
< = menor
> = maior

BACK-BRITO, G. N. **Presença de *Candida*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* na cavidade bucal de pacientes HIV positivos.** 2006. 159f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de Concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

RESUMO

Alterações na microbiota bucal podem ocorrer na vigência de doenças sistêmicas e durante o tratamento destas, ocasionando superinfecções. Reservatórios bucais de patógenos potenciais, como *Candida*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* podem ocasionar infecções bucais ou sistêmicas e comprometer a vida de pacientes imunossuprimidos. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de microrganismos dos gêneros *Candida* e *Staphylococcus* e das famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonaceae* na cavidade bucal e sítios periodontais de indivíduos HIV positivos. Foram estudados 45 pacientes HIV positivos e 45 indivíduos sistemicamente saudáveis com perfil semelhante aos HIV positivos. Enxágües bucais e amostras de sítios periodontais foram obtidos e a partir destes foi realizada avaliação da prevalência dos microrganismos e identificação fenotípica dos isolados. As contagens de microrganismos dos grupos HIV e controle foram comparados estatisticamente pelo teste de Mann-Whitney (5%). Leveduras do gênero *Candida* e *Enterobacteriaceae*/*Pseudomonadaceae* foram detectadas em número significativamente maior na cavidade bucal e sítios periodontais dos pacientes HIV positivos em relação aos controles, sendo *C. albicans* e *Enterobacter cloacae* as espécies prevalentes em ambos os grupos. Não foi observada diferença estatisticamente significativa nas contagens de estafilococos nos grupos estudados. A presença dos microrganismos na cavidade bucal e sítios periodontais dos pacientes HIV foi avaliada em relação às contagens de células CD4+ e carga viral pelo teste ANOVA Kruskal-Wallis (5%). As contagens de enterobactérias e pseudomonas foram significativamente menores na cavidade bucal de pacientes com baixas contagens de células CD4+. Contagens de *Candida* spp. e *Staphylococcus* spp. apresentaram-se mais baixas na cavidade bucal de pacientes com menor carga viral. As contagens dos microrganismos nos pacientes HIV positivos fumantes e não fumantes foram comparadas pelo teste Mann-Whitney (5%), não havendo diferença estatisticamente significativa. Concluiu-se que o grupo HIV apresentou maior prevalência de *Candida* spp. e *Enterobacteriaceae*/*Pseudomonaceae* e maior diversidade de espécies em relação ao grupo controle.

PALAVRAS-CHAVE: HIV; Síndrome da Imunodeficiência Adquirida; infecção; bactérias; leveduras.

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS/SIDA) foi reconhecida em meados de 1981, nos Estados Unidos da América (EUA), a partir da identificação de um número elevado de pacientes adultos do sexo masculino, homossexuais e moradores de São Francisco ou Nova Iorque, que apresentavam Sarcoma de Kaposi, pneumonia por *Pneumocystis carinii* e comprometimento do sistema imune, o que levou à conclusão de que se tratava de uma nova doença, ainda não classificada, de etiologia provavelmente infecciosa e transmissível. Somente em 1983, o agente etiológico foi isolado de pacientes com AIDS. Três anos depois, em 1986, foi identificado um segundo vírus com características semelhantes ao primeiro. Nesse mesmo ano, recomendou-se *Human Immunodeficiency Virus* ou Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) para denominá-lo, reconhecendo-o como capaz de infectar seres humanos. O HIV é um retrovírus com a capacidade de infectar células de defesa por meio do receptor CD4 (BRASIL²⁶, 2003) levando à diminuição no número de células T auxiliares, com conseqüente perda da função imunológica.

O HIV-1 e o HIV-2 passaram a infectar o homem há poucas décadas sendo que alguns trabalhos científicos recentes sugerem que isso tenha ocorrido entre os anos 40 e 50 (BRASIL²⁶, 2003). Atualmente, estima-se que há aproximadamente 40,3 milhões de pessoas infectadas com o vírus HIV em todo o mundo, sendo que no Brasil existem, aproximadamente, 600 mil portadores do vírus HIV (BRASIL²⁷, 2005). A região Sudeste concentra 68,7% dos casos de AIDS e dos cem municípios brasileiros com o maior número de casos notificados de AIDS (por cem mil habitantes) estão quatro municípios da

Região do Vale do Paraíba, conforme os dados do Ministério da Saúde²⁵ (2003).

Manifestações bucais e infecções oportunistas geralmente estão presentes nestes pacientes e são decorrentes da evolução da infecção, sendo as mais freqüentes: candidose bucal, doenças periodontais necrosantes e leucoplasia pilosa, entre outras (KHONGKUNTHIAN et al.¹⁰⁶, 2001; BENDICK et al.¹⁵, 2002; VILLAÇA & MACHADO²³⁶, 2004). Cerca de 90% dos pacientes com AIDS apresentam pelo menos uma manifestação bucal (BENDICK et al.¹⁵, 2002; VILLAÇA & MACHADO²³⁶, 2004), o que faz com que o cirurgião – dentista tenha um importante papel, não somente na conduta e tratamento das lesões presentes, como também no diagnóstico da infecção pelo HIV e na prevenção de outras patologias.

A microbiota bucal em indivíduos saudáveis é relativamente estável, mas significantes alterações podem ocorrer na presença de doenças sistêmicas e durante o tratamento destas (JOBINS et al.⁹⁹, 1992; HÄGG et al.⁷⁹, 2004). Enterobactérias, estafilococos e leveduras são considerados microrganismos superinfectantes e podem ser encontrados na saliva, mucosas bucais, biofilme supragengival e em bolsas periodontais (SLOTS et al.²⁰⁸, 1988; RAMS et al.¹⁸¹⁻², 1990; SLOTS et al.^{205,207}, 1990; FLYNN & SLOTS⁶², 1993; PANNUTI et al.¹⁶⁷, 2001). Sua ocorrência na cavidade bucal tem sido associada à antibioticoterapia prolongada, resposta imune deficiente e higiene bucal inadequada (SLOTS et al.²⁰⁹ 1991; HELOVUO et al.⁸⁵, 1993; DAHLÉN & WIKSTRÖM⁴⁹, 1995; VAN WINKELHOFF et al.²³², 1996).

A presença de espécies bacterianas, não consideradas como periodontopatógenos verdadeiros, no biofilme subgengival tem sido investigada como indicadora ou contribuinte potencial para a patogênese da doença periodontal (HAFFAJEE & SOCRANSCRY⁷⁸, 1994; LOVEGROVE¹²⁷, 2004). Villaça & Machado²³⁶ (2004) relataram que a presença de patógenos atípicos na microbiota subgengival de pacientes

soropositivos e a evolução da infecção pelo HIV, podem estar relacionadas com a rápida evolução da periodontite nesses pacientes.

Dahlén⁴⁸, em 1993, relatou que a presença de patógenos potenciais, como enterobactérias, *Staphylococcus aureus* e *Candida* spp., deveria ser considerada importante, especialmente em pacientes com desordens sistêmicas como diabetes *mellitus*, neutropenia, agranulocitose ou AIDS. Reservatórios bucais destes microrganismos podem causar patologias 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.

Apesar da importância deste assunto, poucos trabalhos a respeito de microrganismos superinfectantes na cavidade bucal destes pacientes têm sido desenvolvidos no Brasil. O maior destaque das pesquisas odontológicas brasileiras nestes pacientes tem sido as leveduras do gênero *Candida*. Visto que reservatórios bucais de patógenos potenciais, como enterobactérias, estafilococos e *Candida*, podem ocasionar infecções bucais ou sistêmicas e comprometer a vida de pacientes debilitados ou imunossuprimidos, julgou-se de grande valia o estudo da prevalência destes microrganismos potencialmente superinfectantes na cavidade bucal e sítios periodontais de pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)

Em junho de 1981, o centro de controle de doenças da cidade de Atlanta, responsável pela vigilância epidemiológica dos EUA, divulgou um artigo relatando cinco casos de pneumonia causados por *Pneumocystis carinii* em homens jovens anteriormente saudáveis, que tinham em comum o fato de serem homossexuais. Um mês depois, em julho de 1981, este mesmo centro divulgou outro artigo, relatando, desta vez, um surto de Sarcoma de Kaposi e pneumonia por *Pneumocystis carinii* entre as comunidades homossexuais masculinas de Nova Iorque e Los Angeles. A nova doença difundiu-se entre a comunidade médica como “Doença da imunodeficiência relacionada aos gays” e foi divulgada por grande parcela da mídia como “câncer gay” (VERONESI et al.²³⁴, 1999; BRASIL²⁸, 2006).

A busca do agente etiológico desta imunodepressão tornou-se prioridade para os pesquisadores envolvidos com esta nova patologia. Agentes exógenos, como fatores ambientais e químicos, e agentes infecciosos passaram a ser estudados. Os inalantes à base de nitrilo de amilo, freqüentemente usados como afrodisíacos em locais de recreação homossexual foram pesquisados. Alguns vírus também passaram a ser investigados, como o citomegalovírus e, posteriormente, alguns retrovírus. Outros pesquisadores começaram a estudar aspectos comportamentais do estilo de vida dos afetados pela doença e seus parceiros. Por meio da análise desses dados, em dezembro de 1981,

concluíram tratar-se de uma doença infecciosa, transmitida através do ato sexual. No entanto, novos casos de imunodeficiência adquirida, semelhantes aos anteriormente encontrados, foram reconhecidos, logo após, em usuários de drogas endovenosas. Relatos de casos da nova doença em heterossexuais com história recente de transfusão sangüínea levaram a hipótese de transmissão da doença por sangue contaminado. Com o surgimento de alguns casos de imunossupressão em crianças, filhos de usuárias de drogas, tornou-se evidente a ocorrência da transmissão perinatal (VERONESI et al.²³⁴, 1999).

Em 1983 o agente etiológico foi identificado. Um vírus com atividade de transcriptase reversa foi isolado a partir de um linfonodo de um paciente com linfadenopatia persistente e de um paciente com AIDS pelos pesquisadores Luc Montaigner, na França, e Robert Gallo, nos EUA, recebendo os nomes de *Lymphadenopathy Associated Virus* ou Vírus Associado à Linfadenopatia (LAV) e *Human T-Lymphotropic Virus* ou Vírus T-Linfotrópico Humano tipo III (HTLV-III) respectivamente nos dois países. Em 1986, foi identificado um segundo agente etiológico de dois pacientes com AIDS originários da África Ocidental, também retrovírus, com características semelhantes ao primeiro vírus isolado. Nesse mesmo ano, recomendou-se *Human Immunodeficiency Virus* ou Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) para denominá-lo, sendo, portanto, distingüidos em HIV-1 e HIV-2, reconhecendo-os como capazes de infectar seres humanos (VERONESI et al.²³⁴, 1999; BRASIL²⁶, 2003).

Quanto à origem do HIV, a maioria dos cientistas admite que este vírus seja originário de primatas, tendo, de alguma maneira, sido transmitido para a espécie humana. Isto porque a semelhança entre o Vírus da Imunodeficiência dos Símios de macacos mangabey (SIVsm) com o HIV-2 é tal que é provável que esses vírus tenham evoluído de um ancestral comum. Especula-se que o SIV tenha infectado o homem há cerca de 30 a 40 anos e evoluído para o HIV-2. Já o HIV-1 tem o genoma intimamente relacionado ao Vírus da Imunodeficiência dos Símios de

chimpanzés (SIVcpz), mais do que qualquer retrovírus de origem símia conhecido, podendo ser considerado subtipo do mesmo vírus. Embora tenha – se o conhecimento de um ancestral comum entre o HIV-1 e HIV-2 com primatas não humanos da África, ainda não se sabe as circunstâncias que conduziram a emergência e subsequente evolução do HIV para se tornar um importante patógeno humano (APETREI et al.⁷, 2005).

A transmissão inicial de retrovírus de primatas, como o SIVsm e SIVcpz, para o homem pode ter ocorrido de várias maneiras, seja pela ocasião da caça e captura (mordidas e escoriações), ou quaisquer contato direto com seu sangue (VERONESI et al.²³⁴, 1999; MARX et al.¹³⁶, 2004). Uma vez concretizada a transmissão, vários fatores da sociedade humana, tais como, a urbanização, promiscuidade sexual, emprego de transfusões de sangue e de hemoderivados, uso de drogas endovenosas com compartilhamento de seringas, contribuíram para a disseminação mundial (VERONESI et al.²³⁴, 1999; BLACK¹⁷, 2002).

O HIV pertence à família *Retroviridae*, e é membro da sub – família dos *Lentivirinae*, vírus lentos, pois são capazes de provocar infecções crônicas com o comprometimento neurológico lentamente progressivo (BROOKS et al.³⁰, 2000; MURRAY et al.¹⁴⁹, 2005). Possui aproximadamente 100 nm de diâmetro, é envelopado, apresentando em sua superfície uma membrana lipídica oriunda da membrana externa da célula do hospedeiro e duas glicoproteínas (gp) principais, a gp 41 e gp120 (VERONESI et al.²³⁴, 1999; MURRAY et al.¹⁴⁹, 2005). A gp120 serve como adesina primária para receptores de CD4 e a gp 41 permite a fusão do envelope viral com a membrana da célula hospedeira (MELIKYAN et al.¹³⁹, 2000; JORGE¹⁰¹, 2006). Além do envoltório, a partícula viral contém três proteínas estruturais: a matriz, capsídeo e o nucleocapsídeo. A matriz forma o escudo interno da partícula, localizado logo após a membrana viral. O capsídeo tem a forma cônica que protege o genoma viral (GOMES & HOPE⁶⁸, 2005). No interior do capsídeo

encontram – se as moléculas de RNA e as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase necessárias para os primeiros eventos da replicação viral (GOMES & HOPE⁶⁸, 2005; JORGE¹⁰¹, 2006). O genoma do HIV contém nove genes e duas regiões denominadas LTR (Repetições terminais longas), em que estão presentes elementos de controle para integração, transcrição e poliadenilação do RNA mensageiro (VERONESI et al.²³⁴, 1999).

O primeiro passo para o processo de infecção pelo HIV consiste numa série de etapas altamente controladas que culminam na fusão do vírus com a membrana celular. É no envelope do HIV que estão as proteínas que proporcionam a entrada do vírus na célula alvo. A gp 120 é a subunidade de superfície e é a responsável pela especificidade de ligação aos receptores e co-receptores na superfície celular. A gp 41 é a proteína transmembrana que contém o peptídeo de fusão (GOMES & HOPE⁶⁸, 2005). O processo de entrada consiste na ligação ao receptor seguida pela ligação ao co – receptor, e finalmente a fusão da membrana permitindo que o núcleo viral incorpore a célula. Primeiramente, a gp 120 liga – se especificamente ao receptor CD4. Esta ligação causa alterações na conformação na gp 120, que expõe sítios de ligação para co – receptores. Dependendo do tropismo viral, o co – receptor CCR5 ou CXCR4 será acoplado (MARKOSYAN et al.¹³², 2003). Uma subsequente alteração na conformação ocorre com a gp 41, que irá completar o processo de fusão das duas membranas para a entrada do genoma viral na célula alvo (MELIKYAN et al.¹³⁹, 2000). O receptor CD4 está presente em linfócitos Th, macrófagos, células dendríticas entre outras (JORGE¹⁰¹, 2006). O co – receptor CCR5 é encontrado nos macrófagos e linhagens de células T CD4 (SIMMONS et al.²⁰⁴, 1996). Logo após a entrada, o RNA viral é transcrito em DNA com o auxílio da transcriptase reversa. A dupla fita de DNA viral formada é integrada ao DNA cromossômico da célula hospedeira (provírus). O provírus pode então controlar a produção de infecção ativa, originando novos vírus (JORGE¹⁰¹, 2006).

Há duas décadas, o diagnóstico de HIV tem sido essencial para a detecção e monitoramento da infecção. A tecnologia desenvolvida, de triagem, confirmação e monitoramento da infecção, tem sido oferecida e empregada como ótimas alternativas para triagem de sangue, diagnóstico e acompanhamento do paciente (CONSTANTINE & ZINK⁴⁶, 2005). A determinação de anticorpos anti – HIV por ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA) é utilizada como teste de triagem e a técnica de *Western blot*, capaz de detectar a presença de anticorpos contra proteínas do HIV com peso molecular específico, é realizada como teste de confirmação, sendo considerado “padrão ouro” para validação de resultados HIV positivos (BROOKS et al.³⁰, 2000, CONSTANTINE & ZINK⁴⁶, 2005).

Mais recentemente, métodos moleculares mais sensíveis têm sido desenvolvidos, que podem identificar indivíduos no início da infecção e são uma valiosa ferramenta para informações sobre o estágio da doença, o prognóstico e monitoramento da terapia anti – retroviral em pessoas infectadas. A reação em cadeia da polimerase (PCR), um dos testes moleculares empregados, utiliza um método enzimático para amplificar o RNA viral. O teste de base molecular é muito sensível e é usado para monitorar a carga viral no plasma (número de cópias por mL), que é um importante marcador da previsão da evolução da doença e da resistência viral ao fármaco empregado (BROOKS et al.³⁰, 2000, CONSTANTINE & ZINK⁴⁶, 2005).

A determinação no nível de CD4 e o periódico monitoramento deste, são importantes para se determinar quando iniciar a terapia anti-retroviral e para avaliar quando o sistema imune do indivíduo está mais suprimido (CONSTANTINE & ZINK⁴⁶, 2005; VAJPAYEE et al.²³¹, 2005). A contagem de linfócitos T CD4 pode ser usada para prognosticar o princípio dos sintomas da doença, tendo como base uma contagem normal de células CD4 de 800 a 1.200 células/ μ L de sangue (BLACK¹⁷, 2002). O nível de duzentas células CD4/ mm^3 de sangue é

correlacionado com severa deficiência imune e o indivíduo é classificado como portador da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), sendo o prognóstico negativo (CONSTANTINE & ZINK⁴⁶, 2005).

O desenvolvimento de fármacos para a infecção pelo HIV ocorreu a partir do conhecimento do ciclo viral. O tratamento da AIDS é feito com medicamentos anti-retrovirais, que inibem a reprodução do HIV no sangue. A associação desses medicamentos com fins terapêuticos é denominada de terapia ou tratamento anti-retroviral (TARV), popularmente conhecida como "coquetel". A TARV conta com dezessete medicamentos que estão divididos em quatro classes: a) os inibidores de transcriptase reversa, análogos de nucleosídeos ou nucleotídeos; b) os inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; c) os inibidores de protease; e, d) os inibidores de fusão do envelope do vírus à célula (BRASIL²⁷, 2005; PRUVOST et al.¹⁷⁹, 2005).

A associação de fármacos com diferentes mecanismos de ação é recomendada para evitar o aparecimento de mutações, levando à resistência (BROOKS et al.³⁰, 2000; PRUVOST et al.¹⁷⁹, 2005). A designação tratamento anti-retroviral altamente ativo (*highly active anti-retroviral therapy*, HAART) é utilizada quando há associação de três ou mais anti-retrovirais. Atualmente aproximadamente 165 mil pacientes estão em tratamento com os anti-retrovirais distribuídos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil. Esses medicamentos retardam o desenvolvimento da AIDS e possibilitam maior qualidade de vida ao portador do vírus, agindo na redução da carga viral e possibilitando a reconstituição do sistema imunológico. Como resultado dessa política de saúde, observa-se no País uma redução significativa da mortalidade e do número de internações por doenças oportunistas associadas à AIDS (BRASIL²⁷, 2005).

2.1.1 Dados epidemiológicos

Conforme o relatório anual do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS, existe no mundo aproximadamente quarenta milhões de pessoas infectadas por HIV. Esse número inclui os 4,9 milhões estimados de pessoas que adquiriram o HIV durante 2005 (WHO²⁴³, 2005). O número de pessoas portadoras aumentou globalmente em comparação com os números dos anos anteriores e os aumentos mais acentuados foram em regiões da Ásia Oriental, Europa Oriental e Ásia Central. O crescimento foi de 50% e de 40%, respectivamente (principalmente na China). A África sub-saariana é a região mais afetada, com aproximadamente dois terços do total mundial (25,4 milhões de pessoas com o HIV), sendo que três quartos desse número são do sexo feminino. Os números de óbitos estimados devido à AIDS são de 3,1 milhões em todo mundo (World Health Organization- WHO²⁴⁴, 2005).

No Brasil, já foram notificados cerca de 372 mil casos de AIDS. Este número representa as notificações feitas desde a identificação do primeiro caso de AIDS, em 1980, até junho de 2005. A taxa de incidência foi crescente até metade da década de noventa, alcançando, em 1998, cerca de 18 casos de AIDS por cem mil habitantes. Do total de casos de AIDS, mais de 80% concentram-se nas Regiões Sudeste e Sul. O Sudeste é a região mais atingida desde o início da epidemia e, apesar da alta taxa de incidência, mostra moderada estabilização desde 1998 e é a única região que mostra uma tendência consistente de declínio, ainda que lento. Na região Sul observa-se aumento das taxas de incidência de casos até 2003, apresentando queda da taxa em 2004. Para as demais regiões, mantém-se a tendência de crescimento nas taxas de incidência, principalmente nas regiões Norte (com destaque para Roraima) e Centro-Oeste (BRASIL²⁷, 2005).

A AIDS atingiu inicialmente, de forma bastante intensa, os usuários de drogas injetáveis (UDI) e homens homossexuais e, no início da década de oitenta, os indivíduos que receberam transfusão de sangue e hemoderivados (hemácias, plasma, plaquetas, etc). Mais recentemente, a taxa de incidência de AIDS mantém-se, ainda, em patamares elevados (19,2 casos por cem mil habitantes), com tendência de crescimento entre as mulheres. Em 1985, foram diagnosticados quinhentos e trinta homens infectados e somente vinte mulheres, já em 2005 foram 6873 casos de homens soropositivos para o HIV para 5041 casos em mulheres. Os dados do último Boletim Epidemiológico ainda demonstram uma redução das taxas de incidência nas faixas etárias de 13 a 29 anos para o sexo masculino e crescimento nas faixas posteriores, principalmente entre quarenta e 59 anos. Observou-se também, para o sexo masculino, redução importante e persistente dos casos em usuários de drogas injetáveis (em indivíduos maiores ou menores que 13 anos de idade).

Entre as mulheres, observa-se, após 1998, a tendência à estabilidade na faixa de 13 a 24 anos, com crescimento persistente em praticamente todas as outras faixas etárias (BRASIL²⁷, 2005). O país acumulou cerca de 172 mil óbitos por AIDS até dezembro de 2004. As taxas de mortalidade foram crescentes até meados da década de noventa. Até 1995, a curva de mortalidade acompanhava a de incidência de AIDS, quando atingiu a taxa de 9,7 óbitos por cem mil habitantes. Após a introdução da política de acesso universal ao tratamento anti-retroviral (ARV), que combina drogas com diferentes mecanismos de ação, observou-se uma importante queda na mortalidade.

A partir de 2000, evidenciou-se estabilização com cerca de 6,3 óbitos por cem mil habitantes, embora essa tendência seja bem mais evidente na Região Sudeste e entre os homens. Além disso, entre 1993 e 2003, observou-se um aumento de cerca de cinco anos na média de idade dos óbitos por AIDS, em ambos os sexos, refletindo um aumento na sobrevivência dos pacientes. Também a partir desse ano, a taxa de

mortalidade manteve - se em cerca de 6,4 óbitos (por cem mil habitantes), sendo esta estabilização mais evidente em São Paulo e no Distrito Federal. Nota-se também o crescimento persistente da proporção de óbitos por AIDS nas categorias de raça/cor negra e parda, em ambos os sexos, entre 1998 e 2004 expondo a iniquidade no acesso aos serviços de saúde para diagnóstico e tratamento precoce das populações menos favorecidas socioeconomicamente (BRASIL²⁷, 2005). A região Sudeste concentra 68,7% dos casos de AIDS e dos cem municípios brasileiros com o maior número de casos notificados de AIDS (por cem mil habitantes) quatro municípios do Vale do Paraíba estão entre os cinquenta primeiros, sendo eles: Caçapava (em quarto lugar), Taubaté (décimo sétimo), São José dos Campos (vigésimo oitavo) e Jacareí (quadragésimo primeiro), conforme os dados do Ministério da Saúde²⁵ (2003).

2.2 Microrganismos potencialmente superinfectantes

A cavidade bucal é habitada por mais de trezentas espécies microbianas, das quais cerca de trinta espécies são encontradas rotineiramente e fazem parte da maioria das amostras cultiváveis (SMITH et al.²¹⁰, 2001). Muitos fatores, intrínsecos e extrínsecos, têm efeito sobre a composição, atividade metabólica e patogenicidade da diversificada microbiota bucal (HÄGG et al.⁷⁹, 2004; PRIETO-PRIETO & CALVO¹⁷⁸, 2004). Microrganismos como bacilos entéricos, pseudomonas, estafilococos e leveduras não são freqüentemente encontrados na cavidade bucal. Quando presentes encontram-se em números reduzidos e são considerados como parte da microbiota transitória. Entretanto, um desequilíbrio na microbiota bucal normal pode ocorrer por algumas razões. Em indivíduos imunocomprometidos estes microrganismos podem

ocorrer em grande número e desencadear infecções oportunistas. Antibióticos podem suprimir a microbiota bucal normal, favorecendo o crescimento de microrganismos não susceptíveis e ocasionando uma superinfecção (JOBBINS et al.⁹⁹, 1992; DAHLÉN & WIKSTRÖM⁴⁹, 1995; ADDY & MARTIN³, 2003).

Superinfecção é definida como uma infecção que surge durante o curso de uma doença infecciosa, devido a agente patogênico diferente daquele que provocou a doença base (MANUILA et al.¹³¹, 2003). Van Winkelhoff et al.²³² (1996) descreveram as superinfecções como sendo novas infecções que dificultam o tratamento de um processo infeccioso já existente, podendo representar uma complicação da terapia antimicrobiana, que altera a microbiota comensal e causa aumento do número de microrganismos residentes potencialmente patogênicos ou patógenos oportunistas.

Enterobactérias, estafilococos e leveduras são considerados microrganismos superinfectantes e podem ser encontrados na saliva, mucosas bucais, biofilme supragengival e em bolsas periodontais (SLOTS et al.²⁰⁸, 1988; RAMS et al.¹⁸¹⁻², 1990; SLOTS et al.^{205, 207}, 1990; FLYNN & SLOTS⁶², 1993; PANNUTI et al.¹⁶⁷, 2001). Sua ocorrência na cavidade bucal tem sido associada a antibioticoterapia prolongada, resposta imune deficiente e higiene bucal inadequada (SLOTS et al.²⁰⁹, 1991; HELOVUO et al.⁸⁵, 1993; DAHLÉN & WIKSTRÖM⁴⁹, 1995; VAN WINKELHOFF et al.²³², 1996).

Segundo Jobbins et al.⁹⁹ (1992) o maior número de leveduras presentes e o aumento na ocorrência de candidose freqüentemente estão associados à presença de doenças sistêmicas. Entretanto, outro método para detectar alterações na microbiota bucal é verificar a presença de coliformes e estafilococos coagulase positivos, já que estes microrganismos estão praticamente ausentes na boca de indivíduos sistemicamente saudáveis. Estes autores avaliaram a presença destes microrganismos na cavidade bucal de pacientes com neoplasia

maligna, e encontraram 83% de *Candida* spp., 49% de bacilos Gram-negativos e 28% de *S. aureus*. Estes resultados, afirmaram os autores, demonstraram claramente alterações na microbiota bucal nos pacientes com neoplasia maligna em estágio avançado.

Senpuku et al.²⁰² (2003) também encontraram maior número de isolados de *C. albicans*, Pseudomonadaceae, *Staphylococcus* spp., e algumas espécies de Enterobacteriaceae na placa supragengival de idosos que requeriam cuidados profissionais. Os autores sugeriram que a infecção e colonização de *Pseudomonas* spp., *K. pneumoniae*, e *C. albicans* nestes indivíduos podem servir de indício do acúmulo de vários microrganismos, os quais podem desenvolver patologias sistêmicas, como doenças cardíacas. Contudo, Öhman et al.¹⁶³ (1995) observaram pequena prevalência de *S. aureus* e enterobactérias no grupo de idosos analisados e relataram que a alta prevalência de *Candida* observada pode ser relacionada à presença de próteses totais. Ainda neste contexto, Pannuti et al.¹⁶⁷ (2001) isolaram enterobactérias, estafilococos e *Candida* do biofilme supragengival de deficientes mentais institucionalizados, mas concluíram que estes microrganismos foram encontrados em baixos níveis em relação ao número total de microrganismos, o que sugere que sua presença seja apenas transitória, não representando uma verdadeira superinfecção.

Também têm crescido o interesse em espécies bacterianas não freqüentemente encontradas no biofilme subgengival e o possível papel destes como indicadores ou contribuintes potenciais para a patogênese da doença periodontal (HAFFAJEE & SOCRANSCRY⁷⁸, 1994; LOVEGROVE¹²⁷, 2004). Segundo Armitage⁸ (1999), a Academia Americana de Periodontia relatou que o desenvolvimento da doença periodontal ocorre pela destruição dos tecidos de suporte dos dentes. Essa destruição pode ocorrer por ação direta dos produtos bacterianos ou por ação indireta, nas quais as reações destrutivas são mediadas por células do hospedeiro, induzidas por bactérias presentes no ambiente

subgengival (HAFFAJEE & SOCRANSCRY⁷⁸, 1994; MOORE & MOORE¹⁴⁴, 1994; LOVEGROVE¹²⁷, 2004).

As superinfecções podem envolver microrganismos endógenos ou exógenos. Na doença periodontal estes microrganismos freqüentemente ocorrem em combinação com os patógenos periodontais clássicos. Bacilos entéricos, pseudomonas, estafilococos, estreptococos beta-hemolíticos e leveduras têm sido descritos como microrganismos superinfectantes em periodontites (SLOTS et al.²⁰⁸, 1988; RAMS et al.¹⁸¹⁻², 1990; SLOTS et al.^{205, 207}, 1990; FLYNN & SLOTS⁶², 1993; VAN WINKELHOFF et al.²³², 1996). Ainda não está esclarecido se estes microrganismos estão envolvidos no início do desenvolvimento ou na progressão da doença periodontal. Baseando-se no potencial patogênico dos microrganismos superinfectantes em infecções sistêmicas, parece plausível a possibilidade destes contribuírem na progressão da doença periodontal (VAN WINKELHOFF et al.²³², 1996).

Inúmeros estudos sobre a microbiota de lesões periodontais em pacientes infectados pelo HIV portadores de periodontite crônica têm demonstrado que a presença dos periodontopatógenos mais comuns associados a esta patologia é semelhante à encontrada nos pacientes não infectados pelo HIV (BRADY et al.²¹, 1996; JOHNSON¹⁰⁰, 1997; CHATTIN et al.⁴¹, 1999; ZAMBON et al.²⁴⁸, 1990; PATEL et al.¹⁶⁹, 2003; GONÇALVES et al.⁷¹, 2004; LOVEGROVE¹²⁷, 2004; GONÇALVES⁶⁹, 2005; GONÇALVES et al.⁷², 2005). Entretanto, microrganismos normalmente não encontrados na microbiota subgengival e que são considerados oportunistas também têm sido identificados. Dentre estes, incluem-se espécies de *Staphylococcus*, *C. albicans* e algumas enterobactérias (RAMS et al.¹⁸³, 1991; MOORE et al.¹⁴³, 1993; CHATTIN et al.⁴¹, 1999; ZAMBON et al.²⁴⁸, 1990; VILLAÇA & MACHADO²³⁶, 2004; GONÇALVES et al.⁷¹, 2004; GONÇALVES⁶⁹, 2005; GONÇALVES et al.⁷², 2005). Patel et al.¹⁶⁹ (2003) relataram que alterações na imunidade celular e a produção de vários metabólitos

podem influenciar o estabelecimento e proliferação de patógenos não relacionados à doença periodontal na bolsa periodontal de pacientes HIV positivos. Gonçalves⁷⁰ (2005) ressaltou que a ausência ou diminuição na ativação de leucócitos polimorfonucleares (PMN) e macrófagos, em virtude de uma redução da resposta de linfócitos CD4, transforma os PMN em células sem habilidade adequada para responder à infecção nesses pacientes. Isso permite que microrganismos, como *C. albicans*, sobrevivam e multipliquem-se no ambiente subgengival, atuando diretamente ou como coadjuvantes com outros periodontopatógenos na destruição dos tecidos periodontais.

Zambon et al.²⁴⁸ (1990) detectaram a presença de *C. albicans* em 62% dos cinquenta indivíduos com AIDS e doença periodontal analisados. No mesmo estudo, os autores encontraram, nesses pacientes, uma microbiota subgengival semelhante à dos pacientes soronegativos para o HIV, acrescida, ocasionalmente, de microrganismos não associados a periodontite crônica, como *Enterococcus faecalis*, *Clostridium* spp. e *Klebsiella pneumoniae*.

Rams et al.¹⁸³ (1991) e Moore et al.¹⁴³ (1993) isolaram *Mycoplasma salivarium*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium varium*, *Fusobacterium necrophorum* e *Enterobacter cloacae*. Estes autores relataram que estes microrganismos podem contribuir com a doença periodontal severa, apresentada por alguns pacientes soropositivos. Esta hipótese também foi sugerida por Robinson et al.¹⁸⁶ (2002). Lamster et al.¹²¹⁻² (1997 e 1998) relataram que a presença de patógenos atípicos, como *Candida* spp., na microbiota subgengival de pacientes soropositivos pode também estar relacionada com a rápida evolução da periodontite nestes pacientes. Gonçalves et al.⁷¹ (2004) analisando a microbiota subgengival de pacientes HIV positivos com periodontite crônica relataram maior prevalência dos periodontopatógenos clássicos neste grupo quando comparado ao grupo não HIV e sugeriram que a severa imunossupressão parece contribuir para a colonização por estas espécies, assim como por

espécies não freqüentemente encontradas na microbiota subgengival. Portanto, o papel patogênico destes microrganismos deve ser considerado, assim como a associação destes com doenças periodontais específicas encontradas nos pacientes infectados pelo HIV (PATEL et al.¹⁶⁹, 2003; GONÇALVES^{69,70}, 2005; GONÇALVES et al.⁷², 2005).

2.3 Gênero *Candida*

2.3.1 Características gerais e fatores de virulência

As leveduras do gênero *Candida* são classificadas como fungos imperfeitos da classe Deuteromycetes devido à inabilidade do gênero em apresentar formas sexuadas. Pertence à família *Cryptococcaceae*, subfamília *Candidoideae*, que compreende as principais leveduras patogênicas para o homem (LACAZ et al.¹²⁰, 2002; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). São organismos unicelulares e eucarióticos (WEBB et al.²⁴², 1998). O gênero *Candida* é composto por aproximadamente duzentas espécies de leveduras não produtoras de endósporos. As espécies de *Candida* são distinguidas entre os demais Deuteromycetes pela habilidade de formar pseudomicélio e/ou micélio, sendo *C. glabrata* a única exceção (LACAZ et al.¹²⁰, 2002; SUDBERY et al.²¹⁸, 2004; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). Em 1995, uma nova espécie, *C. dubliniensis*, foi identificada nos casos de candidose bucal em indivíduos HIV positivos (SULLIVAN et al.²²¹, 1995; COLEMAN et al.⁴⁴, 1997; SULLIVAN et al.²²⁰, 2005). *C. dubliniensis* está geralmente associada a candidoses orofaríngeas em pacientes infectados por HIV, particularmente naqueles que apresentam história de episódios recorrentes de candidose bucal, porém também tem sido isolado em

indivíduos HIV negativos (JABRA-RIZK et al.⁹⁰, 2000; MANFREDI et al.¹³⁰, 2002; AHMAD et al.⁴, 2004; CHAVASCO et al.⁴², 2006). Esta nova espécie apresenta características fenotípicas similares à *C. albicans* (SUDBERY et al.²¹⁸, 2004, CAMPANHA et al.³², 2005; SULLIVAN et al.²²⁰, 2005), além de exibir elevada aderência às células epiteliais bucais e desenvolver rapidamente resistência *in vitro* ao fluconazol (SULLIVAN & COLEMAN²¹⁹, 1998).

Segundo Eggimann et al.⁵⁶ (2003) leveduras do gênero *Candida* são habitantes normais da microbiota humana da pele, trato gastrointestinal e geniturinário, podendo ser isolado também no trato respiratório. São considerados patógenos oportunistas, pois são capazes de crescer em cavidades e penetrar tecidos em resposta a alterações fisiológicas no hospedeiro (SOLL²¹⁴, 2002). Hube⁸⁷ (2004) afirmou que a resposta imune e a microbiota normal do hospedeiro são suficientes para proteger o indivíduo da infecção por leveduras do gênero *Candida*. Porém certos eventos críticos, como tratamento antibacteriano de largo espectro ou disfunções do sistema imune, permitam a multiplicação destes fungos na microbiota das superfícies mucosas.

Candida albicans é a espécie prevalente isolada no corpo humano, tanto como um organismo comensal, quanto como patógeno oportunista (CANNON et al.³⁴, 1995). Infecções bucais e vaginais por *C. albicans* são comuns em indivíduos com comprometimento imunológico, sendo que em casos mais severos de imunossupressão podem estar relacionados à infecção sistêmica (HUBE⁸⁷, 2004).

Espécies de *Candida* não - *albicans* que fazem parte da microbiota normal de superfícies cutâneas e mucocutâneas em apenas raras ocasiões eram consideradas como agentes relacionados a patologias clínicas (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001). Entretanto, em 1995, Hazen⁸⁴ publicou uma revisão extensa sobre leveduras patogênicas emergentes. Neste trabalho o autor relata o crescente isolamento de espécies não - *albicans*, como *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C.*

guilliermondii, *C. lipolytica* e *C. kefyr*. Eggimann et al.⁵⁶ (2003) também relataram a associação de diversas patologias clínicas com espécies de *Candida* não-*albicans*.

Várias causas vêm sendo propostas para explicar a súbita emergência de tantas espécies novas de leveduras como agentes infecciosos, entre as quais são citados o uso de antibióticos de amplo espectro, agentes antineoplásicos, cateterismo endovenoso e o crescente número de pacientes com neutropenia e imunossupressão (HAZEN⁸⁴, 1995; GILFILLAN et al.⁶⁷, 1998; LAUPLAND et al.¹²³, 2005).

O processo do desenvolvimento e curso da infecção microbiana, depende da relação entre virulência do microrganismo e da habilidade do hospedeiro em prevenir ou resistir à colonização ou invasão microbiana (HUBE & NAGLIAK⁸⁸, 2001; YANG²⁴⁶, 2003). Os fatores de virulência expressos por *C. albicans* para causar infecções são bastante variáveis e dependentes do tipo, estágio e sítio de infecção, e também da natureza da resposta do hospedeiro. *C. albicans* apresenta alta capacidade de adaptação no organismo hospedeiro, o que indica a presença de fatores de virulência distintos de outros fungos fortemente relacionados mas não-patogênicos (HUBE & NAGLIAK⁸⁸, 2001). Vários fatores potencialmente virulentos têm sido relatados como a morfologia celular, fatores de aderência, formação de tubos germinativos, produção de hifas/ pseudo-hifas e atividade proteolítica extracelular (HAYNES⁸³, 2001; HUBE & NAGLIAK⁸⁸, 2001; YANG²⁴⁶, 2003).

A aderência microbiana é o fator mais importante na patogênese, e várias adesinas têm sido identificadas em fungos patogênicos (SUNDSTROM²²², 2002). O mecanismo de aderência envolve interações entre adesinas da levedura e receptores na célula do hospedeiro (WEBB et al.²⁴², 1998; SUNDSTROM²²², 2002). Em *C. albicans*, manoproteínas, glucano, quitina, proteínas da parede celular, glicoproteínas e lipídeos são possíveis adesinas. Os receptores encontrados nos tecidos aos quais *Candida* se adere não estão ainda

bem caracterizados, entretanto, fibronectina, fucose, lipídeos, manose, N-acetil-glicosamina, mucinas, lamininas e colágenos parecem agir como receptores celulares (CANNON et al.³⁴, 1995; WEBB et al.²⁴², 1998; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). Diferentes amostras apresentam capacidades de aderência variáveis. Amostras de *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii* e *C. stellatoidea*, parecem ser mais aderentes que as demais espécies (KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). *C. albicans* apresenta capacidade de aderência a células epiteliais, células endoteliais e células fagocíticas, além da aderência a materiais não-biológicos *in vitro* e *in vivo* (SAMARANAYAKE & MACFARLANE¹⁸⁹, 1990).

Existe correlação entre formação de tubo germinativo e aumento de aderência de *C. albicans* nas células epiteliais bucais (NAIR & SAMARANAYAKE¹⁵², 2001; VILLAR et al.²³⁷, 2004; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). A formação de tubos germinativos têm sido relacionada com virulência em infecções de pele, mucosas e nas formas disseminadas de candidose. (KRETSCHMAR et al.¹¹⁶, 1999).

A característica de dimorfismo apresentada por *C. albicans* é correlacionada à virulência deste microrganismo (KUMAMOTO & VINCES¹¹⁸, 2005). Na maioria das infecções bucais, ambos, leveduras e hifas, podem ser encontrados nos tecidos infectados, entretanto, achados clínico-patológicos nas candidoses bucais estão relacionados à forma filamentosa com invasão tecidual local (VILLAR et al.²³⁷, 2004). Segundo Kumamoto & Vinces¹¹⁸ (2005), hifas são importantes para invasão tecidual, além de escapar da endocitose das células do hospedeiro.

Uma importância particular das candidoses bucais está relacionada à aderência de leveduras do gênero *Candida* a superfícies banhadas pela saliva e a bactérias bucais (CANNON et al.³⁴, 1995). Algumas bactérias parecem contribuir para colonização e proliferação de espécies de *Candida* spp. na cavidade bucal. A co-agregação entre *Streptococcus sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* e *S. anginosus* com *C.*

albicans foi citada por Webb et al.²⁴² em 1998. Haynes⁸³ (2001) relatou co-agregação entre *C. dubliniensis* e *Fusobacterium nucleatum* e *C. tropicalis* com *S. gordonii*, sendo que estas interações podem facilitar a sobrevivência destas espécies em comunidades bucais mistas.

A grande habilidade de *C. albicans* em formar biofilme em superfícies sólidas também parece contribuir com sua maior patogenicidade, quando comparada a outras espécies menos hábeis como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. kefyr* (HAYNES⁸³, 2001). *C. albicans* pode formar biofilme no esmalte dentário, assim como na superfície de válvulas cardíacas, causando endocardite. Além deste fator, o biofilme representa um importante problema médico por apresentar maior resistência aos antifúngicos (KUMAMOTO & VINCES¹¹⁷, 2005).

A parede celular de *C. albicans* é composta primariamente de polissacarídeos, manana, glucana e quitina, além de lipídeos e proteínas (WEBB et al.²⁴², 1998; MASUOKA¹³⁷, 2004). A composição, arquitetura e organização da parede celular de *Candida* influenciam nos mecanismos de adesão e colonização das leveduras, portanto, desempenham importante papel na patogenicidade destes microrganismos (MASUOKA¹³⁷, 2004; POULAIN & JOUAULT¹⁷⁷, 2004; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). A presença de proteínas hidrofóbicas na parede celular contribui para a interação da levedura com a célula do hospedeiro, aumentando significativamente o contato entre ambas superfícies (JABRA-RIZK et al.⁹¹, 2001). Além deste papel, a interação entre sistema imune e levedura pode ser atribuída a determinados constituintes da parede celular. Vários tipos de células imunes possuem receptores para polissacarídeos presentes em fungos e anticorpos anti-glicanos têm sido descritos, sendo que alguns deles conferem proteção anti-*Candida* (MASUOKA¹³⁷, 2004). Poulain & Jouault¹⁷⁷ (2004) afirmaram que os glicanos presentes na parede celular de leveduras do gênero

Candida desempenham importante papel no equilíbrio entre a forma saprófita e parasitária, e resistência e infecção.

Outro mecanismo de patogenicidade é a atividade enzimática. *C. albicans* secreta várias enzimas, entre as quais estão a fosfolipase, lipase, fosfomonoestearases e proteinases. A proteinase é produzida principalmente pelas espécies mais patogênicas, como *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, o que suporta a idéia de que as proteinases são relacionadas com virulência (HUBE & NAGLIK⁸⁸, 2001; NAGLIK et al.¹⁵⁰, 2003; NAGLIK et al.¹⁵¹, 2004). As proteinases aspartil secretórias (SAP) degradam muitas proteínas humanas no sítio de lesão, como albumina, hemoglobina e imunoglobulina A secretória (IgA-S). Sua atividade proteolítica tem sido associada com invasão tecidual (YANG²⁴⁶, 2003). Naglik et al.¹⁵¹ (2004) relataram que a expressão dos genes da família SAP também está relacionada com a co-regulação de outros fatores de virulência, como a formação do biofilme, aderência, germinação, dimorfismo, além das funções de penetração, cavitação, invasão dos tecidos, nutrição e interação com o sistema imune do hospedeiro.

As fosfolipases agem clivando os fosfolipídeos, prejudicando, portanto, a estabilidade da membrana, o que ocasiona lise celular. Parecem estar relacionadas com a produção de tubos germinativos, transição para a forma hifal e injúria tecidual. A produção de fosfolipase é concentrada nas pontas das hifas, e a atividade de produção é maior quando a hifa está em contato direto com a membrana, o que demonstra que as fosfolipases extracelulares são importantes na invasão tecidual por *C. albicans* (GHANNOUM⁶⁶, 2000; NIEWERTH & KORTING¹⁵⁵, 2001).

2.3.2 Gênero *Candida* na cavidade bucal

Microrganismos do gênero *Candida* são membros comensais na microbiota bucal normal, estando presente, em média, em 40% da população humana saudável (WEBB et al.²⁴², 1998; ELLEPOLA & SAMARANAYAKE⁵⁷, 2000; BORIOLO et al.²⁰, 2003; SÁNCHEZ-VARGAS et al.¹⁹², 2005). *C. albicans* é a espécie prevalente, representando 60 a 70% do total dos isolados. O reservatório bucal primário deste microrganismo é o dorso da língua, a partir do qual o restante da mucosa, superfície dos dentes, biofilme dentário e saliva tornam-se colonizados secundariamente (WEBB et al.²⁴², 1998; ELLEPOLA & SAMARANAYAKE⁵⁷, 2000; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). Ainda não está claro por que alguns indivíduos são portadores de *Candida* spp. e outros não. Entretanto, fatores nutricionais, interações com a microbiota bacteriana e presença de anticorpos específicos na saliva parecem ser relevantes (STENDERUP²¹⁷, 1990; CHALLACOMBE⁴⁰, 1994; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). O isolamento de *Candida* da cavidade bucal não é uma evidência confirmatória de infecção e deve ser considerada juntamente com sinais clínicos (SAMARANAYAKE & MAC FARLAND¹⁸⁹, 1990; CANNON et al.³⁴, 1995; ELLEPOLA & SAMARANAYAKE⁵⁷, 2000).

Segundo Samaranayake & Mac Farland¹⁸⁹ (1990) a transformação da forma inócua de *Candida* para a parasitária depende de fatores de virulência do microrganismo, aos fatores predisponentes do hospedeiro e ao ambiente (como exemplo, a presença de próteses). Stenderup²¹⁷ (1990) relatou que alterações nas células de defesa do hospedeiro, na fisiologia destas ou na microbiota normal são fatores que usualmente precedem a colonização, infecção e doenças produzidas por leveduras do gênero *Candida*, sendo que o grau de debilidade do

hospedeiro deve ser considerável para permitir a invasão desses microrganismos, considerados saprófitas.

As espécies de *Candida* são patógenos oportunistas notórios, uma vez que a presença de fatores predisponentes sistêmicos ou locais são essenciais para a patogênese das infecções bucais (ELLEPOLA & SAMARANAYAKE⁵⁷, 2000). Dentre os fatores sistêmicos, a utilização de antibióticos de amplo espectro, esteróides, terapia citotóxica, desnutrição, diabetes *mellitus* e imunossupressão são as mais freqüentemente citadas na literatura (JOBINS et al.⁹⁹, 1992; JABRA-RIZK et al.⁹², 2001; RIBEIRO¹⁸⁵, 2003; KOMIYAMA et al.¹¹³, 2004; BELAZI et al.¹³, 2004; BELAZI et al.¹⁴, 2005; KUMAR et al.¹¹⁹, 2005). Higiene bucal inadequada, presença de próteses, aparelhos ortodônticos, periodontite crônica, respiração bucal, dieta, xerostomia e fumo são considerados fatores predisponentes locais importantes (JORGE et al.¹⁰², 1997; DARWAZE et al.⁵⁰, 2002; GRIMOUD et al.⁷⁵, 2003; BELAZI et al.¹³, 2004; HÄGG et al.⁷⁹, 2004; BELAZI et al.¹⁴, 2005; KADIR et al.¹⁰³, 2005; MONROY et al.¹⁴², 2005; SOYSA & ELLEPOLA²¹⁶, 2005)

A candidose bucal ocorre em mais de 95% dos pacientes com AIDS, é reconhecida como importante marcador da doença e de sua progressão e são causas freqüentes de morbidade e mortalidade. A prevalência de candidose bucal em pacientes HIV positivos parece estar relacionada com a severidade da disfunção imunológica (LIN et al.¹²⁵, 2001; NITTAYANANTA et al.¹⁵⁶, 2001; AL-ABEID et al.⁵, 2004).

Alguns estudos têm pesquisado sobre alterações na composição salivar de pacientes HIV positivos. Segundo Lin et al.¹²⁵ (2001) há discrepâncias nos resultados obtidos em diferentes estudos quanto às proteínas salivares antimicrobianas e antifúngicas. Muitos pesquisadores reportaram que a concentração de lisozima, lactoferrina e IgA secretora estão aumentadas em pacientes HIV, mas outros estudos não demonstram alteração ou diminuição destas proteínas. Neste estudo, os autores demonstraram redução da atividade anti-*Candida* e do fluxo

salivar em pacientes HIV positivos. Samaranayake et al.¹⁹¹ (2002) relataram que alterações na qualidade e quantidade da saliva durante a infecção por HIV podem alterar os mecanismos de defesa do hospedeiro e alterar a aderência e colonização por *Candida*. Estes autores também relataram que isolados de *C. albicans* de pacientes HIV positivos têm apresentado maior atividade de proteinases e maior patogenicidade em ratos do que isolados de indivíduos HIV negativos. Porém, a discussão sobre um maior potencial de virulência destes isolados permanece controversa. Costa et al.⁴⁷ (2003) não encontraram diferenças estatisticamente significantes na produção de proteinase em amostras de *C. albicans* que foram isoladas de crianças HIV positivas e negativas, na cidade do Rio de Janeiro.

Perezous et al.¹⁷² (2005) relataram que a habilidade de *Candida* spp. de formar biofilme possibilita a colonização de superfícies mucosas e outras superfícies na cavidade bucal, incluindo próteses bucais, que podem servir de reservatórios para disseminar infecções. Estes autores também ressaltam que esta forma de crescimento aumenta a resistência aos antimicrobianos e a ação de defesa do hospedeiro. Por outro lado, o fato de haver aumento da prevalência de *Candida* e de candidoses bucais nos pacientes infectados pelo HIV, segundo Jin et al.⁹⁹ (2003), é multifatorial, e não deve ser somente relacionado à habilidade de formação de biofilme por estas leveduras.

Em 1994, Greenspan⁷⁴ relatou que a candidose bucal pode ocorrer em estágios precoces da AIDS, quando células CD4⁺ podem estar baixas (400 a 700 células/mm³), sendo que a frequência de candidose bucal aumenta quando essa taxa apresenta-se inferior a trezentas células por milímetro cúbico. Com a introdução do tratamento anti-retroviral altamente ativo as manifestações bucais têm diminuído. Esta diminuição se deve ao fato de que esta terapia promove uma inibição da replicação viral, redistribuição e restauração da imunidade, resultando em um aumento no número de células CD4⁺. Estas células

são importantes para a defesa do organismo frente a microrganismos oportunistas, como espécies de *Candida* (TAPPUNI & FLEMING²²⁴, 2001; BARCHIESI et al.¹², 2002; SAMARANAYAKE et al.¹⁹¹, 2002; GONÇALVES⁷⁰, 2005; GONÇALVES et al.⁷², 2005; PEREZOUS et al.¹⁷², 2005; SÁNCHEZ-VARGAS et al.¹⁹⁻³, 2005). Além disso, os fármacos inibidores de protease podem apresentar atividade anti-*Candida*, inibindo as proteinases destes fungos. Algumas dessas enzimas são semelhantes à protease do HIV e têm apresentado um papel patogênico na invasão da mucosa (BARCHIESI et al.¹², 2002; RYDER¹⁸⁸, 2002; SAMARANAYAKE et al.¹⁹¹, 2002; SÁNCHEZ-VARGAS et al.¹⁹²⁻³, 2005).

A presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de indivíduos soropositivos para o HIV e a correlação com as variáveis clínicas apresentadas por estes pacientes têm sido foco de inúmeros estudos.

Capoluongo et al.³⁵ (2000) avaliaram a presença de *C. albicans* através da técnica de enxágüe bucal. Foram isoladas 41 amostras, sendo que um maior número de isolados foi observado em pacientes com CD4+ menor ou igual a duzentas células/μL. Os autores também observaram direta correlação entre unidades formadoras de colônias (UFC/mL) e carga viral dos pacientes avaliados.

Figueirêdo et al.⁶⁰ (2001) relataram a ocorrência de *Candida* spp. em 70,97% dos indivíduos HIV positivos analisados, nos quais a média de células CD4+ foi de 291,61 células/mm³. A espécie prevalente foi de *C. albicans*, representando 69,9% dos isolados. Neste mesmo ano, Nittayananta et al.¹⁵⁶, isolaram em 57,2% dos cento e oitenta soropositivos heterossexuais e usuários de drogas intravenosas da Tailândia observados. Sendo os seguintes fatores significativamente associados com a incidência de *Candida* na cavidade bucal desses pacientes: idade, estágio da infecção, contagem total de linfócitos, nível de nutrição, saúde geral, número e tipo de lesão (candidose). Porém, fumo, consumo de álcool, presença de prótese total, gênero e índice de

higiene bucal não foram correlacionados com a presença do microrganismo.

Em 2002, Campisi et al.³³ analisaram 42 pacientes HIV positivos que não apresentavam candidose quanto à presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal e correlacionaram com contagem de células CD4+, carga viral, gênero, via de transmissão, terapia anti - retroviral, fumo e higiene bucal. Espécies do gênero *Candida* foram isoladas na cavidade bucal de 61,9% pacientes HIV positivos, com prevalência de *C. albicans*, porém não encontraram nenhuma associação com contagem de células CD4+, carga viral, gênero e terapia anti - retroviral. Quanto ao fumo e higiene bucal, os autores não tiveram evidências conclusivas em relação à ação destes na colonização de leveduras bucais, porém afirmaram haver um sinergismo quando associado a outros fatores predisponentes nos pacientes HIV positivos, que podem aumentar a colonização.

Barchiesi et al.¹² (2002) obtiveram 67% de pacientes positivos para leveduras e não encontraram correlação entre o número de isolados com a contagem de CD4+, carga viral ou a terapia anti-retroviral empregada. Somente três espécies foram identificadas: *C. albicans*, *C. krusei* e *C. glabrata*. Ainda em 2002, Blignaut et al.¹⁸ obtiveram maior diversidade de espécies de *Candida* através da coleta por swabs do dorso da língua de pacientes HIV positivos e controles. As espécies identificadas foram *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. dubliniensis* no grupo HIV, sendo que no grupo controle, além destas espécies, foram observados *C. lusitaniae*, *C. rugosa*, *C. guilliermondii* e *C. kefyr*. Sant'ana et al.¹⁹⁵ (2002) obtiveram 142 isolados a partir das amostras de lesões de candidose bucal de pacientes com AIDS, dos quais 91% foram identificados como *C. albicans*. As demais espécies incluíram: *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *Trichosporon inkin*.

No estudo de Costa et al.⁴⁷ (2003) com cinquenta crianças infectadas por HIV e crianças saudáveis foram identificadas 29 e 15 amostras de *C. albicans*, respectivamente. Estes autores encontraram correlação positiva entre os isolados e à diminuição do número de células CD4+, porém o mesmo não ocorreu com a carga viral.

Em 2004, Schmidt-Westhausen et al.¹⁹⁹ determinaram a prevalência de espécies de *Candida* em pacientes HIV positivos com candidose bucais, não expostos (grupo 1) e expostos (grupo 2) a antifúngicos e indivíduos saudáveis (grupo 3). Constatou-se uma maior prevalência e diversidade de espécies de *Candida* no grupo 2 (100%) quando comparado ao grupo 1 (90,9%). Quanto ao grupo controle, leveduras foram isoladas em 79% dos indivíduos, sendo as espécies prevalentes *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Dos 312 indivíduos pesquisados por Sánchez-Vargas et al.¹⁹³ (2005), 178 foram positivos para *Candida* (57,1%). Destes, houve maior prevalência em adultos do que em crianças. Nos pacientes adultos soropositivos, não houve associação da prevalência de leveduras com a contagem de células CD4+, carga viral ou terapia anti-retroviral empregada. Em crianças soropositivas em que a contagem de células CD4+ foi menor que 500 células/ μ L houve um aumento significativo da colonização por *Candida* quando comparadas às crianças saudáveis.

Li et al.¹²⁴ (2006) coletaram amostras de *C. albicans* de três pacientes HIV positivos no período de três anos e puderam confirmar a persistência da colonização bucal por *C. albicans* nestes pacientes. Observaram ainda que a infecção primária pode se tornar colonização persistente na cavidade bucal uma vez que o sistema imune esteja restaurado, sendo a contagem de células CD4+ menor que 200 células/mm³ um risco para o desenvolvimento de candidoses.

Candida spp. não é frequentemente relatada como fazendo parte da microbiota do biofilme dentário de indivíduos sistemicamente saudáveis e que não fazem uso de antibióticos.

Entretanto, em pacientes com periodontite refratária tratados com antibióticos sistêmicos e indivíduos sistemicamente debilitados, como os infectados pelo HIV, *C. albicans* têm sido demonstrada no biofilme subgengival. No entanto, não se sabe ao certo qual o papel desta levedura no desenvolvimento das periodontites (ÖDDEN et al.¹⁶⁰, 1994).

Muitos trabalhos têm relatado leveduras, especialmente *C. albicans*, isoladas em grande número em bolsas periodontais (SLOTS et al.²⁰⁸, 1988; RAMS & SLOTS¹⁸⁰, 1991; DAHLÉN & WIKSTRÖN⁴⁹, 1995; REYNAUD et al.¹⁸⁴, 2001; JÄRVENSIVU et al.⁹⁷, 2004; KOGA-ITO et al.¹¹², 2004; SONG et al.²¹⁵, 2005). Reynaud et al.¹⁸⁴ (2001) observaram a presença de leveduras em bolsas periodontais em 15,6% dos 128 indivíduos analisados, não havendo correlação com gênero ou idade. Neste mesmo ano, Hannula et al.⁸¹ estudaram a possível relação entre a presença subgengival de *C. albicans* e sua coexistência com periodontopatógenos. Como resultado, encontraram *Porphyromonas gingivalis* como isolado menos freqüentemente e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em proporções significativamente elevadas em indivíduos positivos para *C. albicans*. Martins et al.¹³⁵ (2002) isolaram *Candida* na cavidade bucal de 31,82% e da bolsa periodontal em 7,96% dos indivíduos com periodontite crônica examinados, sendo 6,82% destes apresentaram leveduras em ambos locais de coleta. Järvensivu et al.⁹⁷ (2004) relataram que seus resultados estão em concordância com outros estudos que demonstram 15% de leveduras isoladas em pacientes com periodontite crônica.

Jabra-Rizk et al.⁹³ (2001) avaliaram amostras de lesões periodontais de pacientes HIV positivos e encontraram 66% de isolamento no sítio subgengival, sendo que 39% destas amostras foram identificadas como *C. dubliniensis*. Outras espécies isoladas foram *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*.

Pizzo et al.¹⁷⁵ (2002) obtiveram 38 isolados de *C. albicans* (29 amostras de bolsas periodontais e nove da cavidade bucal) de 9

pacientes HIV positivos. Os autores relataram que as análises utilizando-se cariotipagem eletroforética sugerem que a colonização por *Candida* no sítio subgengival não é apenas consequência da colonização por esta levedura nas demais superfícies bucais, portanto, cepas adaptadas a este sítio podem estar envolvidas. Samaranayake et al.¹⁹¹ (2002) constataram maior prevalência de leveduras em bolsas periodontais dos pacientes HIV positivos (45%) do que no grupo controle (13%), havendo elevada associação da presença de *Candida* na bolsa periodontal com o número de *Candida* na saliva. Porém estes autores ressaltaram que há mínima evidência clínica da associação da doença periodontal destes pacientes e a alta prevalência de leveduras nas bolsas periodontais terem ocorrido devido à propagação de *Candida* pela saliva.

No estudo de Portela et al.¹⁷⁶ (2004), 42,3% das crianças infectadas por HIV e 7,1% das saudáveis foram positivas para *Candida* no sulco gengival. Os autores observaram correlação positiva entre a frequência de isolamento de *Candida* com diminuição da contagem de células CD4+ e aumento da carga viral.

2.4 Gênero *Staphylococcus*

2.4.1 Características gerais e fatores de virulência

O nome *Staphylococcus* foi dado por Alexander Ogston, em 1880, que correlacionou a alta taxa de mortalidade após cirurgias hospitalares com a presença destes microrganismos. Nessa época, a formação de secreção purulenta era considerada um estágio do processo de cicatrização. Com o desenvolvimento da técnica de cirurgias anti-sépticas, diminuiu a ocorrência de feridas com supuração e as infecções

hospitalares. Ogston então observou que a formação do pus ocorria devido a determinados microrganismos, que foram denominados de *micrococci*. Em pesquisas subseqüentes, o pesquisador descobriu que alguns deles se organizavam em forma de cachos e os chamou de estafilococos. Posteriormente, o pesquisador Rosembach descreveu a espécie *Staphylococcus aureus* (LYELL¹²⁸, 1989).

O nome *Staphylococcus* provém da palavra grega *staphylé* que significa cacho de uvas, devido ao fato de que as células destes cocos crescem seguindo um padrão que se assemelha a um cacho de uvas, embora os microrganismos em material clínico possam ocorrer na forma de células isoladas, aos pares ou em cadeias curtas (KLOOS & BANNERMAN¹⁰⁹, 1995; MURRAY et al.¹⁴⁸, 2000).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococcaceae. Na atualidade este gênero é composto por 33 espécies, sendo que 17 podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. São microrganismos imóveis, anaeróbios facultativos, catalase positivos e não formam esporos (MARSOU et al.¹³³, 1999; MURRAY et al.¹⁴⁸, 2000; TARKOWSKI et al.²²⁵, 2001; UENO & JORGE²³⁰, 2006).

Os estafilococos estão difundidos na natureza e podem ser encontrados vivendo sobre a pele, glândulas e mucosa de mamíferos e aves. São encontrados algumas vezes na boca, sangue, glândulas mamárias, glândulas, intestino, trato geniturinário e no trato respiratório superior destes hospedeiros (RAMS et al.¹⁸², 1990; KLOOS & BANNERMAN¹⁰⁹, 1995; MARSOU et al.¹³³, 1999). Entre os estafilococos, a espécie coagulase-positiva *S. aureus* e duas espécies coagulase-negativas, *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*, são encontradas com freqüência em infecções humanas (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; TARKOWSKI et al.²²⁵, 2001). São microrganismos oportunistas, apresentando um risco particular quando a barreira cutânea está danificada ou pela direta implantação de um corpo estranho, como por exemplo um dispositivo médico (MARSOU et al.¹³³, 1999).

S. aureus é, sem dúvida, o patógeno humano mais importante entre os estafilococos. Este microrganismo pode ser encontrado, na forma comensal, na pele de 20 a 50% da população humana. Aproximadamente 20% da população apresentam colonização permanente por este microrganismo no epitélio nasal, e 60% são portadores transitórios. A taxa de colonização é aumentada em pacientes de hemodiálise, diabéticos, com AIDS, pós-cirúrgicos e usuários de drogas parenterais (SHUTER et al.²⁰³, 1996; MEMMEL et al.¹⁴⁰, 2004; DAVID et al.⁵², 2005). A colonização é considerada um fator de risco para subsequente invasão em indivíduos da comunidade ou hospitalizados (SHUTER et al.²⁰³, 1996; FOSTER⁶⁴, 2005). Koneman et al.¹¹⁵ (2001) e Götz⁷³ (2004) citaram outros fatores que podem predispor um indivíduo a infecções graves por *S. aureus*, que incluem alterações quimiotáticas dos leucócitos, tanto congênitas (Síndrome de Wiskott-Aldrich, Síndrome de Down, Síndrome de Job) quanto adquiridas (diabetes *mellitus*, artrite reumatóide), alterações na opsonização por anticorpos (hipogamaglobulinemia), alterações na destruição intracelular das bactérias após fagocitose (doença granulomatosa crônica), lesões cutâneas (queimaduras, incisões cirúrgicas, eczema), presença de corpos estranhos (suturas, cateteres endovenosos, próteses), infecções por outros agentes, em particular vírus (influenza), doenças crônicas de base (tumores malignos, alcoolismo e cardiopatias) e administração profilática ou terapêutica de agentes antimicrobianos.

S. aureus está relacionado com grande variedade de infecções, entre elas estão: infecções cutâneas (furúnculos, impetigo e abscessos), infecções sistêmicas (osteomielites, endocardites e artrites) e as causadas por suas toxinas, como infecções alimentares, septicemia, síndrome da pele escaldada e síndrome do choque tóxico (PATTI et al.¹⁷⁰, 1994; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; NOVICK et al.¹⁵⁷, 2001; DAVID et al.⁵², 2005; GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005; YAMASAKI et al.²⁴⁵, 2005).

S. epidermidis têm sido descrito como principal estafilococo implicado em infecções nosocomiais. Este microrganismo geralmente afeta pacientes imunocomprometidos, indivíduos hospitalizados para quimioterapia e outras doenças malignas, transplantados e bebês prematuros. Sua patogenicidade está relacionada à formação de biofilme em próteses cardíacas, articulares e vasculares. *S. epidermidis* é responsável por 50 a 70% das infecções relacionadas à implantação de cateter. A única infecção em um indivíduo adulto imunocompetente e com ausência de prótese vinculada a este microrganismo é a endocardite (VON EIFF et al.²³⁸, 2002).

S. saprophyticus é um patógeno relacionado à infecção no trato urinário superior e inferior. Isto ocorre porque esta espécie apresenta maior capacidade de aderência às células uroepiteliais, do que as outras espécies. Patologias com severidade moderada como disúria em mulheres ou uretrite em homens podem ser observadas, porém cistites e nefrites podem ocorrer em indivíduos imunocomprometidos. Este microrganismo é responsável por mais de 42% de todas as infecções do trato urinário em mulheres jovens e sexualmente ativas (VON EIFF et al.²³⁸, 2002). Infecções humanas, de menor prevalência, relacionadas a outras espécies de *Staphylococcus*, também têm sido relatadas (KLUYTMANS et al.¹¹⁰, 1998; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; VON EIFF et al.²³⁹, 2001; SEIFERT et al.²⁰¹, 2005; ANGUERA et al.⁶, 2006).

O gênero *Staphylococcus* apresenta muitos fatores de virulência que estão relacionados com sua capacidade de produzir doenças e disseminar-se pelos tecidos humanos e de outros animais. (VON EIFF et al.²³⁹, 2001; DUBIN⁵³, 2002). Os estafilococos contêm polissacarídeos, proteínas antigênicas e outras substâncias importantes na estrutura da parede celular. O peptideoglicano é importante na patogenia da infecção, pois induz a produção de interleucina-1 (pirógeno endógeno) e de anticorpos. Além disso, pode atuar como quimiotático para leucócitos polimorfonucleares (GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005). Os

ácidos teicóicos estão relacionados com a aderência do microrganismo e também com a ativação do sistema complemento (GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005; UENO & JORGE²³⁰, 2006). A proteína A é um componente da parede celular de muitas cepas de *S. aureus* que tem a capacidade de se ligar à região Fc da imunoglobulina G (IgG). Esta proteína desempenha um efeito antifagocitário na patogênese da infecção (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; YARWOOD & SCHLIEVERT²⁴⁷, 2003; GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005; UENO & JORGE²³⁰, 2006). A maioria das cepas de *S. aureus* exibe uma camada microcapsular composta por polissacarídeos. Pesquisas *in vitro* indicaram ação anti-opsonização desta cápsula (FOSTER⁶⁴, 2005). A presença desta, também parece facilitar a aderência dos microrganismos às células do hospedeiro e aos dispositivos protéticos (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; UENO & JORGE²³⁰, 2006).

Estes microrganismos podem ainda produzir doença através da produção de muitas substâncias extracelulares, como enzimas e toxinas (DUBIN⁵³, 2002). Dentre as enzimas, a catalase é produzida por todos os estafilococos, e pode atuar inativando o peróxido de hidrogênio e radicais livres tóxicos formados no interior das células fagocitárias, após a ingestão do mesmo. A coagulase, produzida por algumas espécies, podem recobrir as células bacterianas com fibrina tornando-as resistentes à opsonização e à fagocitose. As fibrinolisinases podem degradar coágulos de fibrina e permitir a disseminação da infecção aos tecidos adjacentes. De modo similar, a hialuronidase hidrolisa a matriz intercelular de mucopolissacarídeos nos tecidos e, portanto, pode atuar disseminando os microrganismos para áreas contíguas (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; DUBIN⁵³, 2002; GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005). A lipase atua sobre os lipídios presentes em membranas celulares, é produzida por algumas espécies e permite a colonização da pele. A beta-lactamase confere resistência à penicilina (EADY & COVE⁵⁴, 2003; GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005; UENO & JORGE²³⁰, 2006). As hemolisinas de *S.*

aureus possuem várias atividades biológicas, como ação letal a leucócitos polimorfonucleares humanos, lise e efeito tóxico para eritrócitos de várias espécies animais, leucócitos, macrófagos e fibroblastos, além de promover a ruptura da membrana celular facilitando a penetração nas células do hospedeiro (KOMURO et al.¹¹⁴, 2001; YARWOOD & SCHLIEVERT²⁴⁷, 2003; GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005).

A leucocidina é uma exotoxina que exerce efeito tóxico direto sobre a membrana dos leucócitos polimorfonucleares humanos, causando degranulação do citoplasma, edema celular e lise. A toxina esfoliativa, também denominada esfoliatina ou toxina epidermolítica, produzida por algumas cepas de *S. aureus* é responsável pela síndrome estafilocócica da pele queimada. Essa toxina leva à ruptura dos desmossomos da camada granular do epitélio (YARWOOD & SCHLIEVERT²⁴⁷, 2003; FOSTER⁶⁴, 2005; YAMASAKI et al.²⁴⁵, 2005; UENO & JORGE²³⁰, 2006). As enterotoxinas são moléculas termoestáveis responsáveis pelas características clínicas da intoxicação estafilocócica alimentar. A toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1) é uma exotoxina secretada durante o crescimento de algumas cepas de *S. aureus*, que pode reproduzir a maioria das manifestações clínicas da síndrome do choque tóxico. As enterotoxinas e TSST-1 são consideradas “superantígenos”, pois são capazes de superar as etapas usuais de processamento antigênico das células mononucleares e unem-se diretamente aos monócitos e linfócitos, produzindo a liberação de citocinas. A liberação sistêmica destas citocinas parece ocasionar as alterações sistêmicas da síndrome do choque tóxico (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; VON EIFF et al.²³⁸, 2002; YARWOOD & SCHLIEVERT²⁴⁷, 2003; GÖTZ⁷³, 2004; FOSTER⁶⁴, 2005; UENO & JORGE²³⁰, 2006).

Outros fatores de virulência podem estar envolvidos na patogênese das infecções por estafilococos coagulase-negativos, como a formação de biofilme por *S. epidermidis*, aderência específica de *S. saprophyticus* em células uroepiteliais e secreção de diferentes enzimas

extracelulares e toxinas por estas espécies (VON EIFF et al.²³⁹, 2001; VON EIFF et al.²³⁸, 2002; YARWOOD & SCHLIEVERT²⁴⁷, 2003).

A capacidade de comunicação célula-a-célula e regulação dos fatores de virulência no biofilme, proporcionam a algumas espécies destes microrganismos, como *S. aureus* e *S. epidermidis*, a capacidade de causar inúmeras patologias e de sobreviver em diferentes nichos do hospedeiro (YARWOOD & SCHLIEVERT²⁴⁷, 2003).

Um dos maiores problemas envolvendo estes microrganismos, coagulase-positivos e coagulase-negativos, tem sido o crescente aumento de cepas resistentes a meticilina, vancomicina e a outros antibióticos, em infecções na comunidade e em ambiente hospitalar (MARSOU et al.¹³³, 1999; PADOVEZE et al.¹⁶⁵, 2001; EADY & COVE⁵⁴, 2003; GÖTZ⁷³, 2004; NUNES et al.¹⁵⁸, 2006).

2.4.2 Gênero *Staphylococcus* na cavidade bucal

Embora haja extensa literatura sobre *Staphylococcus aureus* e estafilococos coagulase-negativos, pouca atenção tem se dado à cavidade bucal como reservatório destes microrganismos. Os estafilococos têm sido freqüentemente isolados da cavidade bucal de crianças, idosos e em alguns grupos com patologias sistêmicas em fase terminal, como em artrite reumatóide e pacientes com doenças hematológicas malignas (MIYAKE et al.¹⁴¹, 1991; JOBBINS et al.⁹⁹, 1992; JACOBSON et al.⁹⁶, 1997; JACKSON et al.⁹⁴, 1999; JACKSON et al.⁹⁵, 2000). Espécies de *Staphylococcus* presentes na cavidade bucal podem, na vigência de condições apropriadas, causar infecção local ou sistêmica, pois apresentam potencial de disseminação e são capazes de colonizar outros órgãos. Algumas infecções na cavidade bucal são relacionadas a *S. aureus*, incluindo queilite angular, infecções endodônticas,

osteomielites na mandíbula, infecções da parótida e mucosites (PATTI et al.¹⁷⁰, 1994; JACKSON et al.⁹⁵, 2000; SMITH et al.²¹⁰⁻², 2001 e 2003).

Jackson et al.⁹⁵ (2000) isolaram estafilococos de 92% de uma população infantil saudável. *S. aureus* foi a espécie prevalente. Dentre os isolados coagulase-negativos, *S. epidermidis* e *S. warneri* foram os mais freqüentemente observados. Das 124 crianças que estavam sob tratamento de câncer (leucemia, linfoma ou outros tumores sólidos) foram isolados *Staphylococcus* spp. da cavidade bucal de 42% das crianças, sendo que *S. aureus* estava presente em apenas 5% dos isolados.

Martins et al.¹³⁴ (2002) pesquisaram a presença de microrganismos do gênero *Staphylococcus* na cavidade bucal de adultos saudáveis. Obtiveram o isolamento em 95,6% dos indivíduos analisados, nos quais 63% dos isolados eram coagulase-negativos. Dentre as cepas coagulase-positivas foram identificadas *S. hyicus*, *S. aureus* e *S. schleiferi* subespécie *coagulans*.

No estudo de Monroy et al.¹⁴² (2005), *S. aureus* foi isolado a partir da mucosa do palato de portadores de prótese total e na superfície interna destas. Observou-se também alto índice de isolamento deste microrganismo em pacientes com estomatite por prótese.

O isolamento de *S. aureus* meticilina-resistentes (MRSA) a partir da cavidade bucal também tem sido relatado (SUZUKI et al.²²³, 1997; SMITH et al.²¹¹⁻², 2003). Estudo longitudinal realizado por Suzuki et al.²²³ (1997) sugeriu que MRSA podem persistir na boca por mais de cinco anos. Os autores concluíram que a cavidade bucal pode ser considerada um reservatório potencial de MRSA para infecção nosocomial.

Staphylococcus spp. são identificados no biofilme subgengival de indivíduos com doença periodontal. Estes microrganismos produzem inúmeros fatores de virulência, incluindo leucocidina que podem estar envolvidas no desenvolvimento da infecção periodontal, comprometendo a atividade dos neutrófilos no sistema de defesa. Iwase et al.⁸⁹ (1990) isolaram estafilococos da microbiota subgengival de

pacientes com periodontite crônica. Das amostras coletadas as cepas de *S. aureus* exibiram grande atividade citotóxica para neutrófilos. Os autores concluíram que a produção de toxina por *S. aureus* no sítio gengival pode agir como co-fator no desenvolvimento da doença periodontal. Rams et al.¹⁸² (1990) observaram a presença subgengival de *Staphylococcus* spp. nas diferentes formas de doença periodontal. Estafilococos foram isolados em 50,4% dos pacientes com periodontite crônica, 45,4% com periodontite agressiva, 30,8% com periodontite agressiva localizada, 50% com gengivite e 69,2% em periimplantites. Nos indivíduos com periodontite crônica analisados no estudo de Loberto et al.¹²⁶ (2004), *S. epidermidis* foi à espécie prevalente na bolsa periodontal e na cavidade bucal, seguido por *S. aureus*. Os autores relataram que a presença de bactérias oportunistas na cavidade bucal pode representar dificuldades para a manutenção do tratamento periodontal. Murdoch et al.¹⁴⁶ (2004) relataram a presença de estafilococos em 54% de sítios subgengivais com doença periodontal e em 43% de sítios subgengivais periodontalmente saudáveis em 50% dos pacientes com doença periodontal, além de 29% em sítios sem doença periodontal em 54% dos indivíduos controle. Os autores consideraram que a ocorrência subgengival destes microrganismos pode atuar como um reservatório para infecções sistêmicas através de sítios com doença periodontal.

Um importante mecanismo de resistência bacteriana frente às penicilinas é a produção de β -lactamases. Sendo a doença periodontal uma infecção polimicrobiana, a emergência de microrganismos que produzem esta enzima na região subgengival irá também proteger bactérias não produtoras da ação de antibióticos β -lactâmicos, ocasionando falha terapêutica ou recorrência da doença. Esta hipótese foi confirmada por Handal et al.⁸⁰ (2004), que observaram em 72% dos indivíduos que apresentavam sítios com doença periodontal refratária a presença de *Staphylococcus* spp. e outras bactérias produtoras de β -lactamases.

2.5 Família Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae

2.5.1 Características gerais e fatores de virulência da família Enterobacteriaceae

A família Enterobacteriaceae constitui um grande grupo heterogêneo de bastonetes Gram-negativos. Muitas espécies fazem parte da microbiota normal do trato intestinal dos animais e do homem, também estão presentes no solo, vegetação e água. A família inclui numerosos gêneros, como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, entre outros. Foram definidos mais de 25 gêneros e cento e dez espécies ou grupos. Entretanto, as Enterobacteriaceae clinicamente importantes compreendem vinte a 25 espécies, enquanto as outras espécies são encontradas raramente (BROOKS et al.³¹, 2000; UENO & JORGE²²⁹, 2006). Estes gêneros foram classificados com base nas propriedades bioquímicas, estrutura antigênica e seqüenciamento dos ácidos nucleicos (MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000; OHKUSU¹⁶², 2000).

Os membros desta família são bastonetes Gram-negativos curtos, anaeróbios facultativos, com 0,5 a 2,0 µm de largura por 1,0 a 4,0 µm de comprimento, não formadores de esporos, são móveis por flagelos peritríqueos ou imóveis, apresentam metabolismo respiratório e fermentativo. (HOLT et al.⁸⁶, 1994; BROOKS et al.³¹, 2000; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; FILLIUS et al.⁶¹, 2003; UENO & JORGE²²⁹, 2006). Possuem exigências nutricionais simples, fermentam glicose, reduzem nitrato, são catalase-positivas e oxidase negativas (MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000; OHKUSU¹⁶², 2000).

Os pacientes imunocomprometidos ou debilitados são altamente suscetíveis às infecções adquiridas nos hospitais, após a colonização com cepas ambientais ou contaminação a partir de

procedimentos invasivos, como cateterismo, broncoscopia, coloscopia ou biópsia cirúrgica (PITOUT et al.¹⁷³, 1997; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; MOTTA et al.¹⁴⁵, 2003; KAYE et al.¹⁰⁵, 2004).

As bactérias desta família podem produzir uma grande variedade de doenças humanas, incluindo septicemia, infecções urinárias e intestinais. O aumento de infecções por estes microrganismos tem sido relacionado ao uso indiscriminado de antibióticos, quimioterapia, terapia com imunossupressores e em indivíduos com comprometimento do sistema imunológico (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; MOTTA et al.¹⁴⁵, 2003). Algumas espécies dos gêneros *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia* estão associadas à doença nos seres humanos, como septicemia, febre entérica, gastroenterite (shigelose), peste bubônica e peste pneumônica (MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000; VELGE et al.²³³, 2005; PARSOT¹⁶⁸, 2005; TIERREZ & GARCIA-DEL PORTILLO²²⁶, 2005), enquanto outras, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*, são membros da microbiota normal, e podem causar infecções oportunistas (ACHTMAN et al.², 2004; BRANGER et al.²², 2005; ARPIN et al.⁹, 2005; MANCHANDA et al.¹²⁹, 2005; ENDIMIANI et al.⁵⁸, 2005;).

As infecções podem originar-se de um reservatório animal, de um portador humano ou por disseminação endógena dos microrganismos em um paciente susceptível (MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000). Velge et al.²³³ (2005) em uma revisão de literatura relataram a emergência das infecções por *Salmonella* spp., e o aparecimento de espécies multi-drogas resistentes. Várias espécies dos diferentes gêneros desta família são citadas na literatura atual como agentes causais das mais diferentes patologias, como *Enterobacter sakazakii* e infecções de neonatos, *Escherichia coli* em infecções gastro-intestinais e endocardites, *Kluyvera ascobarta* em infecções urinárias, entre outras (BRANGER et al.²², 2005; CAPRIOLI et al.³⁶, 2005; GURTLE et al.⁷⁶, 2005; NARCHI¹⁵³, 2005).

Enterobactérias são um grupo de patógenos importantes tanto nas infecções ocorridas na comunidade, quanto nas adquiridas em

hospitais e a resistência aos antibióticos têm se tornado intensamente comum. O mais sério padrão que emerge atualmente entre os microrganismos Gram-negativos são os resistentes a cefalosporinas e penicilinas de amplo-espectro (MOTTA et al.¹⁴⁵, 2003; ARPIN et al.⁹, 2005). A resistência pode aparecer em isolados clínicos, anteriormente sensíveis, por meio da transferência de plasmídeos. As bactérias entéricas Gram-negativas possuem normalmente um único e grande plasmídeo que codifica a resistência a vários antibióticos. A produção das β -lactamases, responsáveis pela resistência aos antibióticos β -lactamáticos, podem ser encontradas em diferentes espécies, como *E. coli*, *K. pneumoniae* e *E. cloacae* (PITOUT et al.¹⁷³, 1997; KAYE et al.¹⁰⁵, 2004; WACHINO et al.²⁴⁰, 2004; ARPIN et al.⁹, 2005; PITOUT et al.¹⁷⁴, 2005; NAVEEN & MATHAI¹⁵⁴, 2005).

Numerosos fatores de virulência já foram identificados nos membros da família Enterobacteriaceae, sendo alguns deles comuns a todos os gêneros, enquanto outros são exclusivos de cepas virulentas específicas (MURRAY, et al.¹⁴⁷, 2000; DARWIN⁵¹, 2005). A maior ou menor patogenicidade é determinada pela habilidade de inibir os mecanismos de defesa locais e sistêmicos do hospedeiro. Fatores como adesinas, lipopolissacarídeos, polissacarídeos capsulares, bacteriocinas e plasmídeos, são determinantes na patogenicidade destes microrganismos (MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000).

2.5.2 Características gerais e fatores de virulência da família Pseudomonadaceae

Os membros desta família caracterizam-se como bacilos Gram-negativos, retos ou ligeiramente curvos, com aproximadamente 0,5 a 1,0 μm de largura por 1,5 a 5,0 μm de comprimento, aeróbios estritos; a

maioria das cepas apresenta motilidade por meio de um ou mais flagelos polares, utiliza glicose e outros carboidratos oxidativamente e em geral são citocromo oxidase-positivas. Embora sejam classificados como aeróbios obrigatórios, segundo Enoch et al.⁵⁹ (2004) podem crescer em condições anaeróbicas. A presença da citocromo-oxidase em *Pseudomonas* spp. é utilizada para diferenciar estas bactérias das Enterobacteriaceae (OBERHOFER¹⁵⁹, 1981; MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000; KONEMAN, et al.¹¹⁵, 2001).

O gênero *Pseudomonas* é composto por numerosas espécies, subdivididas de acordo com suas diferenças bioquímicas e genéticas. São microrganismos ubíquos encontrados no solo, na matéria orgânica em decomposição, na vegetação e na água. São também encontradas em todo ambiente hospitalar em reservatórios úmidos, como equipamentos de tratamento respiratório e diálise e até mesmo em soluções desinfetantes. Esta ampla distribuição ambiental é assegurada por suas exigências simples de crescimento. Muitos compostos orgânicos podem ser utilizados como fonte de carbono e nitrogênio, e algumas cepas podem até mesmo crescer em água destilada ou soro fisiológico, utilizando diminutas quantidades de nutrientes (MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000; UENO & JORGE²²⁹, 2006).

Algumas cepas apresentam colônias de aparência mucóide, devido à abundância de uma cápsula de polissacarídeos. Algumas espécies produzem pigmentos passíveis de difusão em meio de cultura, como a piocianina (azul), fluoresceína (amarelo) e piorrubina (vermelho-acastanhado) (OBERHOFER¹⁵⁹, 1981; MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000, KIRISITS, et al.¹⁰⁸, 2005). As espécies do gênero *Pseudomonas* podem ser divididas em três grupos de acordo com suas características fenotípicas. O grupo Fluorescente abrange as espécies *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* e *P. putida*. *Pseudomonas stutzeri* e *P. mendocina* compõem o segundo grupo Stutzeri e o terceiro, Alcaligenes, é composto por *P.*

alcaligenes e *P. pseudoalcaligenes* (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; FUHRER et al.⁶⁵, 2005).

Apesar de sua presença ubíqua, capacidade de crescimento em praticamente qualquer ambiente, propriedades de virulência e resistência antimicrobiana, estes microrganismos não são patógenos comuns, sendo as infecções por *Pseudomonas* spp., consideradas basicamente oportunistas (MURRAY et al.¹⁴⁷, 2000; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; RUIMY et al.¹⁸⁷, 2001, SMITH & IGLEWSKI,²¹³ 2003; SECKO²⁰⁰, 2005).

Pseudomonas aeruginosa é a espécie mais freqüentemente isolada de amostras clínicas. As infecções são em geral observadas em sítios onde existe tendência ao acúmulo de umidade, como em traqueostomia, cateteres permanentes, queimaduras, ouvido externo e feridas externas exsudativas, podendo também produzir infecções no trato urinário e respiratório inferior. É um patógeno oportunista que pode causar morbidade ou mortalidade em pacientes queimados, com fibrose cística ou imunocomprometidos (HA & JIN⁷⁷, 1999; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; RUIMY et al.¹⁸⁷, 2001; SMITH & IGLEWSKI²¹³, 2003; KIPNIS et al.¹⁰⁷, 2006). Este microrganismo dispõe tanto de fatores celulares quanto extracelulares associados à virulência, que facilitam no estabelecimento da infecção (SMITH & IGLEWSKI²¹³, 2003; KIPNIS et al.¹⁰⁷, 2006). *P. aeruginosa* secreta toxinas com ação citotóxica para células eucarióticas, que proporcionam a invasão e disseminação, além de elastase, protease alcalina, exotoxina A e fosfolipase C (KIPNIS et al.¹⁰⁷, 2006). Esta bactéria também apresenta um mecanismo de comunicação, denominado “quorum sensing”, que permite às bactérias agir como uma comunidade na regulação coordenada da expressão de genes, como os da virulência, sendo, portanto, importante na patogênese (SMITH & IGLEWSKI²¹³, 2003; KIPNIS et al.¹⁰⁷, 2006; WAGNER et al.²⁴¹, 2006).

2.5.3 Enterobactérias e *Pseudomonas* spp. na cavidade bucal

As bactérias da família Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae são exaustivamente estudadas pela área médica, sendo conhecida sua patogenicidade no organismo humano, porém, na cavidade bucal, estas bactérias não eram consideradas patogênicas. Entretanto, a presença destas bactérias na cavidade bucal pode servir de reservatório, podendo comprometer gravemente a vida de indivíduos debilitados (SLOTS et al.²⁰⁵⁻⁷, 1990; SLOTS et al.²⁰⁹, 1991; SANTOS & JORGE¹⁹⁶, 1998; SANTOS et al.¹⁹⁷, 2002; SENPUKU et al.²⁰², 2003).

Alguns trabalhos relataram a associação de enterobactérias com ulcerações bucais em pacientes HIV positivos, porém esta associação pode não estar obrigatoriamente relacionada à causa da ulceração, podendo ser as enterobactérias invasores secundários (TSANG & SAMARANAYAKE²²⁸, 2000; FIGUEIRÊDO et al.⁶⁰, 2001).

Fatores sistêmicos e locais parecem estar relacionados com o aumento da prevalência de enterobactérias e/ou pseudomonas na cavidade bucal, porém este assunto permanece bastante controverso (JOBINS et al.⁹⁹, 1992; ÖHMAN et al.¹⁶³, 1995; PANNUTI et al.¹⁶⁷, 2001; SENPUKU et al.²⁰², 2003).

Alta prevalência de enterobactérias e/ou pseudomonas na cavidade bucal de indivíduos brasileiros saudáveis (51%) foi observada por Santos & Jorge¹⁹⁶ (1998).

Em pacientes HIV positivos, Schmidt-Westhausen et al.¹⁹⁸ (1991) obtiveram a prevalência de 22% de isolados, sendo *E. coli*, *K. pneumoniae* e *E. cloacae* as espécies mais isoladas. Percentual próximo (26,3%) ao encontrado por estes autores foi relatado por Tsang & Samaranayake²²⁸ (2000), em que a espécie prevalente de enterobactérias foi *E. cloacae*. Em 2001, Figueirêdo et al.⁶⁰ obtiveram maior prevalência em pacientes HIV positivos (37,8%) do que o observado no grupo controle

(34,4%). As espécies mais isoladas foram *E. coli* e *K. pneumoniae*. Estes autores afirmam que devido à possibilidade destas bactérias indicarem um distúrbio da ecologia local, a presença destas na cavidade bucal merece ser adequadamente esclarecida.

O efeito de aparelhos ortodônticos sobre a colonização por espécies destes microrganismos foi avaliado por Hägg et al.⁷⁹ (2004) a partir de amostras do biofilme dentário e enxágüe bucal. De acordo com a análise estatística, houve um aumento significativo da prevalência de enterobactérias após a inserção do aparelho fixo, independente da técnica utilizada para coleta.

Enterobactérias e pseudomonas têm sido encontrados na microbiota subgengival de lesões periodontais avançadas e têm sido implicados como patógenos importantes nos casos de periodontites crônicas refratárias, sendo que a colonização subgengival por estes microrganismos representa superinfecção. Estes microrganismos persistem após a terapia periodontal mecânica ou cirúrgica, sendo necessária à associação de agentes antimicrobianos para o tratamento das infecções periodontais envolvendo estes patógenos. Além disso, estas espécies apresentam fatores de virulência relacionados à invasão tecidual, podendo a partir de um sítio periodontal atingir a corrente sangüínea e causar septicemia em pacientes debilitados (SLOTS et al.²⁰⁸, 1988; SLOTS et al.²⁰⁶⁻⁷, 1990).

Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae e *Acinetobacter* foram isolados a partir de 14% dos pacientes com doença periodontal analisados por Slots et al.²⁰⁷ (1990). *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* foram encontrados em 43% dos pacientes positivos para bacilos entéricos e pseudomonas no sítio subgengival. Ainda em 1990, Slots et al.²⁰⁶ identificaram em 844 pacientes com periodontite crônica a prevalência e a sensibilidade a antimicrobianos destes microrganismos. *E. cloacae*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* e *K. oxytoca* corresponderam a 60% das amostras isoladas.

A prevalência subgengival de bacilos entéricos e pseudomonas em indivíduos com doença periodontal também foi avaliada por Barbosa et al.¹¹ (2001). Foram isoladas trinta cepas desses microrganismos em 31,2% dos indivíduos analisados. As espécies freqüentemente isoladas foram *P. aeruginosa* e *S. marcescens*. Os autores relataram que a eliminação destes patógenos oportunistas pode ser importante para a resolução dos processos infecciosos periodontais. Além disso, a elevada porcentagem de indivíduos colonizados por microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos mais utilizados, como amoxicilina associada ao ácido clavulânico e doxiciclina, indica a importância da detecção microbiológica dessas cepas e da realização do teste de susceptibilidade previamente ao emprego de antimicrobianos.

Santos et al.¹⁹⁷ (2002) relataram a presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal de 43,18% e 15,9% na bolsa periodontal dos indivíduos com periodontite crônica analisados, sendo mais prevalente em indivíduos do sexo masculino. *Enterobacter cloacae* foi a espécie mais isolada, e os autores não observaram correlação entre a presença destes microrganismos com profundidade da bolsa periodontal, faixa etária, hábito de fumar e doenças sistêmicas.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo:

- a) avaliar a presença de microrganismos dos gêneros *Candida* e *Staphylococcus* e das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal de pacientes portadores do HIV e comparar este resultado com indivíduos controle;
- b) verificar a associação da presença e do número destes microrganismos, com a contagem de células T CD4+ e com a carga viral apresentada pelos indivíduos soropositivos para o HIV;
- c) comparar as contagens dos microrganismos em pacientes HIV positivos fumantes e não fumantes.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Aspectos éticos

Esta pesquisa seguiu as determinações das resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL²³⁻⁴, 1996 e 1997) que estabelece as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. O projeto de pesquisa foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, sob o protocolo nº 012/2005-PH/CEP (Anexo A). Os indivíduos que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

4.2 Cálculo do tamanho amostral

Para o cálculo do tamanho amostral inicialmente foi realizado estudo piloto incluindo oito pacientes do grupo experimental e oito do grupo controle. Foram realizadas contagens de *Candida*, *Staphylococcus* e bactérias da família Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae, e os resultados (UFC/mL) analisados quanto as principais medidas de centralização e dispersão. A partir destes dados, a normalidade de cada um dos grupos foi analisada pelo método Anderson-Darling (nível de significância 5%). Observou-se que os resultados

encontrados foram de natureza não-normal, com exceção do grupo “cavidade bucal – *Staphylococcus* – HIV”.

Desta forma, segundo Triola²²⁷ e Vieira²³⁵ concluiu-se que o tamanho da amostra com 45 indivíduos em cada grupo é satisfatório para permitir a comparação dos dados dos grupos controle e experimental.

4.3 Grupo de estudo

Participaram do presente estudo 45 indivíduos (23 do gênero feminino e 22 do masculino), com idades entre 22 e 66 anos, soropositivos para HIV, previamente diagnosticados pelo teste ELISA e confirmados por *Western-blot*, que estavam sob tratamento médico no Hospital Dia do Hospital Escola de Taubaté ou no Ambulatório Regional de Especialidades (ARE) do Estado de São Paulo.

4.4 Grupo controle

Para o grupo controle foram selecionados 45 indivíduos, com idades entre 23 e 66 anos, saudáveis com perfil semelhante, quanto à idade, gênero, presença de prótese, hábito de fumar e condições bucais aos indivíduos soropositivos, que estavam em tratamento nas clínicas da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP.

4.5 Critérios de inclusão

Os indivíduos soropositivos para HIV incluídos faziam uso da medicação anti – retroviral por pelo menos um ano e não haviam sido submetidos a antibioticoterapia, com antibacterianos ou antifúngicos, por pelo menos sessenta dias antes da coleta.

4.6 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo indivíduos diabéticos não metabolicamente controlados, gestantes, pacientes com prótese total (superior e inferior) ou lesões sugestivas de candidose bucal.

4.7 Anamnese

Foram avaliados durante a realização da anamnese no grupo de estudo os dados pessoais, as condições de saúde geral e bucal de todos os indivíduos, a associação dos medicamentos utilizados (“coquetel”) e o tempo de tratamento. Utilizando-se do prontuário médico do paciente foram anotados os dados sobre carga viral e contagem de células T CD4+ (Apêndice B).

Os indivíduos do grupo controle foram submetidos a um questionário sobre as condições médicas e bucais (Apêndice C).

4.8 Exame clínico

Todos os indivíduos incluídos no estudo foram submetidos ao exame clínico para avaliação das condições de saúde bucal. Foram avaliados a presença de lesões bucais, uso de próteses e aparelhos ortodônticos. Para a realização deste exame foi utilizado espelho plano nº 5, sonda exploradora e sonda periodontal milimetrada tipo *Williams* devidamente esterilizados. Todos os indivíduos foram examinados pelo mesmo operador e os dados referentes ao exame clínico foram anotados nas fichas clínicas para posterior análise, assim como os sítios periodontais escolhidos para a coleta (Apêndice B e C).

Os indivíduos foram encaminhados para tratamento odontológico no Centro de Especialidades da Prefeitura Municipal de Taubaté, conforme as necessidades bucais individuais.

4.9 Coleta das amostras

A coleta de material da cavidade bucal foi realizada por meio de 10 mL de solução fisiológica esterilizada (NaCl a 0,85%) tamponada com fosfato (PBS 0,1M 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.

Para coleta de material subgengival foram selecionados dois sítios em cada indivíduo. Após a remoção de biofilme supragengival com compressa de gaze esterilizada e isolamento relativo com roletes de algodão, as amostras de material subgengival foram obtidas com cones de papel absorvente esterilizados nº 30. Foram inseridos três cones na

porção mais apical de cada sítio selecionado. Os cones foram mantidos no local por 30 segundos e, em seguida, acondicionados em tubos plásticos (*Eppendorf*) esterilizados contendo 1 mL de solução fisiológica (NaCl a 0,85%) tamponada com fosfato 0,1 M e pH 7,2 (PBS) esterilizada.

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, respeitando-se o período máximo de três horas entre a coleta e o processamento das amostras.

4.10 Processamento das amostras

As amostras de enxágüe bucal foram centrifugadas por dez minutos (3850 *xg*) e o sobrenadante foi descartado. O depósito foi ressuspenso em 2,5 mL de PBS e misturado em agitador de tubos (*Vortex*) por trinta segundos, produzindo assim a suspensão de concentração final.

As amostras coletadas do sítio periodontal foram homogeneizadas em agitador de tubos (*Vortex*) durante trinta segundos. Os cones foram desprezados com auxílio de pinças esterilizadas. Cada amostra foi então centrifugada por dez minutos (8000 *xg*) e o sobrenadante descartado. Em seguida o depósito foi ressuspenso em 0,6 mL de PBS e misturado em agitador de tubos (*Vortex*) por trinta segundos, produzindo assim a suspensão de concentração final.

De cada suspensão de concentração final foi semeado 0,1 mL em duplicata em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose (*Difco*) acrescido de 0,1 mg/mL de cloranfenicol (quemicetina succinato, Carlo Erba®), ágar manitol (*Difco*) e ágar

MacConkey (Difco). As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Quando não houve crescimento nas placas de Sabouraud dextrose com cloranfenicol, estas foram deixadas por mais cinco dias a temperatura ambiente. A alíquota excedente de enxágüe bucal foi esterilizada e descartada.

Após o crescimento, as colônias foram examinadas quanto às características morfológicas (tamanho, forma, superfície, halos e presença de pigmentos), contadas e o número de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) foi calculado. A seguir, para cada colônia com morfologia diferente foram realizados esfregaços em lâminas e corados pelo método de Gram. Após confirmação microscópica, as colônias sugestivas de leveduras foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose inclinado e as colônias de cocos Gram-positivos e de bacilos Gram-negativos foram semeadas em *Tryptic Soy Agar* (TSA, Difco). Em seguida, os isolados foram incubados por 24 h a 37°C para obtenção de culturas puras. Após o crescimento, as amostras foram estocadas em geladeira para posterior identificação.

4.11 Identificação das amostras de *Candida*

As culturas obtidas foram identificadas baseando-se nas provas descritas por Sandvén¹⁹⁴ (1990), Williams & Lewis²⁴³ (2000) e Koneman et al.¹¹⁵ (2001).

4.11.1 Produção de tubo germinativo

Cada cultura pura foi semeada em placa de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose e incubada a 37°C por 24 horas. Para

a prova de produção de tubo germinativo adicionou-se uma alçada da cultura de levedura, em tubo de ensaio (13 x 170 mm) contendo 0,5 mL de soro estéril bovino. Os tubos de ensaio semeados foram colocados em banho-maria a 37°C pelo período de 2 a 3 horas. Durante este período, a formação ou não de tubo germinativo foi observada em microscopia de luz colocando-se uma gota da suspensão entre lâmina e lamínula. Observou-se que tubos germinativos são característicos de *C. albicans* ou *C. dubliniensis*. Foi utilizado como controle positivo *C. albicans* ATCC 18804.

4.11.2 Microcultivo

Para esta prova foi utilizado o meio *Corn Meal Agar* (Difco) acrescido de *Tween 80* a 1%. Após preparo, o meio foi esterilizado e armazenado em geladeira. Para a prova, o meio foi previamente fundido e com auxílio de uma pipeta de 10 mL, foi distribuído em lâminas colocadas no interior de placas de Petri esterilizadas. Após a solidificação do ágar, cada amostra de levedura (cultura de 24 horas) a ser testada foi semeada em estria única na superfície do meio e uma lamínula foi posicionada no centro da lâmina. Uma porção de algodão esterilizado foi colocada no interior de cada placa de Petri e foi umedecida com água destilada esterilizada, para evitar uma possível dessecação do meio de cultura. Este conjunto foi incubado por 72 horas em temperatura ambiente, quando então foi realizada a leitura em microscopia de luz (aumento de 400 vezes). Observou-se presença ou ausência de clamidoconídeos, hifas, pseudohifas e leveduras. A presença de clamidoconídeo é geralmente associada a *C. albicans* e *C. dubliniensis* (KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). Foi utilizado como controle positivo, *C. albicans* ATCC 18804.

4.11.3 Fermentação de carboidratos (Zimograma)

Para a realização desta prova foi utilizado o caldo vermelho de fenol (Difco) distribuído em tubos de ensaio contendo tubos de Durhan invertidos em seu interior. Os tubos foram autoclavados a 120°C por 15 minutos. A seguir, foi adicionado cada carboidrato (glicose, maltose, sacarose, galactose e lactose), previamente esterilizado por filtração (Filtro Millipore, GSWP-02500), de forma a obter uma concentração de 1%. Posteriormente, os tubos foram semeados com 100 µL da suspensão, feita a partir de uma cultura pura de 24 horas da levedura em ágar Sabouraud dextrose, com turvação equivalente a escala 0,5 de MacFarland. A leitura foi realizada após 48 horas e 1 semana da incubação a 37°C, observando-se se houve a mudança de cor do vermelho para o amarelo, indicando a produção de ácido e se houve bolhas de ar aprisionadas nos tubos de Durhan, o que indica a produção de gás.

4.11.4 Assimilação de carboidratos (Auxonograma)

Para a verificação da assimilação de carboidratos pelas amostras de *Candida* foi utilizado meio mínimo, com constituição de 5 g de sulfato de amônia (Merck), 1 g de sulfato ácido de potássio (Sigma), 0,5 g de sulfato de magnésio (Sigma), 15 g de ágar (Difco) para 1000 mL de água destilada. O equivalente a 20 mL de meio foi distribuído em tubos de ensaio (20 x 200 mm) e autoclavados a 120°C por 15 minutos. Para cada amostra a ser testada, foi obtida uma suspensão da levedura com turvação equivalente a escala 0,5 de MacFarland, a qual foi semeada em *pour plate*. Após a solidificação, foi colocado na superfície do meio, discos

de papel de filtro embebidos numa solução de 10% dos seguintes açúcares: glicose, galactose, lactose, maltose, sacarose e rafinose. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. A leitura foi feita pela observação da formação de um halo de crescimento da amostra ao redor do disco de papel. Com os resultados obtidos das provas descritas acima, as amostras foram caracterizadas fenotipicamente em espécies, baseando-se em Sandvén¹⁹⁴ (1990) e Willians & Lewis²⁴³ (2000), conforme Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação das espécies de *Candida* de acordo com a formação de tubo germinativo (TG), produção de clamidoconídeos (Clam) e hifas, fermentação e assimilação de carboidratos^{194,243}

Espécies de <i>Candida</i>	TG	Cla	H	Fermentação					Assimilação					
				G	S	M	L	GA	G	S	M	L	GA	R
<i>C. albicans</i>	+	+	+	A/G	A/-	A/G	-/-	A/G	+	+	+	-	+	-
<i>C. stellatoidea</i>	V	V	+	A/G	A/-	A/G	-/-	A/G	+	-	+	-	+	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	-	+	A/G	A/G	-/-	-/-	A/G	+	+	+	-	+	+
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>	-	-	+	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-
<i>C. lipolytica</i>	-	-	+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-
<i>C. lusitaniae</i>	-	-	+	A/G	A/G	-/-	-/-	A/G	+	+	+	-	+	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	+	A/G	-/-	-/-	-/-	V	+	+	+	-	+	-
<i>C. tropicalis</i>	-	V	+	A/G	A/G	A/G	-/-	V	+	+	+	-	+	-
<i>C. kefyr</i>	-	-	+	A/G	A/G	-/-	A/G	A/G	+	+	-	+	+	-

TG: tubo germinativo; Cla: clamidoconídeo; H = hifa

G: glicose; S: sacarose; M: maltose; L: lactose; GA: galactose; R: rafinose

A: produção de ácido; G: produção de gás

(+): prova positiva; (-): prova negativa; V: prova variável

4.12 Identificação das amostras de *Staphylococcus*

As culturas puras de *Staphylococcus* foram identificadas baseando-se em Forbes et al.⁶³ (1998), Oplustil et al.¹⁶⁴ (2000) e Koneman et al.¹¹⁵ (2001), utilizando-se as provas descritas a seguir.

4.12.1 Produção de catalase

A verificação da produção de catalase foi realizada para diferenciar estafilococos (prova positiva) de estreptococos (prova negativa). Culturas puras foram semeadas por esgotamento em ágar infuso cérebro-coração (*Brain Heart Infusion Agar*, Difco) e incubadas a 37°C durante 24 horas. Após esse período, parte de uma colônia isolada foi transferida para uma lâmina. Adicionou-se sobre o esfregaço uma gota de peróxido de hidrogênio a 3%. A prova foi considerada positiva quando houve formação de bolhas de oxigênio (efervescência), indicando a presença da enzima catalase (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001). Foi utilizado como controle positivo *S. aureus* ATCC 6538 e controle negativo *S. mutans* ATCC 35688.

4.12.2 Produção de coagulase

A produção de coagulase foi verificada por meio da adição de 0,25 mL de plasma humano em 0,5 mL da cultura a ser testada (cultura de 24 horas), em caldo de infusão cérebro-coração (*Brain Heart Infusion Agar*, Difco). A prova foi considerada positiva quando da

verificação da formação do coágulo de fibrina. As verificações foram feitas após 1, 2, 3 e 4 horas de incubação em banho-maria a 37°C. Os resultados positivos foram considerados para identificação das espécies de estafilococos coagulase-positivas. Os estafilococos coagulase-negativos foram separados para posterior identificação. Foi utilizado como controle positivo *S. aureus* ATCC 6538.

4.12.3 Produção de ácido a partir da D-trealose

A fermentação da D-trealose foi realizada em tubos de ensaio (15 x 120 mm) contendo caldo vermelho de fenol (Difco) acrescido de 1,5% de agar (Difco) e autoclavados a 121°C por 15 minutos. O açúcar foi adicionado de forma a obter concentração de 1%. As cepas previamente cultivadas em ágar Tryptic Soy Agar (TSA, Difco) a 37°C por 24 horas foram inoculadas em profundidade com agulha de platina e a seguir foram incubadas a 37°C. A prova foi considerada positiva pela viragem de pH, em que foi verificada a mudança da cor vermelha (negativo) para a amarela (positivo).

4.12.4 Voges-Proskauer

Foi utilizado o teste Voges-Proskauer (VP) para verificar se a bactéria produz butilno glicol como produto final de fermentação da glicose. Cada cultura pura foi semeada em ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Difco) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período as culturas foram inoculadas em tubos contendo 3 mL de caldo VP (caldo MRVP, Oxoid). Desse caldo foram retirados 2,5 mL e adicionados 0,6 mL

de α -naftol a 5% em álcool absoluto e 0,2 mL de hidróxido de potássio a 40% (reagente de Barrit). Após a mistura ter sido agitada para exposição ao oxigênio atmosférico, foram consideradas positivas as reações que ocorreram nos primeiros 5 minutos através da verificação de formação do halo de cor vermelha. Todos os tubos negativos foram colocados em repouso e observados após 1 hora.

Após a verificação dos resultados das provas bioquímicas, as cepas de *Staphylococcus* coagulase-positivas foram identificadas segundo Forbes et al.⁶³ (1998) (Quadro 2).

Quadro 2 - Identificação dos *Staphylococcus* coagulase-positivos, considerando-se as provas bioquímicas⁶³

Espécies	Catalase	Coagulase	VP	D trealose	ONPG
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	-
<i>S. intermedius</i>	+	+	-	+	+
<i>S. hyicus</i>	+	+	-	+	-
<i>S. schleiferi</i> (subsp. <i>coagulans</i>)	+	+	+	-	ind.

(+): prova positiva (-): prova negativa ind.: indeterminada
VP: Voges-Proskauer ONPG: ortonitrofenil β -galactosídeo

4.12.5 Sistema API[®] Staph (Bio-Merieux, França)

Os isolados de estafilococos coagulase-negativos foram semeadas em ágar TSA (Difco) e incubadas a 37°C por 24 horas. As suspensões foram feitas nas ampolas de API Staph Medium com turvação equivalente a escala 0,5 de MacFarland e foram inoculadas nas galerias

imediatamente após a sua preparação. A condição de anaerobiose, necessária em alguns testes, foi obtida preenchendo-se as cúpulas com óleo de parafina. As galerias foram incubadas a 37°C por 24 horas. A leitura de cada galeria foi feita consultando o quadro de leitura fornecido no manual do sistema. Os resultados das reações espontâneas foram anotados nas fichas, e em seguida foram revelados os testes que necessitavam da adição de reagentes. Após a interpretação dos resultados, a identificação foi feita a partir do perfil numérico obtido por meio do programa de identificação fornecido pela empresa.

4.13 Identificação das amostras de Enterobactérias e *Pseudomonas*

A identificação dos bacilos Gram-negativos foi feita através de testes bioquímicos contidos nas galerias do Sistema API® 20 E (*Bio-Merieux*, França).

4.13.1 Sistema API® 20 E (*Bio-Merieux*, França)

As culturas puras de bacilos Gram-negativos foram semeadas por esgotamento em ágar MacConkey (Difco) e incubadas por 24 horas a 37°C. Uma colônia isolada de cada meio foi coletada com alça de platina e suspensões de cada amostra foram feitas em tubos de ensaio (13 x 100 mm) contendo 5 mL de água destilada esterilizada. Com auxílio de pipetas automáticas as suspensões foram inoculadas nas cúpulas das galerias. Para criar uma condição de anaerobiose, em determinados testes, a cúpula destes foi preenchida com óleo de parafina. Em seguida,

as galerias foram incubadas a 37°C por 24 horas. A leitura foi realizada da mesma maneira descrita para o API® Staph (Bio-Merieux, França).

4.14 Análise estatística

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada em três etapas. A primeira comparou os dados referentes à contagem dos microrganismos estudados, para cavidade bucal e para sítio periodontal, no grupo HIV e no controle por meio da análise de variância ANOVA, teste de Mann-Whitney, com nível de significância 5% ($p \leq 0,05\%$). A segunda análise foi referente à contagem dos microrganismos de acordo com a contagem de células CD4+ e carga viral apresentada pelos indivíduos soropositivos para o HIV. Esta comparação foi realizada por análise de variância ANOVA, teste de Kruskal-Wallis e teste de comparação múltipla de Dunn (5%). A terceira etapa verificou se havia diferença estatisticamente significativa entre a contagem de microrganismos no grupo HIV entre pacientes fumantes e não fumantes, utilizando-se análise de variância ANOVA, teste de Mann-Whitney (5%).

5 RESULTADO

Foram coletadas amostras de 45 indivíduos HIV-positivos, entre 22 e 66 anos, com média de 37,68 anos e desvio padrão de 10,12. Destes, 48,8% (n=22) eram do gênero masculino e 51,1% (n=23) do gênero feminino.

A idade dos indivíduos do grupo controle variou entre 23 e 66 anos (média de 37,51 anos e desvio padrão de 10,42).

Os dados individuais referentes aos pacientes do grupo HIV e indivíduos controle estão apresentados no Apêndice D (Tabela 17 e 18).

5.1 Gênero *Candida*

No grupo HIV observou-se maior porcentagem de indivíduos positivos para leveduras do gênero *Candida* (73,3%) quando comparada com o grupo controle (46,6%). A Tabela 1 representa a distribuição percentual de indivíduos positivos e negativos para leveduras do gênero *Candida* em ambos os grupos.

Tabela 1 – Distribuição percentual de indivíduos positivos e negativos para leveduras do gênero *Candida* nos grupos HIV e controle

	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
Positivos	33	73,3	21	46,6	54	60
Negativos	12	26,6	24	53,3	36	40
Total	45	100	45	100	90	100

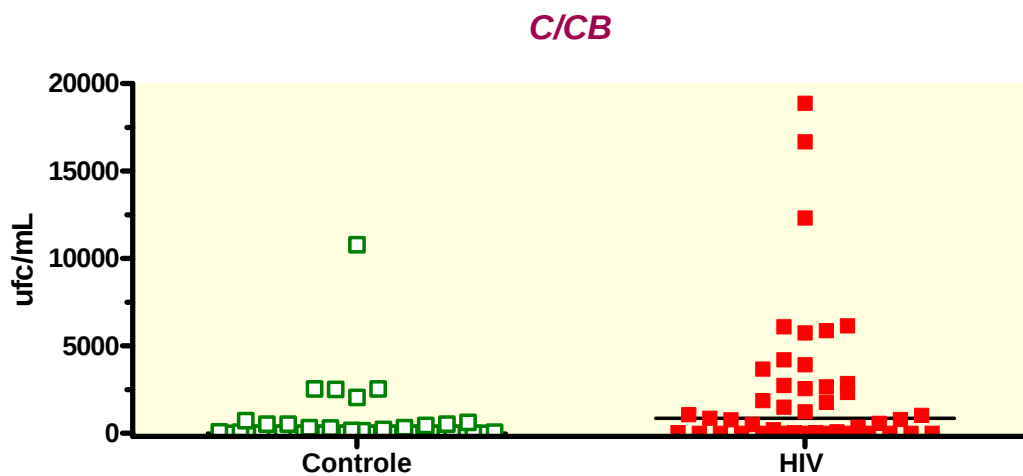
Dentre os 45 indivíduos soropositivos para o HIV incluídos no estudo, 33 (73,3%) foram positivos para leveduras na cavidade bucal e 16 (35,5%) apresentaram este microrganismo nos sítios periodontais analisados. Em 21 indivíduos do grupo controle (46,6%) foi isolado *Candida* spp. da cavidade bucal e em 5 (11,1%) dos sítios periodontais. Os dados referentes às amostras de *Candida* e local de coleta estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Número de indivíduos que apresentaram *Candida* na cavidade bucal e nos sítios periodontais

Local de coleta	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
Cavidade bucal	33	73,3	21	46,6	54	60
Sítios Periodontais	16	35,5	5	11,1	21	23,3

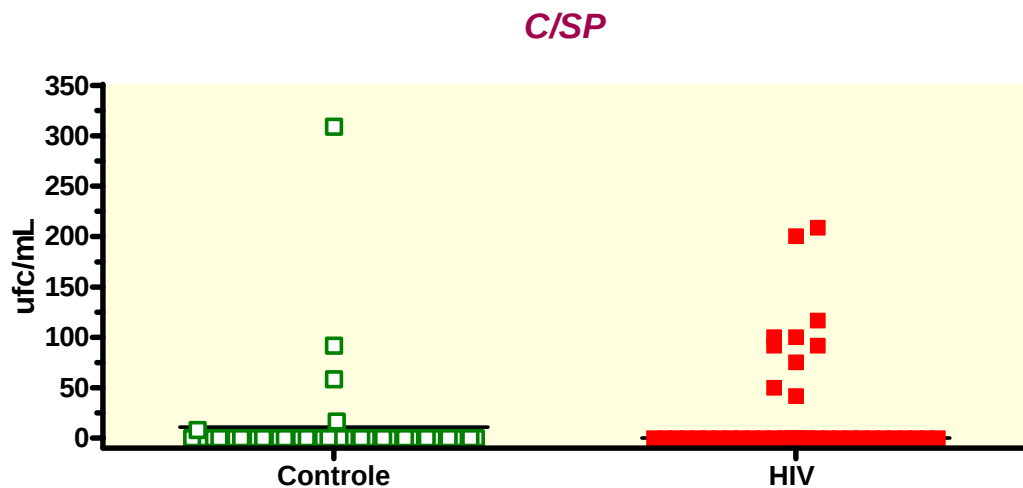
A comparação entre as contagens de leveduras (UFC/mL) na cavidade bucal e sítios periodontais do grupo HIV e do grupo controle foi realizada pelo teste Mann-Whitney. Observou-se que a distribuição das contagens de leveduras obtidas nos pacientes do grupo controle (mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 480 UFC/mL) diferiu da distribuição do grupo HIV (mediana = 860 UFC/mL e faixa interquartil = 3250 UFC/mL), sendo esta diferença estatisticamente significativa (p-valor = 0,0008). Para os sítios periodontais, a distribuição dos valores do grupo controle (mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 0 UFC/mL) também diferiu da distribuição obtida para o grupo HIV (mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 96 UFC/mL). Esta diferença foi considerada estatisticamente significativa (p-valor = 0,0032). A distribuição dos valores para cavidade bucal e sítios periodontais pode ser observada na Figura 1.

GRÁFICO A



C = *Candida* spp. CB = Cavidade bucal UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

GRÁFICO B



C = *Candida* spp. SP = Sítios Periodontais UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

FIGURA 1 – Gráficos de dispersão (*dot plot*) das contagens de leveduras do gênero *Candida* (UFC/mL) ao redor da mediana: a) na cavidade bucal; b) nos sítios periodontais, nos grupos HIV e controle.

Foram obtidos um total de 288 isolados de leveduras, sendo que 180 das amostras foram coletadas do grupo HIV e 108 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 à espécie mais freqüentemente identificada, seguida por *C. tropicalis*, e que o grupo HIV apresentou maior diversidade de espécies de *Candida* em relação ao grupo controle.

Tabela 3 - Espécies de *Candida* isoladas e identificadas no grupo HIV e controle

Espécies	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>C. albicans</i>	131	72,7	88	81,4	219	76
<i>C. tropicalis</i>	41	22,7	20	18,5	61	21,1
<i>C. glabrata</i>	3	1,6	0	0	3	1
<i>C. lipolytica</i>	2	1,1	0	0	2	0,7
<i>C. krusei</i>	1	0,5	0	0	1	0,3
<i>C. guilliermondii</i>	1	0,5	0	0	1	0,3
<i>C. parapsilosis</i>	1	0,5	0	0	1	0,3
Total	180	100	108	100	288	100

5.2 Gênero *Staphylococcus*

Estafilococos foram isolados a partir de 77 (85,5%) indivíduos incluídos neste estudo. No grupo controle houve maior número de indivíduos positivos para *Staphylococcus* spp. (86,6%) quando

comparada ao grupo de estudo (84,4%). A Tabela 4 representa a distribuição percentual de indivíduos positivos e negativos para *Staphylococcus* spp. em ambos os grupos. A partir de 38 indivíduos dos 45 HIV positivos (84,4%) foram isolados estafilococos na cavidade bucal e 18 (40%) apresentaram este microrganismo nos sítios periodontais analisados. No grupo controle, em 39 indivíduos (86,6%) foi isolado *Staphylococcus* spp. da cavidade bucal e em 14 (31,1%) nos sítios periodontais.

Tabela 4 – Distribuição percentual de indivíduos positivos e negativos para *Staphylococcus* spp. nos grupos HIV e controle

	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
Positivos	38	84,4	39	86,6	77	85,5
Negativos	7	15,5	6	13,3	13	14,4
Total	45	100	45	100	90	100

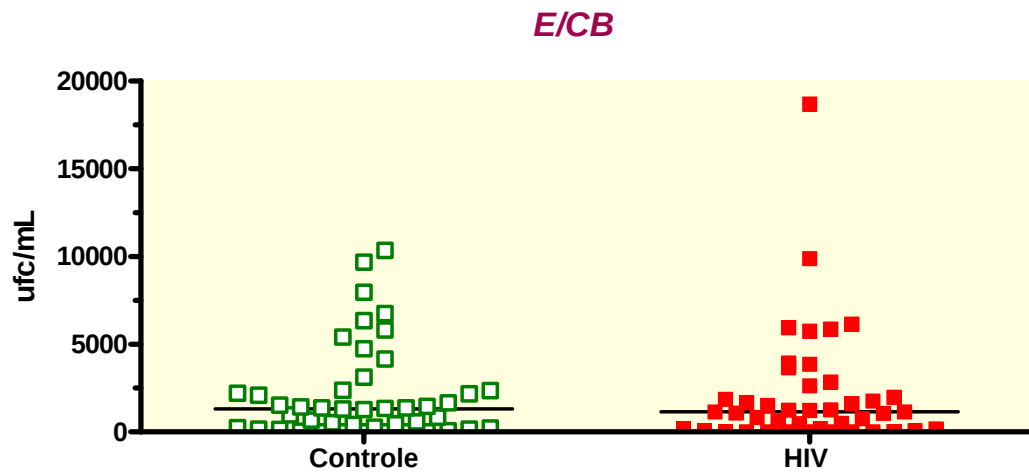
Os dados relativos ao número de indivíduos que apresentaram estafilococos na cavidade bucal e sítios periodontais estão na Tabela 5.

Tabela 5 - Número de indivíduos que apresentaram espécies de *Staphylococcus* de acordo com o local de coleta

Local de coleta	HIV		Controle		Total	
	N	%	n	%	n	%
Cavidade bucal	38	84,4	39	86,6	77	85,5
Sítios Periodontais	18	40	14	31,1	32	35,5

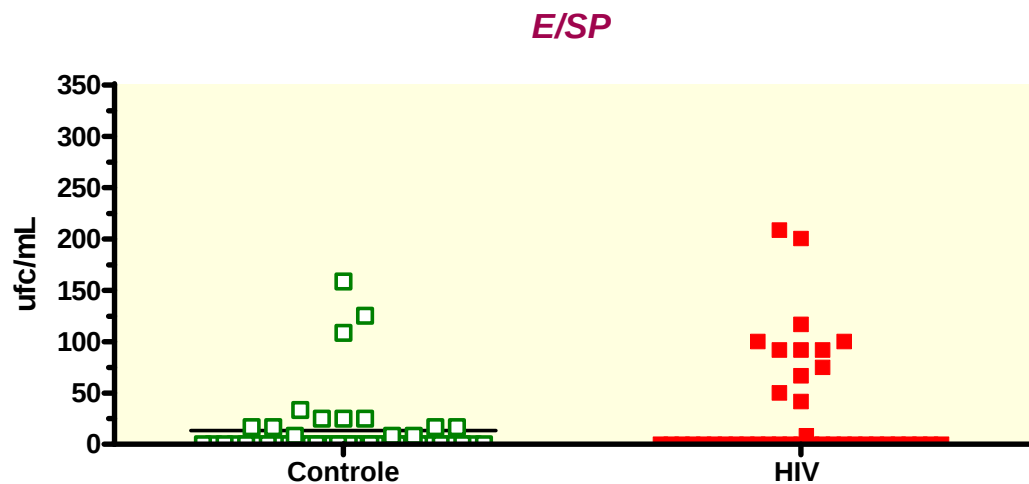
Não foi observada diferença estatisticamente entre a contagem de estafilococos (UFC/mL) obtidos na cavidade bucal dos indivíduos controle (mediana = 1300 UFC/mL e faixa interquartil = 2180 UFC/mL) e aquela observada para o grupo HIV (mediana = 1140 UFC/mL e faixa interquartil = 3110 UFC/mL; p-valor = 0,9839). Para o sítio periodontal também não houve diferença estatisticamente significativa (grupo controle com mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 12,53 UFC/mL; grupo HIV mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 91,9 UFC/mL; p-valor = 0,1008). A distribuição dos valores para cavidade bucal e sítio periodontal pode ser observada na Figura 2.

GRÁFICO A



E = *Staphylococcus* spp. CB = Cavidade bucal UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

GRÁFICO B



E = *Staphylococcus* spp. SP = Sítios Periodontais UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

FIGURA 2 – Gráficos de dispersão (*dot plot*) das contagens de microrganismos do gênero *Staphylococcus* (UFC/mL) ao redor da mediana: a) na cavidade bucal; b) nos sítios periodontais, nos grupos HIV e controle.

Foram obtidas um total de 424 amostras de estafilococos, sendo que 226 das amostras foram coletadas do grupo HIV e 198 do grupo controle. A Tabela 6 demonstra as espécies coagulase-negativas isoladas e identificadas em cada grupo. As amostras isoladas de estafilococos coagulase-positivos estão representadas pela Tabela 7. No grupo HIV, *S. aureus* foi a espécie prevalente seguida por *S. epidermidis*. No grupo controle, observou-se o inverso, em que *S. epidermidis* foi a espécie mais frequentemente isolada, seguida por *S. aureus*. O grupo HIV apresentou maior diversidade de espécies, sendo encontrada *S. simulans* e *S. chromogenes*, que não foram observadas no grupo controle. Porém o grupo de estudo não apresentou isolados de *S. lugdunensis*.

Tabela 6 – Amostras de estafilococos coagulase-negativos identificadas nos grupos HIV e controle

Espécies	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>S. epidermidis</i>	69	47	68	61,8	137	53,3
<i>S. haemolyticus</i>	14	9,5	4	3,6	18	7
<i>S. capitis</i>	10	6,8	7	6,4	17	6,6
<i>S. warneri</i>	12	8,1	3	2,7	15	5,8
<i>S. saprophyticus</i>	13	8,8	2	1,8	15	5,8
<i>S. hominis</i>	9	6,1	5	4,5	14	5,4
<i>S. xylosus</i>	7	4,7	4	3,6	11	4,2
<i>S. lugdunensis</i>	0	0	10	9	10	3,9
<i>S. sciuri</i>	2	1,3	7	6,4	9	3,5
<i>S. chromogenes</i>	6	4	0	0	6	2,3
<i>S. simulans</i>	5	3,4	0	0	5	2
Total	147	100	110	100	257	100

Tabela 7– Estafilococos coagulase-positivos identificados em ambos os grupos

Espécies	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>S. aureus</i>	73	92,4	48	54	121	72,4
<i>S. schleiferi</i>	6	7,6	40	45,9	46	27,6
Total	79	100	88	100	167	100

5.3 Enterobacteriaceae e Pseudomonaceae

Em 56 dos noventa indivíduos incluídos no estudo, foram isolados enterobactérias e pseudomonas, correspondendo a 62,2% do total. No grupo HIV estes microrganismos foram isolados a partir de 36 indivíduos (80%) e no grupo controle em apenas 20 (44,4%). A Tabela 8 representa a distribuição percentual de indivíduos positivos e negativos para enterobactérias e pseudomonas em ambos os grupos.

Tabela 8 – Distribuição percentual de indivíduos positivos e negativos para enterobactérias e pseudomonas nos grupos HIV e controle

	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
Positivos	36	80	20	44,4	56	85,5
Negativos	9	20	25	55,5	34	37,7
Total	45	100	45	100	90	100

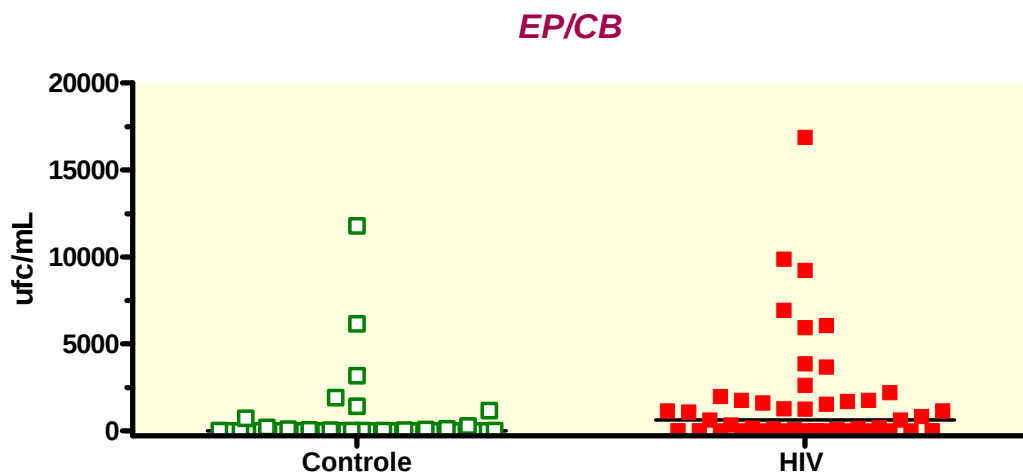
No grupo HIV, 35 pacientes (77,7%) foram positivos para enterobactérias e pseudomonas na cavidade bucal e 18 (40%) apresentaram este microrganismo no sítio periodontal. No grupo controle enterobactérias e pseudomonas foram isoladas da cavidade bucal de vinte indivíduos (44,4%) e em 3 (6,6%) nos sítios periodontais. Os números de indivíduos que apresentaram enterobactérias e pseudomonas em relação ao local de coleta podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 - Número de indivíduos que apresentaram bactérias da família Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae de acordo com o local de coleta

Local de coleta	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
Cavidade bucal	35	77,7	20	44,4	55	61,1
Sítios Periodontais	18	40	3	6,6	21	23,3

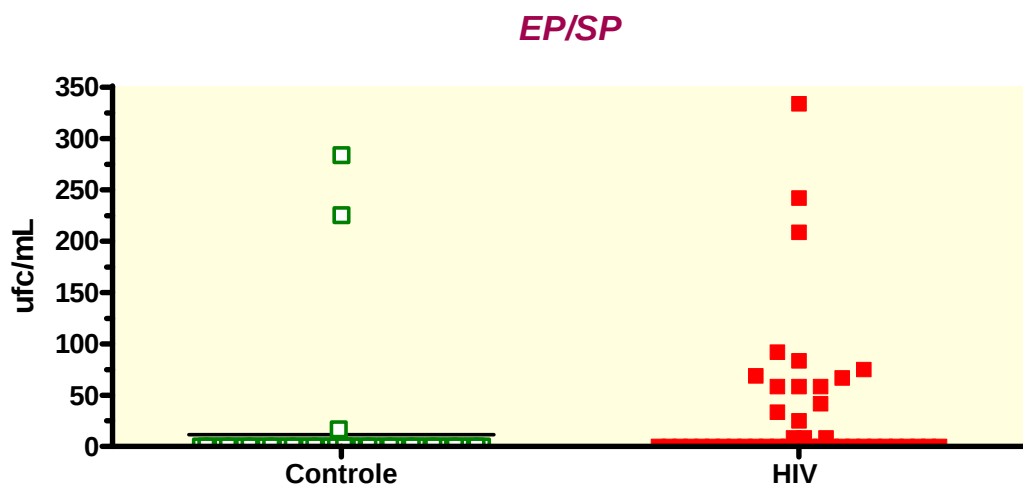
Houve diferença estatisticamente significativa entre a distribuição dos valores obtidos nas contagens da cavidade bucal dos pacientes do grupo controle (mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 90 UFC/mL) e do grupo HIV (mediana = 620 UFC/mL e faixa interquartil = 1850 UFC/mL; p-valor = 0,0001). O mesmo ocorreu para os dados do sítio periodontal (grupo controle com mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 0 UFC/mL; grupo HIV com mediana = 0 UFC/mL e faixa interquartil = 58,5 UFC/mL; p-valor = 0,0003). A distribuição dos valores para cavidade bucal e sítio periodontal pode ser observada na Figura 3.

GRÁFICO A



EP = Enterobactérias e pseudomonas CB = Cavidade Bucal Periodontais UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

GRÁFICO B



EP = Enterobactérias e pseudomonas SP = Sítios Periodontais UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

FIGURA 3 – Gráficos de dispersão (*dot plot*) das contagens de enterobactérias e pseudomonas (UFC/mL) ao redor da mediana: a) na cavidade bucal; b) nos sítios periodontais, nos grupos HIV e controle.

As espécies de enterobactérias e pseudomonas que foram isoladas e identificadas estão representadas na Tabela 10 a seguir. Num total de 176 isolados identificados, foram encontradas 26 espécies diferentes, sendo que o grupo HIV apresentou maior diversidade de espécies. A espécie prevalente da família Enterobacteriaceae foi *E. cloacae*. Considerando-se os isolados da família Pseudomonadaceae foram obtidos 21 amostras, sendo que *Chryseomonas luteola* foi a espécie prevalente em ambos os grupos.

Tabela 10 - Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae isoladas e identificadas de acordo com os grupos (continua)

Espécies	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>Enterobacter cloacae</i>	27	22,3	10	18,1	37	21
<i>Klebsiella oxytoca</i>	13	10,7	5	9	18	10,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	5,7	9	16,4	16	9
<i>Enterobacter sakazakii</i>	8	6,6	4	7,2	12	6,8
<i>Escherichia coli</i>	9	7,4	1	1,8	10	5,7
<i>Serratia marcescens</i>	8	6,6	0	0	8	4,5
<i>Pantoea</i> spp.	3	2,4	4	7,2	7	4
<i>Citrobacter freundii</i>	6	5	0	0	6	3,4
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	1,6	4	7,2	6	3,4
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	2	1,6	4	7,2	6	3,4

Tabela 10 - Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae isoladas e identificadas de acordo com os grupos (conclusão)

Espécies	HIV		Controle		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>Enterobacter asburiae</i>	4	3,3	1	1,8	5	2,8
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	1,6	2	3,6	4	2,3
<i>Serratia odorífera</i>	3	2,4	0	0	3	1,7
<i>Kluyvera</i> spp.	3	2,4	0	0	3	1,7
<i>Serratia ficaria</i>	2	1,6	1	1,8	3	1,7
<i>Salmonella</i> spp.	2	1,6	0	0	2	1,1
<i>Klebsiella terrigena</i>	1	0,8	1	1,8	2	1,1
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0,8	1	1,8	2	1,1
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	0,8	1	1,8	2	1,1
<i>Shigella</i> spp.	0	0	1	1,8	1	0,5
<i>Serratia fonticola</i>	1	0,8	0	0	1	0,5
<i>Enterobacter intermedius</i>	1	0,8	0	0	1	0,5
<i>Chryseomonas luteola</i>	10	8,2	5	9	15	8,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	1,6	1	1,8	3	1,7
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	1,6	0	0	2	1,1
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0,8	0	0	1	0,5
Total	121	100	55	100	176	100

5.4 Contagens dos microrganismos em relação as variáveis clínicas (grupo HIV)

As contagens de cada microrganismo foram avaliadas de acordo com a contagem de células T CD4+ e carga viral apresentada pelos indivíduos soropositivos para o HIV.

Os subgrupos referentes à contagem de células T CD4+ (células/mm³) foram divididos em menor que 200, de 200 a 500 e maior que 500, baseando-se no guia de uso da terapia anti-retroviral para adultos e adolescentes infectados pelo HIV (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC³⁷, 1998; PATTON & HILL¹⁷¹, 2000; CDC³⁸, 2002; CDC³⁹, 2005).

Na Tabela 11 estão representados os valores obtidos pela análise descritiva dos dados para as contagens de microrganismos (UFC/mL) na cavidade bucal de acordo com os subgrupos. A análise estatística demonstrou que as contagens de estafilococos e leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal se distribuíram igualmente entre os subgrupos, porém as contagens de enterobactérias e pseudomonas no subgrupo menor que 200 foram significativamente menores em relação às contagens apresentadas nos subgrupos 200 a 500 e maior que 500, sendo que estas não apresentaram diferença estatística entre si.

Tabela 11 – Análise descritiva dos dados para as contagens de microrganismos (UFC/mL) da cavidade bucal de acordo com a contagem de células T CD4+ (células/mm³)

	Mediana			Faixa interquartil			Teste KW	p
	<200	200-500	>500	<200	200-500	>500		
C	1060	920	710	5692	2639	3795	0,5648	0,754
E	1240	670	1110	2360	5400	1890	0,1463	0,929
EP	20	1340	1200	620	6060	2750	9,064	0,011

C = *Candida* spp. E = estafilococos EP = enterobactérias e pseudomonas Teste KW - Kruskal-Wallis

Nos sítios periodontais verificou-se que as contagens de todos microrganismos analisados distribuíram-se igualmente (Tabela 12).

Tabela 12 – Tabela descritiva dos dados obtidos pela análise estatística para os sítios periodontais de acordo com a contagem de células T CD4+ (células/mm³)

	Mediana			Faixa interquartil			Teste KW	p
	<200	200-500	>500	<200	200-500	>500		
C	0	0	0	209	85,60	79,30	1,6822	0,431
E	8,35	0	0	209	66,80	91,90	2,0592	0,357
EP	0	0	0	8,35	58,5	71,00	0,9432	0,624

C = *Candida* spp. E = estafilococos EP = enterobactérias e pseudomonas Teste KW - Kruskal-Wallis

A Figura 4 demonstra as dispersões dos valores de UFC/mL de cada microrganismo na cavidade bucal ao redor da mediana, em relação a cada subgrupo de células T CD4+ (células/mm³) correspondente.

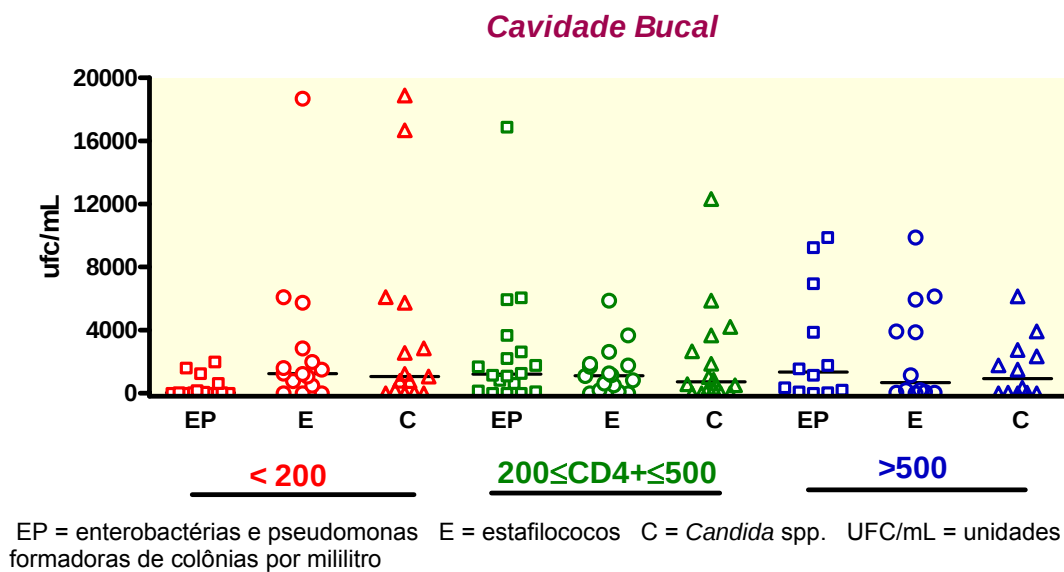
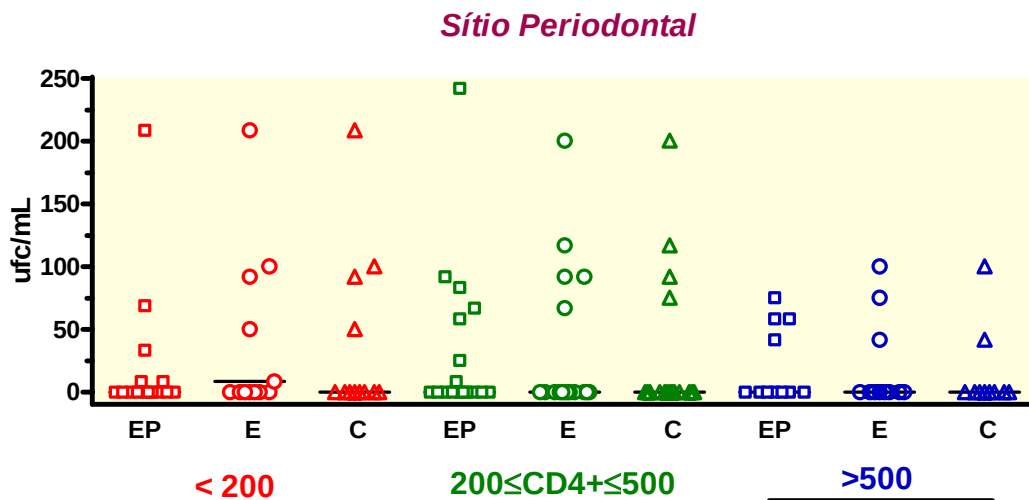


FIGURA 4 – Gráfico de dispersão numa coluna (*dot plot*) dos valores de UFC/mL dos microrganismos da cavidade bucal ao redor da mediana, nos subgrupos de células T CD4+ (células/mm³)

A Figura 5 demonstra as dispersões dos valores de UFC/mL de cada microrganismo nos sítios periodontais ao redor da mediana, em relação a cada subgrupo de células T CD4+ (células/mm³) correspondente.



EP = enterobactérias e pseudomonas

E = estafilococos

C = *Candida* spp.

FIGURA 5 – Gráfico de dispersão numa coluna (*dot plot*) dos valores de UFC/mL dos microrganismos nos sítios periodontais ao redor da mediana, nos subgrupos de células T CD4+ (células/mm³)

Os pacientes soropositivos foram divididos de acordo com a carga viral em três subgrupos, sendo eles: menor 400, 400 a 20.000 e maior que 20.000 cópias/mL de soro (CDC, 1998; CDC, 2002). A Tabela a seguir, demonstra os valores obtidos pela análise descritiva dos dados para as contagens de microrganismos na cavidade bucal de acordo com os subgrupos.

Verificou-se que as contagens para estafilococos, assim como para leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal não se distribuíram igualmente entre os subgrupos da carga viral, apresentando contagens significativamente menores nos pacientes com carga viral menor que 400 cópias/mL. As contagens de enterobactérias e pseudomonas na cavidade bucal distribuíram-se igualmente entre os subgrupos (Tabela 13).

Tabela 13 – Análise descritiva dos dados para as contagens de microrganismos (UFC/mL) da cavidade bucal de acordo com os subgrupos referentes à carga viral (cópias/mL)

	Mediana			Faixa interquartil			Teste KW	p
	<400	400-20.000	>20.000	<400	400-20.000	>20.000		
C	34,000	1490,0	2340,0	1770,0	5130	5160	7,5425	0,0230
E	200,00	1420,0	1840,0	1135	3685	6850	12,2846	0,021
EP	170,00	1030,0	1540,0	1140,0	1740	4790	2,1471	0,3418

C = *Candida* spp. E = estafilococos EP = enterobactérias e pseudomonas Teste KW = Kruskal-Wallis

Não houve diferença estatisticamente significativa nas contagens de microrganismos (UFC/mL) nos sítios periodontais entre os subgrupos referentes à carga viral (cópias/mL), como pode ser observado na Tabela 14.

Tabela 14 – Tabela descritiva dos dados para as contagens de microrganismos (UFC/mL) dos sítios periodontais de acordo com os subgrupos referentes à carga viral (cópias/mL)

	Mediana			Faixa interquartil			Teste KW	p
	<400	400-20.000	>20.000	<400	400-20.000	>20.000		
C	0	0	41,750	0	181,61	638,78	4,4744	0,1068
E	0	0	75,150	50,100	87,675	638,78	4,8060	0,0904
EP	0	0	0	54,275	45,925	66,800	0,3646	0,8334

C = *Candida* spp. E = estafilococos EP = enterobactérias e pseudomonas Teste KW = Kruskal-Wallis

A Figura 6 a seguir, demonstra a dispersão dos valores das contagens de cada microrganismo (UFC/mL) na cavidade bucal e sítios periodontais ao redor da mediana, em relação a cada subgrupo da carga viral.

GRÁFICO A

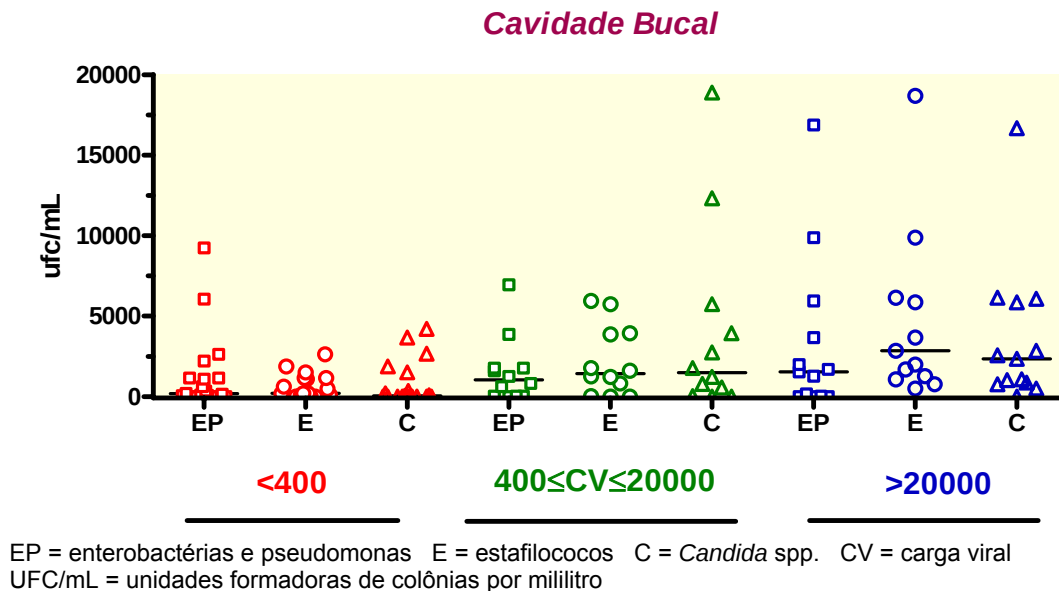


GRÁFICO B

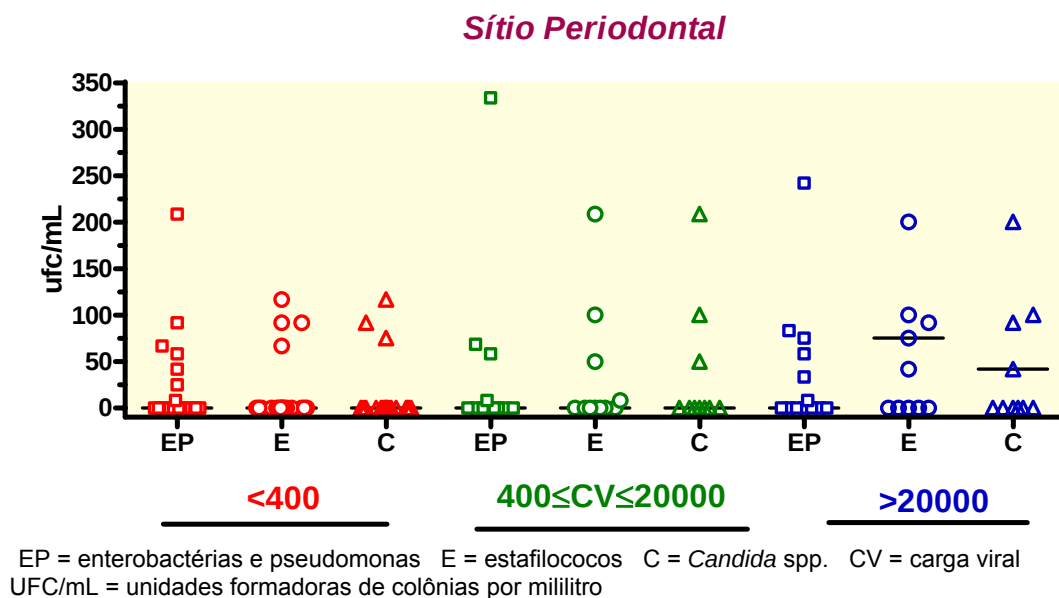


FIGURA 6 – Gráficos de dispersão numa coluna (*dot plot*) dos valores de UFC/mL dos microrganismos ao redor da mediana: a) na cavidade bucal; b) dos sítios periodontais, nos subgrupos da carga viral (cópias/mL)

5.5 Contagens dos microrganismos em relação aos pacientes não fumantes e fumantes do grupo HIV

As contagens dos microrganismos do gênero *Candida*, *Staphylococcus* e as enterobactérias e pseudomonas foram analisadas entre os pacientes soropositivos para o HIV não fumantes e fumantes. Dos 45 pacientes HIV positivos incluídos neste estudo, 25 eram não fumantes e vinte fumantes.

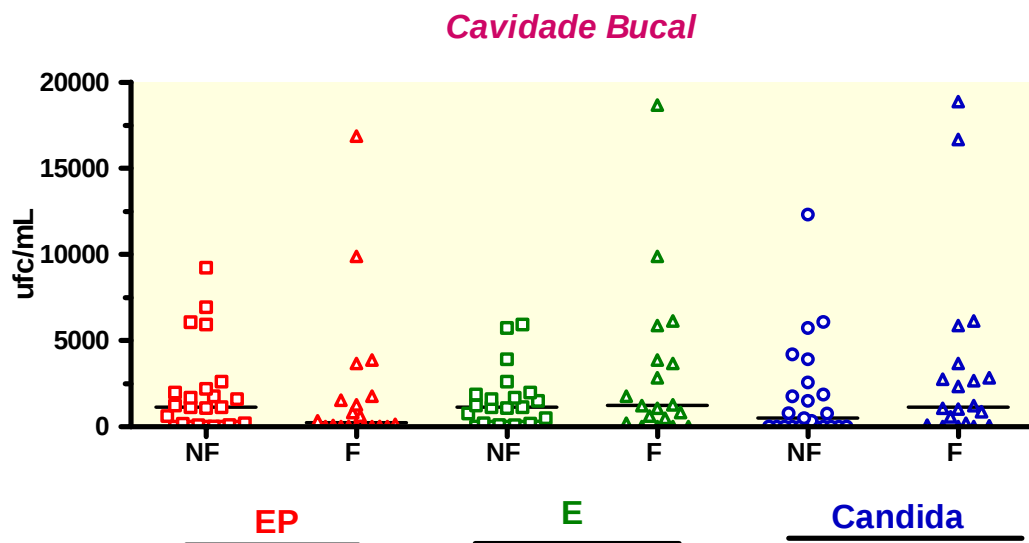
Na Tabela 15 estão representados os valores obtidos pela análise descritiva dos dados para as contagens de microrganismos na cavidade bucal nos pacientes não fumantes e fumantes.

Tabela 15 – Análise descritiva dos dados para as contagens de microrganismos (UFC/mL) de pacientes não fumantes e fumantes na cavidade bucal

	Mediana		Faixa Interquantil		p
	NF	F	NF	F	
C	500	1140	3240	3345	0,1966
E	1300	1240	1830	5090	0,4365
EP	1140	240	2040	1700	0,4147

C = *Candida* spp. E = estafilococos EP = enterobactérias e pseudomonas
NF = pacientes não fumantes F = pacientes fumantes

O teste estatístico demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa para nenhum dos microrganismos analisados entre o grupo fumante e não fumante, para a cavidade bucal. A Figura 7 representa a dispersão dos valores de UFC/mL dos microrganismos referente aos 25 pacientes não fumantes e aos vinte fumantes, para cavidade bucal.



EP = enterobactérias e pseudomonas E = estafilococos C = *Candida* spp. NF = pacientes não fumantes F = pacientes fumantes UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

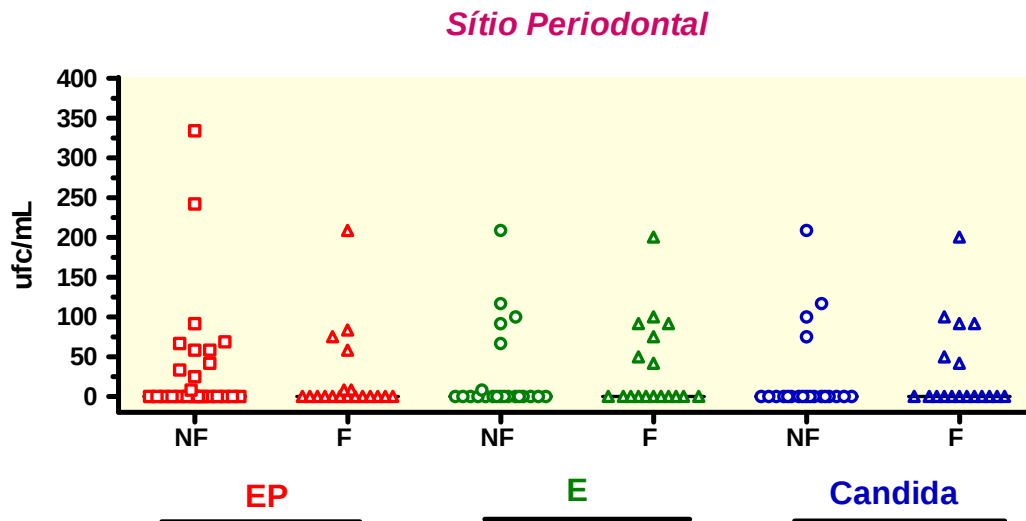
FIGURA 7 – Gráfico de dispersão (*dot plot*) dos valores de UFC/mL de cada microrganismo ao redor da mediana, na cavidade bucal dos pacientes não fumantes e fumantes HIV positivos

Nos sítios periodontais não houve diferença na distribuição dos microrganismos entre pacientes não fumantes e fumantes, como pode ser observado pelos valores na Tabela 16 e Figura 8 apresentados.

Tabela 16 – Análise descritiva dos dados para as contagens de microrganismos (UFC/mL) de pacientes não fumantes e fumantes nos sítios periodontais

	Mediana		Faixa Interquantil		p
	NF	F	NF	F	
C	0	0	109	91,9	0,8518
E	0	0	96	91,9	0,6798
EP	0	0	58,5	45,9	0,6331

C = *Candida* spp. E = estafilococos EP = enterobactérias e pseudomonas
 NF = pacientes não fumantes F = pacientes fumantes



EP = enterobactérias e pseudomonas E = estafilococos C = *Candida* spp. NF = pacientes não fumantes F = pacientes fumantes UFC/mL = unidades formadoras de colônias por mililitro

6 DISCUSSÃO

A cavidade bucal é o primeiro segmento do trato digestivo e é composta por inúmeras estruturas diferentes, como os dentes, sulcos gengivais, mucosas e a língua, que apresentam características físicas, químicas e nutricionais diferentes, que podem predispor a eliminação ou colonização de tipos específicos microrganismos (AAS et al.¹, 2005; HÄGG et al.⁷⁹, 2004; PRIETO-PRIETO & CALVO¹⁷⁸, 2004). Além disso, muitos fatores, intrínsecos e extrínsecos, têm efeito sobre a composição, atividade metabólica e patogenicidade da diversificada microbiota bucal. Portanto, a cavidade bucal representa um ecossistema complexo e heterogêneo, sendo habitada por mais de setecentas espécies de microrganismos, aeróbios e anaeróbios, que colonizam os diferentes nichos bucais (AAS et al.¹, 2005; SMITH et al.²¹⁰, 2001; SENPUKU et al.²⁰², 2003; HÄGG et al.⁷⁹, 2004; PRIETO-PRIETO & CALVO¹⁷⁸, 2004). Dentre os fatores que podem alterar a microbiota bucal residente, a imunossupressão é relatada na literatura. Esta alteração na microbiota comensal pode causar um aumento do número de microrganismos residentes potencialmente patogênicos ou patógenos oportunistas, ocasionando uma superinfecção (JOBBINS et al.⁹⁹, 1992; DAHLÉN & WIKSTRÖM⁴⁹, 1995; VAN WINKELHOFF et al.²³², 1996). Enterobactérias, pseudomonas, estafilococos e leveduras são considerados microrganismos potencialmente superinfectantes e apresentam fatores de virulência importantes, portanto, reservatórios bucais destes microrganismos podem causar patologias e infecções sistêmicas, especialmente em pacientes debilitados ou imunossuprimidos (JOBBINS et al.⁹⁹, 1992; DAHLÉN⁴⁸, 1993).

O grupo de estudo do presente estudo incluiu 45 pacientes HIV positivos, sendo 48,8% do gênero masculino e 51,1% do gênero feminino. Embora alguns estudos não demonstrem associação da presença dos microrganismos estudados em relação ao gênero (SANTOS & JORGE¹⁹⁶, 1998; NITTAYANANTA et al.¹⁵⁶, 2001; CAMPISI et al.³³, 2002), procurou-se formar um grupo equilibrado, a fim de evitar possíveis variáveis a este respeito. Com este mesmo propósito, objetivou-se selecionar indivíduos controle pareados aos pacientes HIV positivos, ou seja, com perfil semelhante quanto a idade, gênero e condições bucais (presença ou não de prótese ou aparelho ortodôntico e que não apresentavam lesões sugestivas de candidose).

A padronização da terapia anti-retroviral nos critérios de inclusão/exclusão não foi possível, considerando que a terapia indicada para os pacientes HIV é constituída por uma combinação variável de medicamentos (“coquetel”). Esta combinação é estabelecida de acordo com o caso clínico e é modificada conforme a evolução do quadro geral do paciente. Portanto, a terapia anti-retroviral baseia-se na manutenção do nível de células T CD4+ e controle da carga viral, além de outras variáveis clínicas, como a manifestação de doenças oportunistas e efeitos colaterais dos fármacos, como descreve as Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV 2004 (BRASIL²⁹, 2003).

Muitos estudos relataram a presença de *Candida* spp., *Staphylococcus* spp. e algumas enterobactérias na microbiota subgengival de pacientes HIV positivos com periodontite crônica e pesquisaram o papel destes microrganismos nas lesões periodontais destes pacientes (RAMS et al.¹⁸³, 1991; MOORE et al.¹⁴³, 1993; CHATTIN et al.⁴¹, 1999; ZAMBON et al.²⁴⁸, 1990; VILLAÇA & MACHADO²³⁶, 2004; GONÇALVES et al.⁷¹, 2004; GONÇALVES⁶⁹, 2005; GONÇALVES et al.⁷², 2005). Inicialmente, era objetivo do estudo avaliar a condição periodontal dos pacientes HIV positivos para verificar a existência de correlação da

presença destes microrganismos com a condição periodontal, no entanto não foi possível obter condições apropriadas para o exame periodontal.

A prevalência de candidose bucal em pacientes HIV positivos parece estar relacionada com a severidade da disfunção imunológica; segundo a literatura, a candidose bucal ocorre em mais de 95% dos pacientes com AIDS durante a evolução da doença (LIN et al.¹²⁵, 2001; NITTAYANANTA et al.¹⁵⁶, 2001; AL-ABEID et al.⁵, 2004). De acordo com os relatos dos pacientes avaliados, 20% apresentaram história prévia de candidose bucal e 15,5% relataram ardência bucal, porém não apresentavam lesões sugestivas de candidose no momento da coleta.

Inúmeros estudos reportaram a maior frequência de isolamento de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de pacientes HIV positivos em relação a indivíduos controle (CAPOLUONGO et al.³⁵, 2000; FIGUEIRÊDO et al.⁶⁰, 2001; NITTAYANANTA et al.¹⁵⁶, 2001; BARCHIESI et al.¹², 2002; CAMPISI et al.³³, 2002; SÁNCHEZ-VARGAS et al.¹⁹²⁻³, 2005). Os resultados deste estudo confirmam estes relatos, uma vez que houve maior isolamento de leveduras deste gênero no grupo de estudo. A comparação entre a frequência de isolamento de *Candida* spp. do presente estudo e estudos anteriores torna-se bastante complicada já que os dados da literatura são bastante variáveis. Esta grande variabilidade é relacionada a diversos fatores, como localização geográfica, critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos do grupo de estudo e, principalmente, pelos métodos de coleta das amostras empregados (NITTAYANANTA et al.¹⁵⁶, 2001; TSANG & SAMARANAYAKE²²⁸, 2000).

Em nosso estudo, os pacientes soropositivos para o HIV não utilizaram antifúngicos (tópico ou sistêmico) nos dois meses que antecederam a coleta. As amostras da cavidade bucal foram obtidas através de enxágüe bucal, técnica descrita por Samaranayake et al.¹⁹⁰ (1986) como sendo a mais sensível para se detectar a presença de leveduras, *Staphylococcus aureus* e coliformes.

Campisi et al.³³ (2002), com grupo de estudo e método de coleta semelhantes aos utilizados no presente estudo, relataram 61,9% de isolamento de espécies de *Candida* em pacientes adultos HIV positivos, valor menor ao encontrado neste estudo (73,3%). Sánchez-Vargas et al.¹⁹³ (2005), encontraram um valor de isolamento mais próximo (74,5%), porém a coleta foi realizada com auxílio de *swabs*.

Para as amostras dos sítios periodontais, foi utilizada a técnica do cone de papel de acordo com o proposto por Hartroth et al.⁸². (1999) para diagnóstico microbiológico periodontal. Jabra-Rizk et al.⁹³. (2001) obtiveram maior prevalência de isolados nos sítios subgengivais de pacientes HIV positivos que apresentavam leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal (66%) em relação ao observado no presente estudo (35,5%). Esta maior frequência pode estar relacionada ao fato de que todos os pacientes HIV positivos incluídos no referido estudo apresentavam no mínimo um sítio com doença periodontal. Patel et al.¹⁶⁹ (2003) relataram que alterações na imunidade celular e a produção de uma variedade de metabólitos podem influenciar o estabelecimento e proliferação de patógenos não relacionados à doença periodontal no biofilme de bolsas periodontais de pacientes HIV positivos. Gonçalves et al.⁷¹ (2004) sugeriram que a severa imunossupressão parece contribuir para a colonização por periodontopatógenos, assim como por espécies não frequentemente encontradas na microbiota subgengival. Portela et al.¹⁷⁶ (2004) relataram 42,3% de isolamento de espécies do gênero *Candida* no sulco gengival, porém o grupo de estudo foi composto por crianças HIV positivas.

O grupo controle apresentou 46,6% de frequência de isolamento de leveduras na cavidade bucal, que corresponde aos valores citados na literatura para indivíduos saudáveis (25 a 75%) (MARTINS et al.¹³⁴, 2002; SÁNCHEZ-VARGAS et al.¹⁹²⁻³, 2005; KOGA-ITO et al.¹¹¹, 2006). Considerando-se os sítios periodontais, observou-se também um percentual menor de isolamento (11,1%) neste grupo. A

imunossupressão, citada na literatura como fator predisponente do hospedeiro à ocorrência de infecções fúngicas por leveduras (JOBINS et al.⁹⁹, 1992; LIN et al.¹²⁵, 2001; NITTAYANANTA et al.¹⁵⁶, 2001; RIBEIRO¹⁸⁵, 2003; AL-ABEID et al.⁵, 2004), pode estar associada com o aumento na prevalência deste microrganismo na cavidade bucal dos pacientes HIV positivos, e até mesmo possibilitar a sobrevivência deste no ambiente subgingival (GONÇALVES⁷⁰, 2005).

A associação entre as variáveis clínicas apresentadas pelos pacientes HIV e a presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal dos mesmos, também tem sido abordada, sendo que os resultados relatados são bastante controversos. Este fato deve-se em parte pelos fatores citados anteriormente e também pela ausência de padronização referente às contagens de CD4+ e à carga viral. Em nosso estudo, não houve associação entre as contagens de leveduras do gênero *Candida* com as contagens de células CD4+ dos pacientes avaliados, o que está de acordo com os estudos de Campisi et al.³³ (2002), Barchiesi et al.¹² (2002) e Sánchez-Vargas¹⁹²⁻³ (2005). Quanto à carga viral, observamos contagens significativamente menores na cavidade bucal nos pacientes com menor carga viral (< 400 cópias/mL).

Todos os pacientes incluídos neste estudo estavam sob tratamento, sendo 43% estavam sob terapia anti-retroviral altamente ativo (HAART). Na literatura, relata-se que com o emprego desta forma de terapia, as manifestações bucais têm diminuído, uma vez que esta promove inibição da replicação viral, redistribuição e restauração da imunidade, resultando em um aumento no número de células CD4+. Além disso, fármacos inibidores de protease parecem apresentar atividade anti-*Candida*, pois podem inibir as proteinases destes fungos (TAPPUNI & FLEMING²²⁴, 2001; RYDER¹⁸⁸, 2002; SAMARANAYAKE et al.¹⁹¹, 2002; GONÇALVES et al.⁷², 2005; PEREZOUS et al.¹⁷², 2005). Em nosso grupo de estudo, 42,2% dos pacientes utilizavam fármacos inibidores de protease. Contudo, Campisi et al.³³. (2002), Barchiesi et al.¹². (2002), e

Sánchez-Vargas et al.¹⁹²⁻³ (2005) não encontraram associação entre as contagens de leveduras e a terapia anti-retroviral empregada.

O fumo é citado na literatura com um dos fatores predisponentes locais para colonização por *Candida* na cavidade bucal (PALACIO et al.¹⁶⁶, 1997; SOYSA & ELLEPOLA²¹⁶, 2005), portanto, julgou-se necessário avaliar se havia diferença quanto às contagens de leveduras entre pacientes não fumantes e fumantes do nosso grupo de estudo. No presente estudo, não foram observadas diferenças na distribuição dos microrganismos entre pacientes não fumantes e fumantes. Estes resultados estão de acordo com relatos de Nittayananta et al.¹⁵⁶ (2001) e Campisi et al.³³ (2002).

A identificação dos isolados de *Candida* spp. foi realizada através de provas fenotípicas segundo Sandvén¹⁹⁴ (1990) e Willians & Lewis²⁴³ (2000). A literatura cita *C. albicans* como a espécie prevalente dos isolados no grupo HIV (CAPOLUONGO et al.³⁵, 2000; FIGUEIRÊDO et al.⁶⁰, 2000; BARCHIESI et al.¹², 2002; CAMPISI et al.³³, 2002; BLIGNAUT et al.¹⁸, 2002; SANT'ANA et al.¹⁹⁵, 2002; COSTA et al.⁴⁷, 2003; LI et al.¹²⁴, 2006), o que está em concordância com nossos achados (72,7%). Porém, em nosso estudo, como foram realizadas apenas provas fenotípicas, devemos relatar a prevalência de amostras sugestivas de *C. albicans*, pois para correta diferenciação entre os isolados de *C. albicans* e *C. dubliniensis* seria necessária a identificação genotípica destas amostras (SUDBERY et al.²¹⁸, 2004, CAMPANHA et al.³², 2005; SULLIVAN et al.²²⁰, 2005). Como existem relatos sobre o isolamento de *C. dubliniensis* em pacientes HIV positivos no Brasil (PORTELA et al.¹⁷⁶, 2004; CHAVASCO et al.⁴², 2006), será de grande importância dar continuidade a identificação destas amostras, para verificar a porcentagem de *C. dubliniensis* dentre os isolados sugestivos de *C. albicans*.

As espécies não-*albicans* mais isoladas foram *C. tropicalis* e *C. glabrata*, como também observado por Sant' Ana et al.¹⁹⁵

(2002). Embora a prevalência de espécies não-*albicans* tenham representado apenas 27,3% das espécies de *Candida* isoladas no grupo HIV, este percentual mostrou-se maior do que o obtido no grupo controle (18,5% não-*albicans*), além de apresentar maior diversidade das espécies isoladas. Dado importante, uma vez que as candidemias provocadas por *C. albicans* de modo geral possuem melhor prognóstico em relação às espécies não-*albicans* (BODEY et al.¹⁹, 2002). Blignaut et al.¹⁸ (2002) obtiveram resultado oposto, no qual através da coleta por *swabs* do dorso da língua de pacientes HIV positivos e indivíduos saudáveis, verificou maior diversidade de espécies no grupo controle.

O isolamento de espécies não-*albicans* em pacientes HIV pode estar relacionado à terapia antifúngica prévia, já que antifúngicos utilizados para suprimir candidoses em pacientes HIV positivos podem selecionar estes microrganismos, uma vez que são menos sensíveis aos antifúngicos (azóis) (COLEMAN et al.⁴⁴, 1997; MEEÛS et al.¹³⁸, 2002; SANT'ANA et al.¹⁹⁵, 2002). Estes resultados são importantes, visto que os relatos sobre infecções ocasionadas por espécies não-*albicans* têm aumentado significativamente nos últimos anos (HAZEN⁸⁴, 1995; GILFILLAN et al.⁶⁷, 1998; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; EGGIMANN et al.⁵⁶ 2003; AL-ABEID et al.⁵, 2004; LAUPLAND et al.¹²³, 2005).

Eggimann et al.⁵⁶ (2003) correlacionam as principais espécies do gênero *Candida* com as patologias humanas ocasionadas e verificaram: a) *C. albicans* mais correlacionada com infecções orofaríngeas, vaginites, esofagites, pielonefrites, peritonites, candidemia e meningites; b) *C. parapsilosis* mais frequentemente em infecções profundas relacionadas a objetos implantados ou a soluções contaminadas; c) *C. tropicalis* relacionada à candidoses sistêmicas em pacientes imunossuprimidos; d) *C. dubliniensis* com infecções orofaríngeas em pacientes HIV positivos e, e) *C. lipolytica* com candidemia associada a cateteres implantados.

Poucos estudos descreveram a cavidade bucal como possível reservatório de *Staphylococcus aureus* e estafilococos coagulase-negativos. Um dos maiores problemas envolvendo estes microrganismos, coagulase-positivos e coagulase-negativos, tem sido o crescente aumento de cepas resistentes a meticilina, vancomicina e a outros antibióticos, em infecções na comunidade e em ambiente hospitalar (MARSOU et al.¹³³, 1999; PADOVEZE et al.¹⁶⁵, 2001; EADY & COVE⁵⁴, 2003; GÖTZ⁷³, 2004; NUNES et al.¹⁵⁸, 2006). Portanto, reservatórios bucais destes microrganismos em pacientes imunossuprimidos são focos potenciais para infecções. O enfoque dos trabalhos sobre estafilococos tem sido a presença destes microrganismos na cavidade bucal de crianças, idosos, adultos sistemicamente saudáveis ou com periodontite crônica e em alguns grupos com patologias sistêmicas em fase terminal (JOBBINS et al.⁹⁹, 1992; JACOBSON et al.⁹⁶, 1997; SUZUKI et al.²²³ 1997; JACKSON et al.⁹⁴, 1999; MARTINS et al.¹³⁴, 2002; JACKSON et al.⁹⁵, 2000; SENPUKU et al.²⁰², 2003; LOBERTO et al.¹²⁶, 2004; MONROY et al.¹⁴², 2005). Alguns estudos entretanto, relacionando pacientes HIV e estafilococos no biofilme subgingival existem na literatura (MOORE et al.¹⁴³, 1993; CHATTIN et al.⁴¹, 1999; ZAMBON et al.²⁴⁸, 1990; VILLAÇA & MACHADO²³⁶, 2004; GONÇALVES et al.⁷¹, 2004; GONÇALVES⁶⁹, 2005; GONÇALVES et al.⁷², 2005).

No presente estudo, estafilococos foram isolados a partir de 86,6% dos indivíduos do grupo controle e em 84,4% do pacientes soropositivos para o HIV. Jobbins et al.⁹⁹ (1992) isolaram estafilococos em 28% dos pacientes com neoplasias malignas avaliados. Jackson et al.⁹⁴ (1999) isolaram *Staphylococcus* spp. em 94% dos indivíduos controle e 96% dos pacientes com artrite reumatóide. Jackson et al.⁹⁵ (2000) também observaram maior frequência de isolamento na cavidade bucal de crianças saudáveis (92%) em relação às crianças com neoplasia (42%). Martins et al.¹³⁴ (2002) descreveram alta frequência de isolamento na cavidade bucal de adultos saudáveis (95,6%). Estes resultados

relatados na literatura e os obtidos neste estudo confirmam a conclusão de Smith et al.²¹⁰ (2001) que concluíram que as espécies de estafilococos podem ser freqüentemente isoladas da cavidade bucal de crianças ou adultos, saudáveis ou com patologias. Devido aos altos valores de isolamento relatados, Jacksons et al.⁹⁴ (1999) e Jacksons et al.⁹⁵ (2000) têm considerado que os estafilococos fazem parte da microbiota bucal normal. Porém o isolamento de *Staphylococcus* spp. deve ser considerado importante, principalmente nos pacientes imunossuprimidos, pois a literatura relata que espécies de *Staphylococcus* presentes na cavidade bucal apresentam potencial de disseminação, podendo ocasionar infecção local ou sistêmica (SLOTS et al.²⁰⁸ 1988; SLOTS et al.²⁰⁵ 1990, JACKSON et al.⁹⁵, 2000; SMITH et al.²¹⁰, 2001).

Nos sítios periodontais observou-se isolamento similar de estafilococos no grupo HIV (40%) e grupo controle (31,1%). O estudo de Zambon et al.²⁴⁸ (1990) sobre a microbiota subgengival de pacientes HIV positivos descreveu o isolamento de estafilococos em 8,7% dos pacientes avaliados. Os autores relataram que a perda de inserção periodontal pode apresentar correlação positiva com o aumento do número de estafilococos no biofilme supragengival em pacientes imunossuprimidos.

A partir dos isolados de cocos Gram-positivos obtidos, a identificação foi realizada de acordo com Forbes et al.⁶³ (1998), Oplustil et al.¹⁶⁴ (2000) e Koneman et al.¹¹⁵ (2001), sendo que a primeira prova efetuada foi a prova da catalase, para diferenciar estafilococos, que produzem a enzima catalase, de estreptococos que não a produzem (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001). A seguir, através da prova da coagulase, os estafilococos foram divididos em coagulase-positivos e coagulase-negativos, para que fosse possível prosseguir com as demais provas de identificação. Os estafilococos coagulase-positivos foram identificados por meio das provas de D-trealose e Voges-Proskauer e os estafilococos coagulase-negativos através do sistema API Staph (Bio-Merieux, França)

(FORBES et al.⁶³ 1998; OPLUSTIL et al.¹⁶⁴ 2000; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001).

Em relação às espécies identificadas, os grupos apresentaram espécies e porcentagens de isolamento variadas. *S. epidermidis* foi a espécie prevalente dentre as amostras coagulase-negativas e *S. aureus* foi a espécie coagulase-positiva mais freqüentemente isolada, em ambos os grupos. O isolamento destas espécies na cavidade bucal e em sítios periodontais tem sido relatados na literatura (ZAMBON et al.²⁴⁸, 1990; JACKSONS et al.⁹⁴, 1999; JACKSONS et al.⁹⁵, 2000, MARTINS et al.¹³⁴, 2002; SMITH et al.²¹¹⁻², 2003; LOBERTO et al.¹²⁶, 2004). O grupo HIV apresentou maior diversidade de espécies coagulase-negativas, como *S. warneri*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. xylosum*, *S. saprophyticus* e *S. hominis*, também descritas em outros estudos (RAMS et al.¹⁸², 1990; DÁHLEN & WIKSTROM⁴⁹, 1995; JACKSONS et al.⁹⁴, 1999; JACKSONS et al.⁹⁵, 2000; SMITH et al.²¹¹⁻², 2003; LOBERTO et al.¹²⁶, 2004; MURDOCH et al.¹⁴⁶, 2005). Nos dados do presente estudo, encontrou-se as espécies *S. sciuri*, *S. simulans* e *S. chromogenes*, não encontradas nos isolados bucais da literatura pesquisada. Algumas destas espécies, embora tenham apresentado baixa freqüência de isolamento, podem ocasionar infecções em humanos, como infecções urinárias, bacteriemia, endocardite, osteomielite, celulite, empiema cerebral, etc. (MARSOU et al.¹³³, 1999; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; CONE et al.⁴⁵, 2005;). As espécies *S. simulans* e *S. chromogenes* estão relacionadas a infecções em eqüinos e bovinos (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; BJORLAND et al.¹⁶, 2003). *S. lugdunensis*, espécie isolada somente no grupo controle, tem sido relacionada com infecções cardíacas humanas (SEIFERT et al.²⁰¹, 2005; ANGUERA et al.⁶, 2006).

No presente estudo, não foram observadas diferenças estatísticas entre os pacientes não fumantes e fumantes quanto as contagens (UFC/mL) obtidas para estafilococos na cavidade bucal e nos sítios periodontais, apesar de relatos anteriores sobre a associação entre

o fumo e várias modificações na cavidade bucal, como alterações na saliva, bactérias e fungos comensais da microbiota bucal, células epiteliais bucais e na resposta sistêmica e local do hospedeiro (KAMMA et al.¹⁰⁴, 1999; EDWARDSON et al.⁵⁵, 1999; SOYSA & ELLEPOLA²¹⁶, 2005; ARREDONDO et al.¹⁰, 2005). Também não houve associação com a contagem de células CD4+. Quanto à carga viral, observou-se contagens menores destes microrganismos no subgrupo que apresentava menor carga viral (< 400 cópias/mL). Não foram observados na literatura estudos anteriores que permitam confrontar estes resultados.

Enterobactérias e/ou pseudomonas foram identificadas na cavidade bucal de 77,7% do grupo HIV e em 40% nos sítios periodontais. O grupo controle apresentou menor frequência de isolamento em ambos os locais de coleta (44,4% na cavidade bucal e 6,6% nos sítios periodontais). O aumento na prevalência destes microrganismos na cavidade bucal parece estar associado a fatores sistêmicos e locais, porém as porcentagens de isolamento relatadas na literatura em diferentes grupos, fazem com que este assunto permaneça controverso. Jobbins et al.⁹⁹ (1992) relataram isolamento de coliformes em 49% dos pacientes com neoplasia maligna. Öhman et al.¹⁶³ (1995) e Pannuti et al.¹⁶⁷ (2001), relataram pequena prevalência destes microrganismos em pacientes idosos e deficientes mentais, respectivamente. Senpuku et al.²⁰² (2003) encontraram enterobactérias em 16% dos idosos avaliados e em 6% dos indivíduos controle e pseudomonas em 14% no grupo de estudo e 6% nos indivíduos saudáveis. Prevalência maior de enterobactérias e/ou pseudomonas na cavidade bucal foi observada por Santos & Jorge¹⁹⁶ (1998) em indivíduos brasileiros saudáveis (51%). Hägg et al.⁷⁹ (2004) relataram aumento significativo da prevalência de enterobactérias após a inserção do aparelho fixo nos pacientes avaliados.

Após a identificação das amostras, considerando separadamente as espécies de cada família, observou-se que do total de amostras do grupo HIV, 86,8% corresponderam a espécies da família

Enterobacteriaceae e no grupo controle, 88,5%. Portanto, em ambos os grupos, observou-se baixa prevalência de espécies da família Pseudomonadaceae. Outros estudos com pacientes HIV positivos encontraram baixa prevalência de enterobactérias e/ou pseudomonas na cavidade bucal. Schmidt-Westhausen et al.¹⁹⁸ (1991) obtiveram a prevalência de 22% de isolamento de enterobactérias. Figueirêdo et al.⁶⁰ (2001) encontrou 96,4% de espécies da família Enterobacteriaceae em seus isolados, sendo *P. aeruginosa* (3,6%) a única pseudomonas identificada. Tsang & Samaranayake²²⁸ relataram 26,3% de isolamento de enterobactérias e 15,1% de *P. aeruginosa*. Os isolados destes microrganismos em bolsas periodontais de pacientes HIV têm sido descritos como patógenos atípicos, que normalmente não estão relacionados à doença periodontal, mas que podem contribuir com a severidade da doença apresentada, em alguns pacientes soropositivos (MOORE et al.¹⁴³, 1993; CHATTIN et al.⁴¹, 1999; ZAMBON et al.²⁴⁸, 1990; VILLAÇA & MACHADO²³⁶, 2004; GONÇALVES et al.⁷¹, 2004; GONÇALVES⁶⁹, 2005; GONÇALVES et al.⁷², 2005).

O ágar MacConkey foi utilizado para o isolamento das bactérias Gram-negativas por se tratar de um meio de isolamento seletivo de moderada inibição, que evita o crescimento de bactérias Gram-positivas a partir de cultivos mistos (OHKUSU¹⁶², 200; KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; FILLIUS et al.⁶¹, 2003). A caracterização fenotípica das espécies das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae necessitam de uma bateria de provas bioquímicas. O sistema de identificação API 20E (Bio-Merieux, França) fornece 21 características que podem ser determinadas com o sistema que estão entre os grupos de provas mais amplos dos sistemas compactos. O sistema é um dos mais utilizados nos laboratórios clínicos e possui muitos dados de base que incluem cepas comuns e atípicas. O API 20E tem sido comparado, nos últimos vinte anos, com vários outros sistemas e, devido a sua grande aceitação no mercado dos laboratórios clínicos e microbiológicos, tornou-

se o padrão-ouro entre os sistemas comerciais (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; O' HARA¹⁶¹, 2005).

Em nosso estudo, *Enterobacter cloacae* foi a espécie prevalente dentre os isolados da família Enterobacteriaceae e *Chryseomonas luteola* foi a espécie da família Pseudomonaceae mais freqüentemente isolada em ambos os grupos. O isolamento clínico de *E. cloacae* é comum, sendo descrito na cavidade bucal e em bolsas periodontais por vários autores (SLOTS et al.²⁰⁷, 1990; MOORE et al.¹⁴³, 1993; DÁHLEN & WIKSTROM⁴⁹, 1995; SANTOS & JORGE¹⁹⁶, 1998). Por outro lado, *C. luteola* é raramente isolada, sendo que as infecções causadas por este microrganismo incluem septicemia, meningite, endocardite, osteomielites e peritonites (KONEMAN et al.¹¹⁵, 2001; CHIHAB et al.⁴³, 2004). O grupo HIV apresentou maior diversidade de espécies de enterobactérias e de pseudomonas, muitas das quais podem ocasionar infecções oportunistas, como *Enterobacter sakazakii* e infecções de neonatos, *Escherichia coli* e infecções gastro-intestinais e endocardites, *Kluyvera ascobarta* em infecções urinárias, entre outras (ARPIN et al.⁹, 2005; BRANGER et al.¹², 2005; CAPRIOLI et al.³⁶, 2005; GURTLE et al.⁷⁶, 2005; NARCHI¹⁵³, 2005).

Não foi observada relação estatisticamente significativa entre o hábito de fumar e a presença destes microrganismos na cavidade bucal ou nos sítios periodontais. Estes dados estão em concordância com os achados de Santos et al.¹⁹⁷ (2002) que pesquisaram indivíduos adultos com doença periodontal.

Em relação à contagem de células CD4+, observou-se menores contagens de enterobactérias e pseudomonas na cavidade bucal de pacientes do subgrupo com menos de duzentas células CD4+ por milímetro cúbico. Quanto à carga viral, os valores distribuíram-se igualmente entre os subgrupos avaliados. Considerando-se que não foram encontrados estudos anteriores que relacionam a prevalência de enterobactérias e pseudomonas na cavidade bucal de pacientes HIV

positivos às variáveis clínicas consideradas, não foi possível confrontar estes resultados com a literatura pesquisada.

O desenvolvimento de mais estudos sobre a presença de microrganismos superinfectantes além de leveduras do gênero *Candida*, na cavidade bucal de pacientes HIV positivos, nos parece de extrema importância, considerando-se que poucos são os relatos na literatura. Estes novos achados podem ser de grande importância clínica, contribuindo sobremaneira para o estabelecimento de estratégias terapêuticas no tratamento e prevenção de superinfecções nestes pacientes.

7 CONCLUSÃO

- a) o grupo HIV apresentou maior prevalência de microrganismos do gênero *Candida* e das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae em relação ao controle, tanto na cavidade bucal quanto nos sítios periodontais;
- b) a prevalência de *Staphylococcus* spp. na cavidade bucal e sítios periodontais foi similar nos grupos estudados;
- c) maior diversidade de espécies dos gêneros *Candida* e *Staphylococcus* e das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae foi observada no grupo HIV;
- d) a presença de leveduras do gênero *Candida* e *Staphylococcus* spp. na cavidade bucal e sítios periodontais não foram associadas às contagens de células CD4⁺ e apresentaram contagens significativamente menores na cavidade bucal nos pacientes com menor carga viral;
- e) as contagens de bactérias das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae foram significativamente menores na cavidade bucal dos pacientes do subgrupo menor que duzentas células T CD4⁺ por milímetros cúbicos em relação aos demais subgrupos e distribuíram-se igualmente quanto aos subgrupos da carga viral;

- f) não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as contagens obtidas para estes microrganismos em pacientes HIV positivos fumantes e não fumantes tanto na cavidade bucal quanto nos sítios periodontais.

8 REFERÊNCIAS*

- 1 AAS, J.A. et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. **J Clin Microbiol**, v.43,n.11, p.5721-32, Nov. 2005.
- 2 ACHTMAN, M. et al. Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia petis*. **PNAS**, v.101, n.51, p.17837-42, Dec. 2004.
- 3 ADDY, M.; MARTIN, M.V. Systemic antimicrobials in the treatment of chronic periodontal diseases: a dilemma. **Oral Dis**, v.9, suppl.1, p.38-44, 2003.
- 4 AHMAD, S. et al. Isolation and molecular identification of *Candida dubliniensis* from non-human immunodeficiency virus-infected patients in Kuwait. **J Med Microbiol**, v.53, pt.7, p. 633-37, July 2004.
- 5 AL-ABEID, H.M. et al. Isolation and characterization of *Candida* spp. in jordanian cancer patients: prevalence, pathogenic determinants, and antifungal sensitivity. **Jpn J Infect Dis**, v.57, n.6, p.279-84, Dec. 2004.

* Baseado em:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Informação e documentação:** referências, elaboração, NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002.23p.

- 6 ANGUERA, I et al. *Staphylococcus lugdunensis* infective endocarditis: description of 10 cases and analysis of native valve, prosthetic valve, and pacemaker lead endocarditis clinical profiles. **Heart**, v.91, n.2, p.1-7, Feb. 2005.
- 7 APETREI, C. et al. Detection and partial characterization of Simian Immunodeficiency virus SIVsm strains from bush meat samples from rural Sierra Leone. **J Virol**, v.79, n.4, p.2631-6, Feb. 2005.
- 8 ARMITAGE, G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Ann Periodontol**, v.4, n.1, p.1-6, Jan. 1999.
- 9 ARPIN, C. et al. Clinical and molecular analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing enterobactérias in the community setting. **J Clin Microbiol**, v.43, n.10, p.5048-5054, Oct. 2005.
- 10 ARREDONDO, J. et al. Receptor-mediated tobacco toxicity. Regulation of gene expression through $\alpha 3\beta 2$ nicotinic receptor in oral epithelial cells. **Am J Pathol**, v.166, n.2, p.597-613, Feb. 2005.
- 11 BARBOSA, F.C.B. et al. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from brazilian periodontitis patients. **Oral Microbiol Immunol**, v.16, n.5, p.306-10, Oct. 2001.
- 12 BARCHIESI, F. et al. Point prevalence, microbiology and fluconazole susceptibility patterns of yeast isolates colonizing the oral cavities of HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. **J Antim Chem**, v.50, n.6, p.999-1002, Dec. 2002.

- 13 BELAZI, M. et al. Oral *Candida* isolates in patients undergoing radiotherapy for head and neck cancer: prevalence, azole susceptibility profiles and response to antifungal treatment. **Oral Microbiol Immun**, v.19, n.6, p.347-1, Dec. 2004.
- 14 BELAZI, M. et al. Candidal overgrowth in diabetic patients: potential predisposing factors. **Mycoses**, v.48, n.3, p.192-6, May 2005.
- 15 BENDICK, C.; SCHEIFELE, C.; REICHART, P. A. Oral manifestations in 101 Cambodian patients with HIV infection and AIDS. **J Oral Pathol Med**, v.31, n.1, p.1-4, Jan. 2002.
- 16 BJORLAND, J. et al. Novel plasmid-borne gene *qacJ* mediates resistance to quaternary ammonium compounds in equine *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans*, and *Staphylococcus intermedius*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.47, n.10, p.3046-52, Oct. 2003.
- 17 BLACK, J.G. Imunologia II: doenças imunológicas e testes laboratoriais. In:___ **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. Trad. E. F. Toros. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap.18, p.476-89.
- 18 BLIGNAUT, E. et al. Antifungal susceptibility of South African oral yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v.44, n.2, p.169-74, Oct. 2002.
- 19 BODEY, G.P. et al. The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans* fungemia in immunocompromised patients with cancer. **Am J Med**, v.112, n. 5, p. 380-85, Apr. 2002.

- 20 BORIOLLO, M.F. et al. Electrophoretic protein patterns and numerical analysis of *Candida albicans* from the oral cavities of healthy children. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.45, n.5, p.249-57, Sep./Oct. 2003.
- 21 BRADY, L.J. et al. Oral diseases, mycology and periodontal microbiology of HIV-1-infected women. **Oral Microbiol Immunol**, v.11, n.6, p.371-8, Dec. 1996.
- 22 BRANGER, S. et al. *Escherichia coli* endocarditis: seven new cases in adults and review of the literature. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.24, n.8, p.537-41, Aug. 2005.
- 23 BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. Aprovar as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos.** Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/deliberações/reso96.htm>. Acesso em: 31 de agosto de 2004.
- 24 BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 251, de 07 de agosto de 1997. Aprovar normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos.** Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/deliberações/reso97.htm>. Acesso em 31 ago. 2004.
- 25 BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico AIDS**, v.17, n.1, jan./dez. 2003. Disponível em [http:// www. aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Acesso em: 31 ago. 2004.

- 26 BRASIL. Ministério da Saúde. **AIDS: etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento: unidade de assistência**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. Disponível em [http:// www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Acesso em: 31 ago. 2004.
- 27 BRASIL. Ministério da Saúde. **AIDS em números – AIDS no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. Disponível em [http:// www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Acesso em: 17 jan. 2005.
- 28 BRASIL. Ministério da Saúde. **AIDS vinte anos: esboço histórico para entender o programa brasileiro**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em [http:// www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Acesso em: 21 de janeiro de 2006.
- 29 BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV 2004**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. Disponível em [http:// www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Acesso em: 31 ago. 2004.
- 30 BROOKS, G.F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. AIDS & Lentivírus. In:___ **Microbiologia médica**. Trad. P.J. Voeux. 21.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap.44, p.455-68.
- 31 BROOKS, G.F.; BUTEL, J.S.; MORSE, S.A. Bastonetes Gram-negativos entéricos (Enterobacteriaceae). In:____. **Microbiologia médica**. Trad. P.J. Volux. 21.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap.16, p.175-84.
- 32 CAMPANHA, N.H. et al. Phenotypic methods and commercial systems for the discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. **Oral Dis**, v.11, n.6, p.392-8, Nov. 2005.

- 33 CAMPISI, G.; PIZZO, G., MILICI, M.E. Candidal carriage in the oral cavity of human immunodeficiency virus-infected subjects. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 93, n.3, p.281-86, Mar. 2002.
- 34 CANNON, R.D. et al. Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis? **J Dent Res**, v.74, n.5, p.1152-61, May 1995.
- 35 CAPOLUONGO, E. et al. Heterogeneity of oral isolates of *Candida albicans* in HIV-positive patients: correlation between candidal carriage, karyotype and disease stage. **J Med Microbiol**, v.49, n.11, p.985-91, Nov. 2000.
- 36 CAPRIOLI, A. et al. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. **Vet Res**, v.36, n.3, p.289-11, May/June 2005.
- 37 CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Report of the NIH panel to define principles of therapy of HIV infection and guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents. **Mor Mortal Wkly Rep**, v.47, n.RR-5, p.1-91, Apr. 1998.
- 38 CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents. Recommendations of the panel on clinical practices for treatment of HIV. **Mor Mortal Wkly Rep**, v.51, n.RR-7, p.1-64, May. 2002.

- 39 CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Reported CD4+ T-lymphocyte results for adults and adolescents with HIV/AIDS-33 states, 2005. **HIV/AIDS Surveillance Supplemental Report**, v.11, n.2, p.1-31, 2005.
- 40 CHALLACOMBE, J. Immunologic aspects of oral candidiasis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.78, n.2, p.202-10, Aug. 1994
- 41 CHATTIN, B.R. et al. Specific microbial colonizations in the periodontal sites of HIV-infected subjects. **Microbiol Immunol**, v.43, n.9, p.847-52, 1999.
- 42 CHAVASCO, J.K. et al. Molecular identification of *Candida dubliniensis* isolated from oral lesions of HIV-positive and HIV-negative patients in São Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, v.48, n.1, p.21-26, jan./feb. 2006.
- 43 CHIHAB, W.; ALAOUI, A.S.; AMAR, M. *Chryseomonas luteola* identified as the source of serious infections in a Moroccan university hospital. **J Clin Microbiol**, v.42, n.4, p.1837-9, Apr. 2004.
- 44 COLEMAN, D.C. et al. Candidiasis: the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. **AIDS**, v.11, n.5, p.557-67, Apr. 1997.
- 45 CONE, L.A. et al. *Staphylococcus capitis* endocarditis due to a transvenous endocardial pacemaker infection: case report and review of *Staphylococcus capitis* endocarditis. **Int J Infect Dis**, v. 9, n.6, p.335-39, Nov. 2005.

- 46 CONSTANTINE, N.T.; ZINK, H. HIV testing technologies after two decades of evolution. **Indian J Med Res**, v.121, n.4, p. 519-38, Apr. 2005.
- 47 COSTA, E.M.B. et al. Heterogeneity of metallo and serine extracellular proteinases in oral clinical isolates of *Candida albicans* in HIV-positive and healthy children from Rio de Janeiro, Brazil. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v.38, n.2, p.173-80, Sept. 2003.
- 48 DAHLÉN, G. Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. **Adv Dent Res**, v.7, n.2, p.163-74, Aug. 1993.
- 49 DAHLÉN, G.; WIKSTRÖM, M. Occurrence of enteric rods, staphylococci and *Candida* in subgingival samples. **Oral Microbiol Immunol**, v.10, n.1, p.42-6, Feb. 1995.
- 50 DARWAZEH, A.M.G.; AL-DOSARI, A.; AL-BAGIEH, N.H. Oral *Candida* and nasal *Aspergillus* flora in a group of Saudi healthy dentate subjects. **Int Dent J**, v.52, n.4, p.273-7, Aug. 2002.
- 51 DARWIN, A. The phage-shock-protein response. **Mol Microbiol**, v.57, n.3, p.621-8, 2005.
- 52 DAVID, M.; BAMBERGER, D.M.; BOYD, S.E. Management of *Staphylococcus aureus* infections. **Am Fam Physician**, v.72, n.12, p.2474-81, Dec. 2005.
- 53 DUBIN, G. Extracellular proteases of *Staphylococcus* spp. **Biol Chem**, v.383, n.7-8, p.1075-86, July/Aug. 2002.

- 54 EADY, E.A.; COVE, J.H. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicilin resistant *Staphylococcus aureus* - an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. **Curr Opin Infect Dis**, v.16, n.2, p.103-24, Apr. 2003.
- 55 EDWARDSON, S. et al. The microbiota of periodontal pockets with different depths in therapy-resistant periodontites. **J Clin Periodontol**, v.26, n.3, p.143-2, Mar. 1999.
- 56 EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. **Lancet Infect Dis**, v. 3, n.11, p. 685-702, Nov. 2003.
- 57 ELLEPOLA, A.N.B; SAMARANAYAKE, L.P. Oral candidal Infections and antimycotics. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.11, n.2, p.172-98, 2000.
- 58 ENDIMIANI, A. et al. *Proteus mirabilis* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to the expression of extended-spectrum β -lactamases. **Antimicrob Agents Chemother**, v.49, n.7, p.2598-605, July 2005.
- 59 ENOCH, D.A.; SIMPSON, A.J.H.; KIBBLER, C.C. Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anaerobic blood culture bottles. **J Med Microbiol**, v.53, pt.11. p.1151-54, Nov. 2004.
- 60 FIGUEIRÊDO, R.L.Q. et al. Estudo microbiológico da prevalência de enterobactérias na cavidade bucal de pacientes HIV positivos e sua relação com gênero *Candida*. **J Bras Clin Estet Odontol**, v.5, n.26, p. 111-5, mar./abr. 2001.

- 61 FILLIUS, P.M.G. et al. Comparative evaluation of three chromogenic agars for detection and rapid identification of aerobic Gram-negative bacteria in the normal intestinal microflora. **Clin Microbiol Infect**, v.9, n.9, p.912-8, Sept. 2003.
- 62 FLYNN, M.J.; SLOTS, J. Beta – haemolytic streptococci in advanced periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.8, n.5, p.295-7, Oct. 1993.
- 63 FORBES, B.A.; SAHM, D.F.; WEISSFELD, A.S. **Diagnostic microbiology**. 10.ed. St. Louis: Mosby, 1998.
- 64 FOSTER, T.J. Immune evasion by staphylococci. **Nat Rev Microbiol**, v.3, n.12, p.948-58, Dec. 2005.
- 65 FUHRER, T.; FISCHER, E.; SAUER, U. Experimental identification and quantification of glucose metabolism in seven bacterial species. **J Bacteriol**, v.187, n.5, p.1581-90, Mar. 2005.
- 66 GHANNOUM, M. A. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. **Clin Microbiol Rev**, v.13, n.1, p.122-43, Jan. 2000.
- 67 GILFILLAN, G.D et al. *Candida dubliniensis*: phylogeny and putative virulence factors. **Microbiol**, v.144, p.829-38, Apr. 1998.
- 68 GOMEZ, C.; HOPE, T.J. The ins and outs of HIV replication. **Cell Microbiol**, v.7, n.5, p.621-26, 2005.
- 69 GONÇALVES, L.S. Periodontite crônica e a infecção pelo HIV. I. Aspectos microbiológicos. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v.59, n.3, p.209-12, maio/jun. 2005.

- 70 GONÇALVES, L.S. Periodontite crônica e a infecção pelo HIV. II. Resposta do hospedeiro. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v.59, n.4, p.311-4, jul./ago. 2005.
- 71 GONÇALVES, L. S. et al. Association of TCD4 lymphocyte levels and subgingival microbiota of chronic periodontitis in HIV-infected Brazilians under HAART. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.97, n.2, p.196-203, Feb. 2004.
- 72 GONÇALVES, L.S. et al. Association of T CD4 lymphocyte levels and chronic periodontitis in HIV-infected brazilian patients undergoing highly active anti-retroviral therapy: clinical results. **J Periodontol**, v.76, n.6, p.915-22, June 2005.
- 73 GÖTZ, F. Staphylococci in colonization and disease: prospective targets for drugs and vaccines. **Curr Opin Microbiol**, v.7, n.5, p.477-87, Oct. 2004.
- 74 GREENSPAN, D. Treatment of oral candidiasis in HIV infection. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 78, n. 2, p. 211-5, Aug. 1994.
- 75 GRIMOUD, A.M. et al. Colonization of the oral cavity by *Candida* species: risk factors in long-term geriatric care. **J Oral Sci**, v. 45, n.1, p.51-5, Mar. 2003.
- 76 GURTLE, J.B. *Enterobacter sakazakii*: a coliform of increased concern to infant health. **Int J Food Microbiol**, v.104, n.1, p.1-34, Sep. 2005.

- 77 HA, U.; JIN, S. Expression of the *soxR* gene of *Pseudomonas aeruginosa* is inducible during infection of burn wounds in mice and is required to cause efficient bacteremia. **Infect Immunol**, v.67, n.10, p.5324-31, Oct. 1999.
- 78 HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol 2000**, v.5, p.78-111, June 1994.
- 79 HÄGG, U. et al. The effect of fixed orthodontic appliances on the oral carriage of *Candida* species and Enterobacteriaceae. **Eur J Orthod**, v.26, n.6, p.623-9, Dec. 2004.
- 80 HANDAL, T. et al. β -lactamase production and antimicrobial susceptibility of subgingival bacteria from refractory periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.19, n.5, p.303-8, Oct. 2004.
- 81 HANNULA, J. et al. Subgingival strains of *Candida albicans* in relation to geographical origin and occurrence of periodontal pathogenic bacteria. **Oral Microbiol Immunol**, v.16, n.2, p.113-8, Apr. 2001.
- 82 HARTROTH, B.; SEYFAHRT, I; CONRADS, G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. **Oral Microbiol Immunol**, v.14, n.4, p.326-30, Aug. 1999.
- 83 HAYNES, K. Virulence in *Candida* species. **TRENDS Microbiol**, v.9, n.12, p.591-6, Dec. 2001.

- 84 HAZEN, K.C. New and emerging yeast pathogens. **Clin Microbiol Rev**, v.8, n.4, p. 462-78, Oct. 1995.
- 85 HELOVUO, H.; HAKKARAINEN, K.; PAUNIO, K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeast after treatment with penicillin and erythromycin. **Oral Microbiol Immunol**, v.8, n.2, p.75-9, Apr. 1993.
- 86 HOLT, J.G. et al. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. In: _____. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994. p.175-89.
- 87 HUBE, B. From commensal to pathogen: stage and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. **Current Opinion Microbiol**, v.7, n.4, p.336-41, Aug. 2004.
- 88 HUBE, B.; NAGLIAK, J. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. **Microbiol**, v.147 (Pt. 8), p.1997-2005, Aug. 2001.
- 89 IWASE, M. et al. Leukocidal activity of staphylococci isolated from human periodontal lesions. **Oral Microbiol Immunol**, v.5, n.4, p.233-6, Aug. 1990.
- 90 JABRA-RIZK, M.A. et al. Retrospective identification and characterization of *Candida dubliniensis* isolates among *Candida albicans* clinical laboratory isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected individuals. **J Clin Microbiol**, v.38, n.6, p.2423-6, June 2000.

- 91 JABRA-RIZK, M. A. et al. Cell surface hydrophobicity-associated adherente of *Candida dubliniensis* to human bucal epithelial cells. **Rev Iberoam Micol**, v.18, p.17-22, 2001.
- 92 JABRA-RIZK, M.A. et al. Prevalence of yeast among children in Nigeria and the United States. **Oral Microbiol Immunol**, v.16, n.6, p.383-6, Dec. 2001.
- 93 JABRA-RIZK, M.A. et al. Recovery of *Candida dubliniensis* and other yeast from human immunodeficiency virus associated periodontal lesions. **J Clin Microbiol**, v. 39, n.12, p.4520-2, Dec. 2001.
- 94 JACKSON, M.S. et al. Oral carriage of staphylococci in patient with rheumatoid arthritis. **Rheumatology**, v.38, n.6, p.572-5, June 1999.
- 95 JACKSON, M.S. et al. Staphylococci in the oral flora of healthy children and those receiving treatment for malignant disease. **Microbial Ecol Health Dis**, v.12, p.60-4, 2000.
- 96 JACOBSON, J.J. et al. Oral *Staphylococcus* in older subjects with rheumatoid arthritis. **J Am Geriat Soc**, v.45, n.5, p.590-3, 1997.
- 97 JÄRVENSIVU, A. et al. *Candida* yeasts in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms in vivo. **Oral Dis**, v.10, n.2, p.106-12, Marc. 2004.
- 98 JIN, Y. et al. Biofilm-forming ability of *Candida albicans* is unlikely to contribute to high levels of oral yeast carriage in cases of human immunodeficiency virus infection. **J Clin Microbiol**, v.41, n.7, p.2961-7, July 2003.

- 99 JOBBINS, J. et al. Oral carriage of yeasts, coliforms and staphylococci in patients with advanced malignant disease. **J Oral Pathol Med**, v.21, n.7, p. 305-8, Aug. 1992.
- 100 JOHNSON, N.W. Essential questions concerning periodontal diseases in HIV infection. **Oral Dis**, v.3, Suppl.1, p.S38-40, 1997.
- 101 JORGE, A.O.C. Principais vírus de doenças humanas. In:__. JORGE. **Princípios de microbiologia e imunologia**. São Paulo: Ed. Santos Editora, 2006. Cap.13, p. 179-202.
- 102 JORGE, A.O.C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v.11, n.4, p.279-85, out./dez. 1997.
- 103 KADIR, T.; UYGUN, B.; AKYÜZ, S. Prevalence of *Candida* species in Turkish children: relationship between dietary intake and carriage. **Arch Oral Biol**, v.50, n.1, p.33-7, Jan. 2005.
- 104 KAMMA, J.J.; NAKOU, M.; BAEHNI, P.C. Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis. **J Periodont Res**, v.34, n.1, p.25-33, Jan. 1999.
- 105 KAYE, K.S. et al. Variety of β -lactamases produced by amoxicillin-clavulanate-resistant *Escherichia coli* isolated in the Northeastern United States. **Antimicrob Agents Chemother**, v.48, n.5, p.1520-5, May 2004.

- 106 KHONGKUNTHIAN, P. et al. Oral manifestations in HIV-positives adults from Northern Thailand. **J Oral Pathol Med**, v. 30, n.4 p. 220-3, Apr. 2001.
- 107 KIPNIS, E.; SAWA, T.; WIENER-KRONISH, J. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. **Med Mal Infect**, v.36, n.2, p.78-91, Feb. 2006.
- 108 KIRISITS, M.J. et al. Characterization of colony morphology variants isolated from *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Appl Environ Microbiol**, v.71, n.8, p.4809-21, Aug. 2005.
- 109 KLOOS, W.E.; BANNERMAN, T.L. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY, P.R. et al. **Manual of clinical microbiology**. 6.ed. Washington: ASM Press, 1995. Cap.22, p.282-98.
- 110 KLUYTMANS, J. et al. Outbreak of *Staphylococcus schleiferi* wound infections: strain characterization by randomly amplified polymorphic DNA analysis, PCR ribotyping, conventional ribotyping, and pulsed-field gel electrophoresis. **J Clin Microbiol**, v.36, n.8, p.2214-9, Aug. 1998.
- 111 KOGA-ITO, C.Y.; MARTINS, C.A.P.; JORGE, A.O.C. Estudo do gênero *Candida*. In: JORGE, A.O.C. **Princípios de microbiologia e imunologia**. São Paulo: Ed. Santos, 2006. p. 219-38.
- 112 KOGA-ITO, C.Y. et al. *In vitro* antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolates from patients with chronic periodontitis and from control patients. **Braz Oral Res**, v. 18, n.1, p.80-4. 2004.

- 113 KOMIYAMA, E.Y. et al. Prevalence of yeasts in the oral cavity of children treated with inhaled corticosteroids. **Braz Oral Res**, v.18, n.3, p.197-201, July/Sep. 2004.
- 114 KOMURO, I. et al. Human alveolar macrophages and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced monocyte-derived macrophages are resistant to H₂O₂ via their high basal and inducible levels of catalase activity. **J Biol Chem**, v.276, n.26, p.24360-4, June 2001.
- 115 KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5 ed. MEDSI, 2001. p.1465.
- 116 KRETSCHMAR, M. et al. Germ tubes and proteinases activity contribute to virulence of *Candida albicans* in murine peritonitis. **Infect Immunol**, v.67, n.12, p.6637-42, Dec. 1999.
- 117 KUMAMOTO, C.A.; VINCES, M.D. Alternative *Candida albicans* lifestyles: growth on surfaces. **Annu Rev Microbiol**, v.59, p.113-33, 2005.
- 118 KUMAMOTO, C.A.; VINCES, M.D. Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. **Cell Microbiol**, v.7, n.11, p.1546-54, Nov.2005.
- 119 KUMAR, B.V. et al. Prevalence of *Candida* in the oral cavity of diabetic subjects. **J Assoc Physicians India**, v.53, p. 599-602, July 2005.

- 120 LACAZ, C.S. et al. Leveduras de interesse médico. In: __. **Tratado de micologia médica**. 9.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. Cap.6, p.123-54.
- 121 LAMSTER, I.B. et al. Epidemiology and diagnosis of HIV-associated periodontal diseases. **Oral Dis**, v.3 (Supl.1), p.41-8, May 1997.
- 122 LAMSTER, I.B. et al. New concepts regarding the pathogenesis of periodontal disease in HIV infection. **Ann Periodontol**, v.3, n.1, p.62-75, 1998.
- 123 LAUPLAND K.B. et al. Invasive *Candida* species infections: a 5 year population-based assessment. **J Antimicrob Chemother**, v.56, n.3, p.532-7, Sept. 2005.
- 124 LI, S.Y. et al. Molecular epidemiology of long-term colonization of *Candida albicans* strains from HIV-infected patients. **Epidemiol Infected**, v.134, n.2, p.265-9, Apr. 2006.
- 125 LIN, A.L. et al. Salivary anticandidal activity and saliva composition in an HIV-infected cohort. **Oral Microbiol Immunol**, v.16,n.5, p.270-8, Oct. 2001.
- 126 LOBERTO, J.C.S. et al. *Staphylococcus* spp. In the oral cavity and periodontal pockets of chronic periodontitis patients. **Braz J Microbiol**, v.35, n.1-2, p.64-8, Jan./Jun. 2004.
- 127 LOVEGROVE, J.M. Dental plaque revisited: bacteria associated with periodontal disease. **J N Z Soc Periodontol**, n.87, p.7-21, 2004.
- 128 LYELL, A. Alexander Ogton, micrococci and Joseph Lister. **J Amer Acad Dermatol**, v.20, n.2, p.302-10, Feb. 1989.

- 129 MANCHANDA, V. et al. Phenotypic characteristics of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* & evaluation of available phenotypic techniques for detection of extended spectrum beta-lactamases. **Indian J Med**, v.122, p.330-7, Oct. 2005.
- 130 MANFREDI, M. et al. The isolation, identification and molecular analysis of *Candida* spp. Isolated from oral cavities of patients with diabetes mellitus. **Oral Microbiol Immunol**, v.17, n.3, p.181-5, 2002.
- 131 MANUILA, L. et al. **Dicionário médico**. S.L: MEDSI, 2003. p.480.
- 132 MARKOSYAN, R.M.; COHEN, F.S.; MELIKYAN, G.B. HIV-1 envelope proteins complete their folding into six-helix bundles immediately after fusion pore formation. **Mol Biol Cell**, v. 14, n.3, p. 926-38, Mar. 2003.
- 133 MARSOU, R. et al. Distribution of *Staphylococcus sciuri* subspecies among human clinical specimens, and profile of antibiotic resistance. **Res Microbiol**, v.150, n.8, p.531-44, Oct. 1999.
- 134 MARTINS, C.A.P.; KOGA-ITO, C.Y.; JORGE, A.O.C. Presence of *Staphylococcus* spp. and *Candida* spp. in the human oral cavity. **Braz J Microbiol**, v.33, n.3, p.236-40, 2002.
- 135 MARTINS, C.A.P. et al. Presença de *Candida* spp. em pacientes com periodontite crônica. **Cien Odontol Bras**, v.5, n.3, p.75-83, set./dez. 2002.
- 136 MARX, P.A.; APETREI, C.; DRUCKER, E. AIDS as a zoonosis? Confusion over the origin of the vírus and the origin of epidemics. **J Med Primatol**, v. 33, n.5-6, p. 220-6, Oct. 2004.

- 137 MASUOKA, J. Surface glycans of *Candida albicans* and other pathogenic fungi: physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. **Clin Microbiol Rev**, v.17, n.2, p.281-310, Apr. 2004.
- 138 MEEÛS, T. et al. Genetic structure of *Candida glabrata* populations in AIDS and non-AIDS patients. **J Clin Microbiol**, v.40, n.6, p.2199-206, June 2002.
- 139 MELIKYAN, G.B. et al. Evidence that the transmittion of HIV-1 gp41 into a six-helix bundle, not the bundle configuration, induces membrane fusion. **J Cell Biol**, v.151, n.2, p.413-23, Oct. 2000.
- 140 MEMMEL, H.; KOWAL-VERN, A.; LATENSER, B.A. Infections in diabetic burn patients. **Diabetes Care**, v.27, n.1, p.229-33, Jan. 2004.
- 141 MIYAKE, Y. et al. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* from tongues of children. **J Dent Res**, v.70, n.7, p.1045-7, July 1991.
- 142 MONROY, T.B. et al. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearning dental prothesis. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.10, Suppl.1, p.27-39, Apr. 2005.
- 143 MOORE, V.H. et al. Periodontal microflora of HIV positive subjects with gingivitis or adult periodontitis. **J Periodontol**, v.64, n.1, p.48-56, Jan. 1993.
- 144 MOORE, W.E.C.; MOORE, L.V.H. The bacteria of periodontal diseases. **Periodontol 2000**, v.5, p.66-77, June 1994.

- 145 MOTTA, R.N. et al. Plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase-producing strains of Enterobacteriaceae isolated from diabetes foot infections in a Brazilian Diabetic Center. **Braz J Infect Dis**, v.7, n.2, p.129-134, Apr. 2003.
- 146 MURDOCH, F.E.; SAMMONS, R.L; CHAPPLE, I.L.C. Isolation and characterization of subgingival staphylococci from periodontitis patients and controls. **Oral Dis**, v.10, n.3, p.155-62, Apr. 2004.
- 147 MURRAY, P.R. et al. Enterobacteriaceae. In: __. **Microbiologia médica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap.29. p.193-203.
- 148 MURRAY, P.R et al. *Staphylococcus* e microrganismos correlatos. In:__. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap.22, p.147-57.
- 149 MURRAY, P.S. et al. Retroviral matrix domains share electrostatic homology: models for membrane binding function throughout the viral life cycle. **Structure**, v.13, n.10, p.1521-31, Oct. 2005.
- 150 NAGLIK, J.R.; CHALLACOMBE, S.J.; HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. **Microbiol Molec Biol Rev**, v.67, n.3, p.400-28, Sept. 2003.
- 151 NAGLIK, J.R. et al. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. **Cell Microbiol**, v. 6, n.10, p.915-26, 2004.
- 152 NAIR, G.R.; ANIL, S.; SAMARANAYAKE, L.P. The effect of oral bacteria on *Candida albicans* germ-tube formation. **APMIS**, v.109, n.2, p.147-54, Feb. 2001.

- 153 NARCHI, H. *Kluyvera* urinary tract infection case report and review of the literature. **Pediatr Infect Dis J**, v.24, n.6, p.570-2. June 2005.
- 154 NAVEEN, R.; MATHAI, E. Some virulence characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* in different patient groups. **Indian J Med Res**, v.122, n.2, p.143-7, Aug. 2005.
- 155 NIEWERTH, M.; KORTING, H.C. Phospholipases of *Candida albicans*. **Mycoses**, v.44, n.9-10, p.361-7, Nov. 2001.
- 156 NITTAYANANTA, W.; JEALAE, S.; WINN, T. Oral *Candida* in HIV-infected heterosexuals and intravenous drug users in Thailand. **J Oral Pathol Med**, v. 30, n.6, p. 347-54, July 2001.
- 157 NOVICK, R.P.; SCHLIEVERT, P., RUZIN, A. Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. **Microb Infect**, v.3, p.585-94, 2001.
- 158 NUNES, A.P.F. et al. Heterogeneous resistance to vancomycin in *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus warneri* clinical strains: characterization of glycopeptide susceptibility profiles and cell wall thickening. **Int J Antimicrob Agents**, v.13, p.1-9, Mar. 2006. Disponível em: www.sciencedirect.com/science
- 159 OBERHOFER, T.R. Characteristics of human isolates of unidentified fluorescent pseudomonads capable of growth at 42°C. **J Clin Microbiol**, v.14, n.5, p.492-5, Nov. 1981.
- 160 ODDEN, K. et al. Candidal infection of the gingival in HIV- infected persons. **J Oral Pathol Med**, v.23, n.4, p.178-83, Apr.1994.

- 161 O'HARA, C.M. Manual and automated instrumentation for identification of Enterobacteriaceae and other aerobic Gram-negative bacilli. **Clin Microbiol Rev**, v.18, n.1, p.147-62, Jan. 2005.
- 162 OHKUSU, K. Cost-effective and rapid presumptive identification of Gram-negative bacilli in routine urine, pus, and stool cultures: evaluation of the use of CHROMagar orientation medium in conjunction with simple biochemical tests. **J Clin Microbiol**, v.38, n.12, p.4586-92, Dec. 2000.
- 163 ÖHMAN, S.C. et al. The prevalence of *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae species, and *Candida* species and their relation to oral mucosal lesions in a group of 79-year-olds in Göteborg. **Acta Odontol Scand**, v.53, n.1, p.49-54, Feb. 1995.
- 164 OPLUSTIL, C.P. et al. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier, 2000.
- 165 PADOVEZE, M.C. et al. Nasal MRSA colonization of AIDS patients cared for in a brazilian university hospital. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v.22, n.12, p. 783-5, Dec. 2001.
- 166 PALACIO, H. et al. Effect of cigarette smoking on HIV-related. **J Acqu Immune Defic Syndromes Human Retro**, v.14, n.4, p.338-42, Apr. 1997.
- 167 PANUTTI, C.M. et al. Prevalência de microrganismos superinfectantes na placa bacteriana supragengival de deficientes mentais institucionalizados. **Rev Pos Grad Fac Odontol Univers São Paulo**, v.8, n.1, p.35-9, jan./mar. 2001.

- 168 PARSOT, C. *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* pathogenicity factors. **FEMS Microbiol Letters**, v.252, p.11-8, 2005.
- 169 PATEL, M.; COOGAN, M.M; GALPIN, J.S. Periodontal pathogens in subgingival plaque of HIV-positive subjects with chronic periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.18, n.3, p.199-201, July, 2003.
- 170 PATTI, J.M. et al. The *Staphylococcus aureus* collagen adhesin is a virulence determinant in experimental septic arthritis. **Infect Immunol**, v.62, n.1, p.152-61, Jan. 1994.
- 171 PATTON, L.L.; HILL, C. Sensitivity, specificity, and positive predictive value of oral opportunistic infections in adults with HIV/AIDS as markers of immune suppression and viral burden. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 90, n.2 , p. 182-8, Aug. 2000.
- 172 PEREZOUS, L.F. et al. Colonization of *Candida* species in denture wearers with emphasis on HIV infection: a literatura review. **J Prosthet Dent**, v.93, n.3, p.288-93, Mar. 2005.
- 173 PITOUT, J.D.D. et al. β -lactamases and detection of β -lactam resistance in *Enterobacter* spp. **Antimicrob Agents Chemother**, v.41, n.1, p.35-9, Jan. 1997.
- 174 PITOUT, J.D.D. et al. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. **J Antimicrob Chemother**, v.56, n.1, p.52-9, May 2005.

- 175 PIZZO, G. et al. Genotyping and antifungal susceptibility of human subgingival *Candida albicans* isolates. **Arch Oral Biol**, v.47, n.3, p.189-96, Mar. 2002.
- 176 PORTELA, M.B. et al. Differential recovery of *Candida* species from subgingival sites in Human Immunodeficiency Virus positive and healthy children from Rio de Janeiro, Brazil. **J Clin Microbiol**, v. 42, n.12, p.5925-27, Dec. 2004.
- 177 POULAIN, D.; JOUAULT, T. *Candida albicans* cell wall glycans, host receptors and responses: elements for a decisive crosstalk. **Current Opinion Microbiol**, v.7, n.4, p.342-9, Aug. 2004.
- 178 PRIETO-PRIETO, J.; CALVO, A. Microbiological bases in oral infections and sensitivity to antibiotics. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.9, Suppl, p.S11-8, 2004.
- 179 PRUVOST, A. et al. Measurement of intracellular didanosine and tenofovir phosphorylated metabolites and possible interaction of the two drugs in human immunodeficiency virus-infected patients. **Antimicrob Agents Chemother**, v.49, n.5, p.1907-14, May 2005.
- 180 RAMS, T.E.; SLOTS, J. *Candida* biotypes in human adult periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.6, n.3, p.191-2, June 1991.
- 181 RAMS, T.E.; BABALOLA, O.O.; SLOTS, J. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after systemic doxycycline therapy. **Oral Microbiol Immunol**, v.5, n.3, p.166-8, June 1990.

- 182 RAMS, T.E.; FEIK, D.; SLOTS, J. Staphylococci in human periodontal diseases. **Oral Microbiol Immunol**, v.5, n.1, p. 29-32, Feb. 1990.
- 183 RAMS, T.E. et al. Microbiological study of HIV-related periodontitis. **J Periodontol**, v.62, n.1, p.74-81, Jan. 1991.
- 184 REYNAUD, A.H. et al. Yeast in periodontal pockets. **J Clin Periodontol**, v.28, n.9, p.860-4, Sept. 2001.
- 185 RIBEIRO, P.M. **Presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de receptores de transplante cardíaco**. 2003. 85f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de Concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2003.
- 186 ROBINSON, P.G. et al. Periodontal diseases and HIV infection. **Oral Dis**, v.8, Suppl.2, p.144-50, 2002.
- 187 RUIMY, R. et al. Genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from ventilated patients with nosocomial pneumonia, cancer patients with bacteremia, and environmental water. **Infect Immunol**, v.69, n.1, p.584-8, Jan. 2001.
- 188 RYDER, M.I. An update on HIV and periodontal disease. **J Periodontol** v.73, n.9, p.1071-8, 2002.
- 189 SAMARANAYAKE, L.P.; MACFARLANE, T. W. **Oral candidosis**. London: Wright, 1990. 265p.

- 190 SAMARANAYAKE, L.P et al. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. **J Oral Pathol**, v.15, p.386-8, 1986.
- 191 SAMARANAYAKE, L.P. et al. Fungal infections associated with HIV infection. **Oral Dis**, v.8, Suppl. 2, p.151-60, 2002.
- 192 SÁNCHEZ-VARGAS, L.O. et al. Oral *Candida* isolates colonizing or infecting human immunodeficiency virus-infected and healthy persons in Mexico. **J Clin Microbiol**, v.43, n.8, p.4159-62, Aug. 2005.
- 193 SÁNCHEZ-VARGAS, L.O. et al. Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral *Candida* isolates colonizing or infecting Mexican HIV/AIDS patients and healthy persons. **Rev Iberoam Micol**, v. 22, n.2, p.83-92, June 2005.
- 194 SANDVÉN, P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. **Acta Odontol Scand**, v.48, n.1, p.27-36, Feb. 1990.
- 195 SANT'ANA, P.L. et al. Multicenter brazilian study of oral *Candida* species isolated from AIDS patient. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.97, n.2, p.253-7, Mar. 2002.
- 196 SANTOS, S.S.F.; JORGE, A.O.C. Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal humana. **Rev Odontol UNESP**, v.27, n.2, p.473-84, jul./dez. 1998.

- 197 SANTOS, S.S.F. et al. Prevalência e sensibilidade *in vitro* de Enterobacteriaceae e *Pseudomonas* isoladas da cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica. **Pós-Grad Rev Odontol**, v.5, n.2, p.74-83, maio/ago. 2002.
- 198 SCHMIDT-WESTHAUSEN, A. et al. Oral *Candida* and Enterobacteriaceae in HIV-1 infection: correlation with clinical candidiasis and antimycotic therapy. **J Oral Pathol Med**, v.20, n.10, p.469-72, Nov. 1991.
- 199 SCHMIDT-WESTHAUSEN, A.M. et al. Oral candidosis and associated *Candida* species in HIV-infected Cambodians exposed to antimycotics. **Mycoses**, v.47, n.9-10, p.435-41, Oct. 2004.
- 200 SECKO, D. Pathogens fight back. **JAMC**, v.173, n.8, p.864, Oct. 2005.
- 201 SEIFERT, H. *Staphylococcus lugdunensis* pacemaker-related infection. **Emerg Infect Dis**, v.11, n.8, p.1283-6, Aug. 2005.
- 202 SENPUKU, H. et al. Systemic disease in association with microbial species in oral biofilm from elderly requiring care. **Gerontology**, v.49, n. 5, p.301-9, Sep./Oct. 2003.
- 203 SHUTER, J.; HATCHER, B.; LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* binding to human nasal mucin. **Infect Immun**, v.64, n.1, p.310-8, Jan. 1996.

- 204 SIMMONS, G. et al. Primary, syncytium inducing human immunodeficiency virus type 1 isolates are dual – tropic and most can use either lestr or CCR5 as coreceptors for virus entry. **J Virol**, v.70, n.12, p. 8355-60, Dec. 1996.
- 205 SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T.E. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. **Oral Microbiol Immunol**, v.5, n.6, p.305-8, Dec. 1990.
- 206 SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T.E. In vitro antimicrobial sensitivity of enteric rods and pseudomonads from advanced adult periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.5, n.5, p.298-301, Oct. 1990.
- 207 SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T.E. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonaceae and *Acinetobacter* in human periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.5, n.3, p.149-54, 1990.
- 208 SLOTS, J.; RAMS, T.E.; LISTGARTEN, M.A. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.3, n.2, p.47-52, June 1988.
- 209 SLOTS, J. et al. Subgingival microflora of advanced periodontitis in the Dominican Republic. **J Periodontol**, v.62, n.9, p.543-7, Sept. 1991.
- 210 SMITH, A.J.; JACKSON, M.S.; BAGG, J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. **J Med Microbiol**, v.50, n.11, p.940-6, Nov. 2001.

- 211 SMITH, A.J. et al. Staphylococcal species in the oral cavity from patients in a regional burns unit. **J Hosp Infect**, v.55, n.3, p.184-9, Nov. 2003.
- 212 SMITH, A.J. et al. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. **Br Dent J**, v.195, n.12, p.701-3, Dec. 2003.
- 213 SMITH, R.S.; IGLEWSKI, B.H. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. **J Clin Invest**, v.112, n.10, p.1460-5, Nov. 2003.
- 214 SOLL, D.R. *Candida* commensalisms and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. **Acta Tropica**, v.81, n.2, p.101-10, Feb. 2002.
- 215 SONG, X. et al. Genetic relatedness of oral yeast within marginal periodontitis and subjects with oral health. **J Periodontol Res**, v.40, n.6, p.446-52, Dec. 2005.
- 216 SOYSA, N.S; ELLEPOLA, A.N.B. The impact of cigarette/tobacco smoking on oral candidosis: an overview. **Oral Dis**, v.11, n.5, p.269-73, 2005.
- 217 STENDERUP, A. Oral mycology. **Acta Odontol Scand**, v. 48, n. 1, p. 3-10, Apr. 1990.
- 218 SUDBERY, P.; GOW, N.; BERMAN, J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. **TRENDS Microbiol**, v.12, n.7, p.317-24, July 2004.

- 219 SULLIVAN, D.J.; COLEMAN, D. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. **J Clin Microbiol**, v.36, n.2, p.329-34, Feb. 1998.
- 220 SULLIVAN, D.J.; MORAN, G.P.; COLEMAN, D.C. *Candida dubliniensis*: ten years on. **FEMS Microbiol Lett**, v.253, n.1, p.9-17, Dec. 2005.
- 221 SULLIVAN, D.J et al. *Candida dubliniensis* sp. no.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. **Microbiol**, v.141, pt.7, p.1507-21, July 1995.
- 222 SUNDSTROM, P. Adhesion in *Candida* spp. **Cell Microbiol**, v.4, n.8, p.461-9, Aug. 2002.
- 223 SUZUKI, J. et al. A long-term survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the oral cavity of children. **Microbiol Immunol**, v.41,n.9, p.681-6, 1997.
- 224 TAPPUNI, A.R.; FLEMING, G.J.P. The effect of antiretroviral therapy on the prevalence of oral manifestations in HIV-infected patients: a UK study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 92, n.6, p. 623-8, Dec. 2001.
- 225 TARKOWSKI, A. et al. Model systems: modeling human staphylococcal arthritis and sepsis in the mouse. **TRENDS Microbiol**, v.9, n.7, p.321-6, July 2001.
- 226 TIERREZ, A.; GARCÍA-DEL PORTILLO, F. New concepts in *Salmonella* virulence: the importance of reducing the intracellular growth rate in the host. **Cell Microbiol**, v.7, n.7, p.901-9. 2005.

- 227 TRIOLA, M.J. **Introdução à estatística**. 7ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1998. 520p.
- 228 TSANG, C.S.P.; SAMARANAYAKE, L.P. Oral yeasts and coliforms in HIV-infected individuals in Hong Kong. **Mycoses**, v.43, n.7-8, p.303-8, Sept. 2000.
- 229 UENO, M.; JORGE, A.O.C. Cocos Gram-negativos. In: Jorge, A.O.C. **Princípios de Microbiologia e Imunologia**. 1.ed. São Paulo: Livraria Santos Editora Ltda., 2006. Cap.9. p.115-42.
- 230 UENO, M.; JORGE, A.O.C. Cocos Gram-positivos. In: ___. JORGE, A.O.C. **Princípios de microbiologia e imunologia**. São Paulo: Ed. Santos, 2006. Cap.6. p.65-84.
- 231 VAJPAYEE, M. et al. CDC staging based on absolute CD4 count and CD4 percentage in an HIV-1-infected Indian population: treatment implications. **Clin Exp Immunol**, v.141, n.3, p.485-90, Sept. 2005.
- 232 VAN WINKELHOFF, A.J.; RAMS, T.E.; SLOTS, J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. **Periodontol 2000**, v.10, p.45-78, Feb. 1996.
- 233 VELGE, P.; CLOECKAERT, A.; BARROW, P. Emergence of *Salmonella* epidemics: the problem related to *Salmonella enterica* serotype enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. **Vet Res** v.36, n.3, p.267-88, May/June 2005.
- 234 VERONESI, R.; FOCACCIA, R.; LOMAR, A.V. **Retroviroses humanas HIV/AIDS: etiologia, patogenia, patologia clínica, tratamento e prevenção**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 436p.

- 235 VIEIRA, S. **Bioestatística: tópicos avançados**. Rio de Janeiro: Campus, 2003. 228p.
- 236 VILLAÇA, J.H.; MACHADO, A.A. A Aids e suas manifestações orais e periodontais: Revisão de Literatura. **Rev. Assoc. Paul Cir Dent**, v. 58, n.3, p.228-30, maio/jun. 2004.
- 237 VILLAR, C.C; KASHLEVA, H.; DONGARI-BAGTZOGLOU, A. Role of *Candida albicans* polymorphism in interactions with oral epithelial cells. **Oral Microbiol Immunol**, v.19, n.4, p.262-9, Aug. 2004.
- 238 VON EIFF, C.; PETERS, G.; HEILMANN, C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. **Lancet Infect Dis**, v.2, p.677-85, 2002.
- 239 VON EIFF, C.; PROCTOR, R.A.; PETERS, G. Coagulase-negative staphylococci. Pathogens have major role in nosocomial infections. **Postgrad Med**. v. 110, n.4, p.63-76, 2001.
- 240 WACHINO, J. et al. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains producing a novel class A β -lactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. **Antimicrob Agents Chemother**, v.48, n.6, p.1960-7, June 2004.
- 241 WAGNER, V.E. et al. Quorum sensing: dynamic response of *Pseudomonas aeruginosa* to external signals. **TRENDS Microbiol**, v.14, n.2, p.55-8, Feb. 2006.

- 242 WEBB, B.C. et al. *Candida*-associated denture stomatitis. A etiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of *Candida* species in the oral cavity. **Aust Dent J**, v. 43, n.1, p.45-50, Feb. 1998.
- 243 WILLIAMS, D.W.; LEWIS, M.A.O. Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. **Oral Dis**, v.6, p. 3-11, 2000.
- 244 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **AIDS epidemic update**. Dec. 2005. Disponível em: <http://www.who.int/hiv>. Acesso em: 17/01/2005.
- 245 YAMASAKI, O. et al. Clinical manifestations of staphylococcal scalded-skin syndrome depend on serotypes of exfoliative toxins. **J Clin Microbiol**, v.43, n.4, p.1890-3, Apr. 2005.
- 246 YANG, Y.L. Virulence factors of *Candida* species. **J. Microbiol Immunol Infect**, v.36, n.4, p.223-38, Dec. 2003.
- 247 YARWOOD, J.M.; SCHLIEVERT, P.M. Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. **J Clin Invest**, v.112, n.11, p.1620-5, Dec. 2003.
- 248 ZAMBON, J.J.; REYNOLDS, H.S.; GENCO, R.L. Studies of the subgingival microflora in patients with acquired immunodeficiency syndrome. **J Periodontol**, v. 61, n. 11, p. 699-704, 1990.

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

Eu, Graziella Nuernberg Back, cirurgiã - dentista, sob a orientação da Prof. Dr^a. Cristiane Yumi Koga Ito, portadora do CPF 279 285 778 - 10, RG 28 976 210 - 8, CRO 83 558; estabelecida na Rua Benedito Iunes, 223, CEP 12 280-021, na cidade de Caçapava, cujo telefone de contato (12) 3653 4693, irei desenvolver uma pesquisa cujo título é “Presença de *Candida*, *Staphylococcus*, Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal de pacientes HIV positivos”.

O objetivo deste estudo é avaliar a presença de alguns microrganismos na boca (leveduras, estafilococos, enterobactérias e pseudomonas) através da coleta não invasiva de enxágüe bucal e de amostras do sulco gengival em pacientes HIV positivos e soronegativos.

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 Prof^a. Dr^a. Sueli Carvalho 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 “Presença de *Candida*, *Staphylococcus*, Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal de pacientes HIV positivos”, 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

APÊNDICE B – Ficha clínica do grupo de estudo

Nome: _____ N° prontuário: _____

Idade: _____ Sexo: _____ Código de identificação: _____

Local da Coleta: _____ Data: _____ Hora: _____

PRONTUÁRIO MÉDICO

Teste Elisa: _____

Contagem de Linfócito T CD4+: _____ Carga Viral: _____

Terapia anti-retroviral: _____

ANAMNESE- HISTÓRIA MÉDICA

01. Quando foi feito o diagnóstico de HIV? _____

02. Está tomando algum remédio? () Sim () Não Qual? _____

03. Tomou antibiótico ou antifúngico nos últimos 60 dias? () Sim () Não

04. Está grávida? () Sim () Não

07. É diabético? () Sim () Não

14. Precisou alguma vez de transfusão de sangue () Sim () Não

16. Algum destes hábitos?

() Fumo () Dependência química

17. Há alguma outra informação importante sobre sua saúde que não foi perguntado e que deseje comentar? _____

ANAMNESE - HISTÓRIA DENTAL

01. Tem dor, inchaço ou sangramento na gengiva? () Sim () Não

02. Tem dentes “abalados” ? () Sim () Não

03. Já fez tratamento de gengiva? () Sim () Não

04. Já teve herpes ou “sapinho” na boca? () Sim () Não _____

05. Tem ou já teve feridas na boca que demoram para cicatrizar? () Sim () Não

06. Sente a boca seca? () Sim () Não

07. Sente ardência na boca? () Sim () Não

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

EXAME CLÍNICO

Lesões presentes: _____

Prótese: _____ Aparelho ortodôntico: _____

Local da amostra: _____

APÊNDICE C – Ficha clínica do grupo controle

Nome: _____ N° prontuário: _____

Idade: _____ Sexo _____ Código de Identificação: _____

Local da Coleta: _____ Data: _____ Hora: _____

ANAMNESE- HISTÓRIA MÉDICA

01. Está tomando algum remédio? () Sim () Não Qual? _____

02. Tomou antibiótico nos últimos 60 dias? () Sim () Não

03. Está grávida? () Sim () Não

04. É diabético? () Sim () Não

05. Precisou alguma vez de transfusão de sangue () Sim () Não

06. Algum destes hábitos?

() Fumo

() Dependência química

07. Há alguma outra informação importante sobre sua saúde que não foi perguntado e que deseje comentar? _____

ANAMNESE - HISTÓRIA DENTAL

01. Tem dor, inchaço ou sangramento na gengiva? () Sim () Não

02. Tem dentes “abalados” ? () Sim () Não

03. Já fez tratamento de gengiva? () Sim () Não

04. Já teve herpes ou “sapinho” na boca? () Sim () Não _____

05. Tem ou já teve feridas na boca que demoram para cicatrizar? () Sim () Não

06. Sente a boca seca? () Sim () Não

07. Sente ardência na boca? () Sim () Não

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

EXAME CLÍNICO

Lesões presentes: _____

Prótese: _____ Aparelho ortodôntico: _____

Local da amostra: _____

APÊNDICE D – Informações complementares dos grupos HIV e controle.

Tabela 17 – Dados referentes ao grupo HIV (continua)

GRUPO HIV											
Paciente	Idade	Gênero	Contagens de microrganismos								
			C			E			EP		
			CB	SP	CB	CB	SP	CB	CB	EP	SP
1	26	Feminino	760	1077,15	760		1077,15	0			0
2	34	Feminino	2840	100,2	2840		100,2	0			8,35
3	37	Feminino	6080	3206,4	60800		3206,4	160			33,4
4	39	Masculino	1220	50,1	1220		50,1	20			0
5	47	Feminino	200	0	200		0	0			0
6	55	Masculino	1500	0	1500		0	0			0
7	28	Feminino	1860	116,9	1860		116,9	0			0
8	27	Feminino	16680	5611,2	18680		5611,2	0			0
9	22	Masculino	6140	41,75	6140		41,75	1540			58,45
10	30	Masculino	5860	200,4	5860		200,4	16880			83,5
11	50	Masculino	3660	91,85	31200		91,85	140			8,35
12	49	Masculino	1060	91,85	1060		91,85	20			0
13	40	Feminino	80	0	0		0	0			0
14	38	Masculino	0	0	0		0	60			208,75
15	39	Feminino	18880	0	0		0	20			0
16	42	Masculino	12320	0	0		0	0			0
17	47	Feminino	0	0	180		0	2200			58,45
18	29	Feminino	48	0	480		0	0			0
19	41	Masculino	20	0	20		0	20			0
20	32	Feminino	5740	208,75	5740		208,75	620			8,35
21	31	Feminino	0	0	0		0	340			0
22	28	Feminino	1020	0	3660		0	3660			0

Tabela 17 – Dados referentes ao grupo HIV (conclusão)

GRUPO HIV										
Paciente	Idade	Gênero	Contagens de microrganismos							
			C		E				EP	
			CB	SP	CB	SP	CB	SP	CB	SP
23	28	Feminino	3920	459.25	3920	459.25	6940			334
24	35	Masculino	500	0	500	0	5940			242.15
25	47	Masculino	0	0	0	0	6060			25.05
26	47	Masculino	20	0	20	0	9240			41.75
27	31	Masculino	1760	100.2	5940	100.2	1760			58.45
28	44	Feminino	0	0	0	0	0			0
29	25	Feminino	27640	75.15	1080	66.8	1080			66.8
30	41	Feminino	780	0	1600	8.35	1600			68.8
31	24	Masculino	4200	1444.55	1140	0	1140			0
32	35	Feminino	0	0	100	0	100			0
33	33	Masculino	0	0	1240	0	1240			0
34	36	Masculino	0	0	1760	0	1760			0
35	26	Feminino	0	0	1140	0	1140			0
36	64	Masculino	340	0	200	0	200			0
37	36	Feminino	860	0	1260	0	1260			0
38	43	Masculino	2560	0	1980	0	1980			0
39	26	Feminino	560	0	820	0	820			0
40	42	Feminino	2660	0	620	1185.7	620			1185.7
41	66	Masculino	0	0	2620	91.85	2620			91.85
42	36	Masculino	2340	0	9880	75.15	9880			75.15
43	33	Feminino	0	0	1680	0	1680			0
44	35	Masculino	2745	651.3	3860	0	3860			0
45	52	Masculino	0	0	80	0	80			0

C = *Candida* E = estafilococos EP = enterobactérias/pseudomonas CB = cavidade bucal SP = sítios periodontais

APÊNDICE D – Informações complementares dos grupos HIV e controle.

Tabela 18 – Dados referentes ao grupo controle (continua)

GRUPO CONTROLE										
Indivíduos	Idade	Gênero	Contagens de microrganismos							
			C		E		SP		EP	
			CB	SP	CB	SP	CB	SP	CB	SP
46	26	Feminino	160	0	6340	0	3180	0	3180	0
47	37	Feminino	0	0	420	0	1900	0	1900	0
48	36	Feminino	0	0	4160	0	0	0	0	0
49	37	Masculino	0	0	0	0	0	0	0	0
50	47	Feminino	10780	0	460	0	20	0	20	0
51	55	Masculino	220	0	9680	0	60	0	60	0
52	30	Feminino	0	0	6740	0	0	0	0	0
53	25	Feminino	0	0	520	0	0	0	0	0
54	23	Masculino	520	0	3120	108,55	0	0	0	0
55	28	Masculino	140	0	840	0	0	0	0	0
56	53	Masculino	0	0	1520	8,35	0	0	0	0
57	47	Masculino	440	0	5800	16,7	11780	16,7	11780	225,45
58	41	Feminino	2500	0	1380	0	0	0	0	0
59	37	Masculino	60	0	5400	33,4	720	33,4	720	0
60	38	Feminino	0	0	140	8,35	0	8,35	0	0
61	42	Masculino	320	0	680	0	0	0	0	0
62	46	Feminino	0	0	1280	0	40	0	40	0
63	30	Feminino	0	0	80	0	0	0	0	0
64	42	Masculino	2540	16,7	1300	0	0	0	0	0
65	33	Feminino	0	0	280	16,7	0	16,7	0	0
66	34	Feminino	0	0	1380	16,7	20	16,7	20	0
67	28	Feminino	520	308,95	0	0	0	0	0	0

Tabela 18 – Dados referentes ao grupo controle (conclusão)

GRUPO CONTROLE										
Indivíduos	Idade	Gênero	Contagens de microrganismos							
			C		E		EP			
			CB	SP	CB	SP	CB	SP	CB	SP
68	28	Feminino	0	0	220	0	280	0		
69	33	Masculino	35120	0	2200	0	20	0		
70	45	Masculino	80	58.45	1420	0	0	0		
71	44	Masculino	720	0	2100	0	0	0		
72	31	Masculino	0	0	0	0	0	0		
73	47	Feminino	620	0	10340	0	20	0		
74	24	Feminino	0	0	4740	0	0	0		
75	43	Feminino	0	0	2180	0	1420	16.7		
76	23	Masculino	0	0	160	0	40	0		
77	35	Feminino	0	0	40	0	0	0		
78	32	Masculino	0	0	0	0	0	0		
79	36	Masculino	60	0	980	8.35	6160	283.9		
80	23	Feminino	2540	91.85	2380	25.05	20	0		
81	64	Masculino	0	0	2360	25.05	120	0		
82	34	Feminino	320	0	160	0	200	0		
83	41	Masculino	0	0	240	0	0	0		
84	26	Feminino	520	8.35	580	16.7	0	0		
85	46	Feminino	0	0	0	0	80	0		
86	66	Masculino	0	0	1660	25.05	100	0		
87	32	Masculino	300	0	1460	158.65	0	0		
88	34	Feminino	0	0	0	0	0	0		
89	32	Masculino	0	0	1340	0	0	0		
90	54	Masculino	2040	0	7960	125.25	1160	0		

C = *Candida* E = estafilococos EP = enterobactérias/pseudomonas CB = cavidade bucal SP = sítios periodontais

BRITO, G.N.B. **Presence of *Candida*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonadaceae* in the oral cavity of HIV positive patients.** 2006. 159f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de Concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

ABSTRACT

*Changes in the oral microflora may occur during the occurrence of systemic diseases and during their treatment leading to superinfections. Oral reservoirs of potential pathogens, such as enteric bacteria, staphylococci and Candida, may cause oral or systemic diseases and threaten the life of immunocompromised patients. In this way, the aim of this study was to evaluate the presence of microorganisms of Candida and Staphylococcus genus and *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonadaceae* families in the oral cavity and periodontal sites of HIV positive patients. Forty-five HIV positive patients and 45 systemically healthy individuals with similar profile in relation to HIV positive ones were included. Oral rinses and samples from the periodontal sites were collected and the evaluation of microorganisms prevalence and phenotypic identification of the isolates were performed. Counts of microorganisms of HIV and control groups were compared statistically by Mann-Whitney (5%). Candida genus yeasts and enteric bacteria and/or pseudomonas were detected in significantly higher number in the oral cavity and periodontal sites of HIV positive patients in relation to the controls, and C. albicans and Enterobacter cloacae were the prevalent species in both the groups. No statistically significant difference between the staphylococci counts of the studied groups was observed. The presence of microorganisms in the oral cavity and periodontal sites of HIV patients were evaluated in relation to CD4+ cells counts and viral load by ANOVA Kruskal-Wallis test (5%). Counts of enteric bacteria and pseudomonas were significantly lower in the oral cavity of patients with low counts of CD4+ cells. Candida spp. and Staphylococcus spp. counts were lower in the oral cavity of patients with low viral load. Counts of microorganisms between HIV-positive smokers and not-smokers patients were compared (Mann-Whitney, 5%) and no statistically significant differences were observed. It could be concluded that HIV group presented higher prevalence of Candida spp. and *Enterobacteriaceae*/*Pseudomonadaceae* and higher diversity of species in relation to the control group.*

Key Words: HIV; Acquired immunodeficiency Syndrome; infection; bacteria; yeasts.