

CLAUDIO MARANHÃO PEREIRA

**QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE *CANDIDA sp*  
NA SALIVA DE PACIENTES HEMOFÍLICOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba, da Universidade  
Estadual de Campinas, para obtenção de grau de  
Mestre em Estomatopatologia

PIRACICABA  
2002

CLAUDIO MARANHÃO PEREIRA

**QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE *CANDIDA SP*  
NA SALIVA DE PACIENTES HEMOFÍLICOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba, da Universidade  
Estadual de Campinas, para obtenção de grau de  
Mestre em Estomatopatologia

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Di Hipólito Júnior

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior

Profa. Dra. Maria de Lourdes Rios Barjas Castro

Prof. Dr. Osvaldo Di Hipólito Júnior

PIRACICABA

2002

### Ficha Catalográfica

P414q      Pereira, Claudio Maranhão.  
Quantificação e identificação de *Candida sp* na saliva de  
pacientes hemofílicos. / Claudio Maranhão Pereira. -- Piracicaba,  
SP : [s.n.], 2002.  
xviii, 113p. : il.

                 Orientador : Prof. Dr. Osvaldo Di Hipólito Júnior.  
                 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas,  
                 Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

                 1. *Candida albicans*. 2. Leveduras. 3. Sangue. I. Di Hipólito  
                 Júnior, Osvaldo. II. Universidade Estadual de Campinas.  
                 Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da  
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

*Dedico este trabalho aos meus pais, Adolfo e Cândida e aos meus irmãos, Luciana e André. Vocês que, mesmo a distância, sempre me apoiaram e incentivaram, foram fundamentais para que eu atingisse mais esse objetivo. Vocês fazem com que essa vitória seja ainda mais gratificante.*

*Este trabalho e toda minha vida  
dedico aos responsáveis por hoje eu  
estar aqui. A Deus e aos meus pais.  
Muito obrigado.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, da Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury, Coordenadora dos Cursos de Pós-Graduação e do Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas, atual Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Estomatopatologia.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos que permitiu a realização desse trabalho e do curso de Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Di Hipólito Júnior, pela orientação e ensinamentos que contribuíram muito na minha formação científica.

Ao Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida, por todas oportunidades concedidas a mim, pela confiança depositada em meu trabalho e por todos ensinamentos. Você teve papel imprescindível na minha formação acadêmica, científica e como ser humano.

Ao amigo e mestre Fábio Ramoa Pires, por seus ensinamentos, orientação, apoio e principalmente amizade. Boa parte de minha formação profissional e de minha tese devo a você.

Aos Professores da Área de Patologia e Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, Jacks J. Júnior, Márcio A. Lopes e Ricardo D. Colleta, pelos ensinamentos e amizade.

A Mestre Maria Elvira P. Corrêa, chefe do Serviço de Odontologia do Hemocentro/UNICAMP, por toda colaboração, apoio e amizade.

Aos médicos do Hemocentro/UNICAMP, Prof. Dr. Cármino A. Souza, Profa. Dra. Joyce M. A-Bizzacchi, Dra. Margareth Ozelo e Dra. Maria de Lourdes Rios B. Castro, pelo apoio, confiança e por meu livre acesso às dependências de seus Departamentos.

Aos funcionários da área de Patologia e Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, Ana Cristina, Maria Helena, Adriano, João, Rosa Maria, Aparecida e Rosa Scalco, pelo apoio e auxílio.

Aos amigos e colegas do Curso de Pós-Graduação em Estomatopatologia, Danyel, Paulo Faria, Ana Lúcia, Karina, Marcelo, Karininha, Paulo Bonan, Paola, Roberto, Fábio Alves, Eduardo, Francisco, Lucinei, Fábio Ornelas, Fábio Ito, Sílvia, Andresa, Luciana, Ademar, Dawton, Estela e Júnior e ainda as amigas e ex-colegas do curso, Addah, Renatinha e Cristina, por toda amizade, companheirismo e risadas. Com vocês o curso se tornou bem mais fácil e agradável.

A todos funcionários, amigos e colegas do Hemocentro/UNICAMP e do HC/UNICAMP, e em especial a amiga Patrícia Gasparetto por toda cooperação, apoio e paciência. Vocês tornaram as viagens para Campinas mais prazerosas e proveitosas.

Aos meus queridos amigos Neto, Sicknan e Tessa que sempre me apoiaram e incentivaram, me dando força para enfrentar e vencer o desafio de um curso de Pós-Graduação e de uma nova cidade tão distante da nossa.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	1
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	2
<b>RESUMO</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	5
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	6
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	9
2.1. <i>Candida sp</i> .....	9
2.2. Hemofilia.....	28
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	43
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	44
4.1. Característica dos grupos avaliados.....	44
4.2. Coleta de saliva e fluxo salivar.....	45
4.3. Quantificação (isolamento e contagem) de <i>Candida</i> .....	46
4.4. Identificação das espécies de <i>Candida</i> .....	48
4.4.1. Formação do tubo germinativo.....	48
4.4.2. Produção de clamidoconídeos.....	49
4.4.3. Fermentação de Carboidratos (Zimograma).....	50
4.4.4. Assimilação de Carboidratos (Auxanograma).....	51
4.5. Análise Estatística.....	52

<b>5. RESULTADOS</b> .....	53
5.1 Característica gerais dos grupos avaliados .....	53
5.2. Características próprias do grupo hemofílico .....	55
5.3. Fluxo salivar.....	57
5.4. Quantificação de <i>Candida</i> .....	59
5.5. Especificação de <i>Candida</i> .....	64
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	67
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	80
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	81
<b>ANEXO</b> .....	102

**LISTA DE ABREVIATURAS**

*Candida* – C.

CD – cluster de diferenciação

CMV – citomegalovirus

CPOD – dentes cariados, perdidos e obturados

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay

HBV – vírus da hepatite tipo B

HCV – vírus da hepatite tipo C

HIV – vírus da imunodeficiência humana

IG – índice gengival

IgA – imunoglobulina A

IgG – imunoglobulina G

IgM – imunoglobulina M

IP – índice periodontal

mg – miligrama (s)

min – minuto (s)

ml – mililitro (s)

NaCl – cloreto de sódio

PAS – ácido periódico Schiff

pH – potencial hidrogeniônico

UFC – unidade formadora de colônia



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Distribuição dos pacientes quanto ao fluxo salivar .....	58
TABELA 1 - Características demográficas dos pacientes (n = 129) do grupo controle e grupo hemofílico .....	53
TABELA 2 - Distribuição dos pacientes (n = 129) do grupo controle e grupo hemofílico quanto ao tabagismo, etilismo, uso de prótese, uso de medicamento e alteração bucal .....	54
TABELA 3 - Distribuição geral dos 86 pacientes quanto ao tipo de hemofilia .....	55
TABELA 4- Distribuição dos pacientes (n = 29) quanto ao estado sorológico associado ao tipo de hemofilia .....	56
TABELA 5 - Distribuição dos pacientes (n = 125) do grupo controle e hemofílico quanto ao fluxo salivar .....	58
TABELA 6 - Distribuição dos pacientes (n = 86) quanto ao tipo de hemofilia associado ao fluxo salivar .....	59
TABELA 7 - Distribuição categorizada e média de UFCs dos pacientes (n = 129) hemofílicos e controle quanto a presença de <i>Candida</i> .....	60
TABELA 8 - Distribuição categorizada dos pacientes hemofílicos (n = 86) quanto a contagem e médias de UFC.....	61
TABELA 9 - Distribuição dos pacientes hemofílicos (n = 29) quanto a contagem de UFCs em relação ao estado sorológico .....	62

TABELA 10 - Distribuição categorizada dos pacientes hemofílicos (sem a presença de contaminação viral) quanto à presença de <i>Candida</i> .....	63
TABELA 11 - Distribuição categorizada dos pacientes hemofílicos (excluindo os que utilizam prótese dentária, portadores de alterações bucais e/ou com fluxo salivar reduzido) quanto à presença de <i>Candida</i> .....	64
TABELA 12 - Distribuição das espécies de <i>Candida</i> encontradas nos pacientes do grupo controle (n = 19) .....	65
TABELA 13 - Distribuição das espécies de <i>Candida</i> encontradas nos pacientes hemofílicos (n = 55).....	65
TABELA 14 - Distribuição dos pacientes hemofílicos (n = 86) quanto à presença das espécies de <i>Candida</i> .....	66

## RESUMO

*Candida* tem sido encontrada na cavidade bucal de 20-50% dos indivíduos saudáveis e *C. albicans* é a espécie mais comum. A hemofilia é uma desordem hemorrágica causada por falha no mecanismo de coagulação do sangue. Pouco se sabe em relação a microbiota bucal dos pacientes hemofílicos. O objetivo deste estudo foi quantificar a presença de *Candida* e identificar as espécies deste gênero na saliva de pacientes hemofílicos e correlacionar os dados encontrados com fatores que possam influenciar sua quantificação. Foram avaliados 86 pacientes hemofílicos atendidos no HEMOCENTRO/UNICAMP e 43 pacientes controle, sem alterações sistêmicas, atendidos no Serviço de Triagem da Disciplina de Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP através de anamnese, exame físico e coleta de saliva. Do total, 64% dos pacientes hemofílicos apresentaram *Candida* na cavidade bucal comparados a 44% dos pacientes do grupo controle. *C. albicans* representou 65% das espécies isoladas e *C. tropicalis* foi a segunda espécie mais frequente. Não houve correlação entre a presença de *Candida* e o fluxo salivar, presença de lesões bucais ou outros fatores que pudessem influenciar sua quantificação. Pacientes hemofílicos apresentaram *Candida* na cavidade bucal com maior frequência que indivíduos do grupo controle, entretanto não apresentaram maior prevalência de candidose .



**ABSTRACT**

*Candida* has been found in the oral cavity of 20 to 50% of healthy subjects and *C. albicans* is the most common species. Haemophilia is a hemorrhagic disorder caused by failure of the blood clotting mechanism. Few data is available regarding oral microflora in hemophilic patients. The aim of this study was to quantify the presence of *Candida* and identify its species in saliva of hemophilic patients. Eighty-six hemophilic patients from the HEMOCENTRO/UNICAMP and forty-three health subjects from Semiology's Area of the School of Dentistry of Piracicaba/UNICAMP were evaluated through anamnesis, physical examination and salivary samples. Out of, hemophilic patients 64% had *Candida* in the oral cavity, as opposed to 44% in the control group. *C. albicans* was 65% of the isolates and *C. tropicalis* was the second most frequent specie. There was no correlation between the presence of *Candida* and salivary flow, presence of oral lesions or other factors known to influence *Candida* carriage. The results suggested that hemophilic patients have *Candida* in the saliva more frequently than healthy subjects. However they do not have higher prevalence of candidosis.



## 1. INTRODUÇÃO

A hemofilia é uma desordem hemorrágica causada por falha no mecanismo de coagulação do sangue, em virtude da deficiência genético-hereditária do Fator VIII ou Fator IX, que caracterizam respectivamente as hemofilias A e B (HOYER, 1994; MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001).

A hemofilia A é causada pela redução da quantidade ou atividade do Fator VIII, uma proteína importante na ativação do Fator X da cascata de coagulação. A doença apresenta um padrão de transmissão hereditário recessivo ligado ao cromossomo X, afetando principalmente homens. A apresentação clínica revela grande variação, a qual está relacionada com o grau de atividade do Fator VIII. Desta forma a doença é graduada em leve (6 a 30% de atividade), moderada (2 a 5% de atividade) e grave (menos de 1% de atividade). Em todos os casos há forte tendência ao sangramento após trauma ou procedimentos cirúrgicos podendo, no entanto, em alguns pacientes ocorrer quadro de sangramento espontâneo (HOYER, 1994; MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001; KATHERINE, 2001).

A hemofilia B é caracterizada pela deficiência do Fator IX e, assim como a hemofilia A, sua transmissão é determinada pela herança ligada ao cromossomo X. A apresentação clínica da desordem manifesta-se de forma indistinguível à

hemofilia A, e a variação clínica também está relacionada aos níveis de atividade do fator, que classifica o paciente em três graus de severidade: leve, moderada e grave (HOYER, 1994).

Os hemofílicos, do ponto de vista odontológico, necessitam de cuidados especiais. Alguns procedimentos como técnicas anestésicas, terapia periodontal, exodontias e cirurgias bucais menores são realizados com alterações técnicas, reposição do fator de coagulação deficiente na cascata de coagulação ou aplicação de cola de fibrina autóloga ou comercial.

Espécies do gênero *Candida* têm sido encontradas na cavidade bucal de 25 a 50% dos indivíduos saudáveis (CANNON *et al.*, 1995) e *C. albicans* apresenta-se como o patógeno mais comum, constituindo 60 a 90% das espécies isoladas na população em geral (ARENDORF & WALKER, 1979; PAULA *et al.*, 1990; BLAIR *et al.*, 1995, KOGA-ITO, 1997; KINDELAN *et al.*, 1998). Embora a incidência seja influenciada pela sensibilidade dos métodos de detecção, a disparidade entre os estudos reflete diferenças quanto a idade e gênero dos pacientes, presença de próteses, aparelhos ortodônticos, hábito de tabagismo, presença de cárie, condição periodontal e higiene bucal deficiente da população estudada, assim como tamanho da amostra. Além destes fatores, deficiências imunológicas congênitas ou adquiridas e o uso de medicamentos, influenciam a incidência de *Candida* (STENDERUP 1990, FOTOS *et al.*, 1991).

Os pacientes hemofílicos têm sido alvo de estudos na área de odontologia principalmente relacionados a saúde bucal e manejo dental. Entretanto, pouco se sabe em relação a microbiota bucal destes pacientes, que podem sofrer modificações por medicações administradas e ter seu estado imunológico alterado em consequência da contaminação por vírus, como o da hepatite tipo B (HBV), da hepatite tipo C (HCV) e/ou da imunodeficiência adquirida (HIV), devido a frequente administração de hemoderivados. Desta forma, não havendo relatos na literatura sobre a avaliação da presença de *Candida* em pacientes hemofílicos até o presente momento, nos propusemos a quantificar a presença de *Candida* e identificar as espécies deste gênero na saliva destes pacientes.



## 2. REVISTA DA LITERATURA

### 2.1. *Candida sp*

Leveduras são fungos unicelulares usualmente arredondados que se reproduzem por brotamento, originando blastóporos. Algumas leveduras transformam-se em um estágio micelial sob certas condições ambientais, enquanto outras permanecem sempre unicelulares. As leveduras perfeitas são incluídas na classe *Ascomycetes*, subclasse *Hemiascomycetes*, ordem *Endomycetales*, e as leveduras imperfeitas na classe *Deuteromycetes*, ordem *Moniliales*, família *Cryptococcaceae*, sendo algumas destas patogênicas ao homem (OLIVEIRA, 1999). Cerca de 56 gêneros e 500 espécies já foram isoladas e um crescente número vem sendo relatado. Na cavidade bucal já foram isolados 25 gêneros e 167 espécies, sendo somente 10 gêneros e 40 espécies consideradas patogênicas ao homem (STENDERUP, 1990; LYNCH, 1994).

As leveduras mais comuns na cavidade bucal e em outras superfícies mucosas são do gênero *Candida*, que compreende cerca de 200 espécies distribuídas na natureza, todas assexuadas e dimórficas, das quais algumas espécies podem viver

como saprófitas comensais ou parasitas no homem (KREGGER-van RIJ, 1984; MacFARLANE & SAMARANAYAKE 1989; FOTOS *et al.*, 1991).

*Candida* tem sido isolada em vários sítios orgânicos, como ânus (39%), boca (37%), pele (17%) e vagina (13%) (ODDS, 1984). Pode ser encontrada em todos os tecidos, à exceção dos cabelos, e especialmente no trato gastrointestinal, e ser eliminada pela urina, fezes e secreções brônquicas (BERGENDAL *et al.*, 1979; LYNCH, 1994). Na cavidade bucal são encontradas principalmente no dorso da língua, onde as papilas filiformes e reentrâncias, como o forame cego e fissura mediana, servem de sítios que fornecem proteção e meio ambiente favorável para o desenvolvimento de infecção. Além do dorso da língua, *Candida* pode ser encontrada em outros sítios na cavidade bucal, como palato duro e mucosa jugal (ARENDORF & WALKER 1980).

Segundo FOTOS *et al.* (1991), diversos fatores levam a variação no isolamento de *Candida* em pacientes saudáveis. Dentre eles podemos ressaltar os diferentes métodos de coleta, origem das amostras, meio de cultura, grupos de pacientes estudados e métodos de análise. A levedura mais comum e também mais virulenta é *C. albicans*, representando mais da metade do total dos fungos isolados. Quando a fonte utilizada é a saliva total, o isolamento de leveduras varia de 25 a 71% em pessoas saudáveis e *C. albicans* participa com 4 a 62% do total (STENDERUP 1990, FOTOS *et al.*, 1991). Em indivíduos saudáveis, *Candida* está presente na cavidade bucal em cerca de 15% dos recém-nascidos, 50% dos infantes

com 1 a 18 meses de idade, 10% das crianças e cerca de 20% dos adultos (LYNCH, 1994).

*Candida* são microorganismos Gram +, que podem ser encontrados na forma de leveduras, apresentando-se como células globosas, ovaladas, alongadas, ou micélio, com suas células apresentando-se como filamentos, denominados pseudo-hifas, podendo também formas hifas verdadeiras (LACAZ *et al.*, 1998; WEBB *et al.*, 1998). Em ágar Sabouraud, *C. albicans* apresenta-se como colônias brancas ou braco-amareladas, com diâmetro de 4 a 8 mm, úmidas e cremosas e com odor característico. Em microcultivo em ágar fubá produz estruturas esféricas características denominadas clamidoconídeos, vesículas de paredes espessas que não germinam e não produzem esporos. A identificação das espécies de *Candida* é feita através do microcultivo em ágar fubá, para observação dos clamidoconídeos, semeadura em soro à 37° para observação da produção de tubos germinativos e provas bioquímicas para fermentação e assimilação de açúcares (SANDVÉN, 1990; WEBB *et al.*, 1998). Meios cromogênicos, kits comerciais e caracterização dos fungos por análise de DNA também têm sido utilizados para identificação das diferentes espécies de cepas (ASHMAN & PAPADIMITRIOU, 1990; SANDVÉN, 1990; KINDELAN *et al.*, 1998).

Após a epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), a incidência de infecções por leveduras aumentou, sendo que muitas espécies tidas como não patogênicas têm sido relatadas como causadoras de doença em seres

humanos (SANDVÉN, 1990). *Candida* pode ser transmitida de pessoa para pessoa por contato íntimo e relações sexuais (ODDS, 1984; SANGEORZAN *et al*, 1994; DARWAZEH & AL-BASHIR, 1995), entretanto, a maioria das infecções, parecem ser causadas por leveduras endógenas (ODDS, 1984; FOTOS *et al*, 1991).

Diversas são as espécies de *Candida* que podem viver como saprófitas comensais ou parasitas patogênicos nos seres humanos. Entre elas podemos destacar *C. albicans*, *C. catenulada*, *C. dattila*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*, *C. stelatoidea*, *C. viswanathii*, *C. tropicalis* e *C. zeylanoides* (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1990; STENDERUP, 1990; LYNCH, 1994). Segundo FOTOS *et al*. (1991), apesar do isolamento de numerosas espécies de *Candida* na mucosa bucal e vaginal, apenas um pequeno número delas é responsável pela maioria das infecções.

*C. albicans* é a espécie mais comum na cavidade bucal, constituindo 60 a 90% das espécies, podendo ser isolada a partir de crianças e adultos saudáveis ou portadores de candidose, incluindo usuários de próteses, indivíduos HIV positivos, pacientes submetidos a radioterapia e portadores de doenças que afetam as glândulas salivares, como a síndrome de Sjögren (ARENDORF & WALKER, 1979; PAULA *et al.*, 1990; BLAIR *et al.*, 1995, KOGA-ITO, 1997; KINDELAN *et al.*, 1998). CANNON *et al.*(1995), demonstraram que as leveduras mais encontradas além da *C. albicans*, foram *C. glabrata* (7%), *C. tropicalis* (7%), *C. krusei* (5%), *C. parapsilosis* (5%) e *C. guilliermondii* (5%).

A virulência do *Candida* está associada principalmente com sua capacidade de aderência às células epiteliais. Isto se dá principalmente pela interação das adesinas dos microorganismos e receptores nas células epiteliais. A aderência é necessária para a colonização inicial e contribui para a persistência da *Candida* no hospedeiro. Sem se aderir, a taxa de crescimento do fungo é insuficiente para mantê-lo na boca ou trato gastrointestinal. Esta aderência pode ser mediada e facilitada por xerostomia, carboidratos, receptores epiteliais, fibronectinas, tipos específicos de queratina ou mesmo bactérias (FOTOS *et al.*, 1991; JORGE *et al.*, 1993). *C. albicans* apresenta uma maior capacidade de aderência às células epiteliais e outras superfícies, o que pode estar relacionado com sua maior patogenicidade, quando comparada as outras espécies de *Candida* (KIMURA & PEARSAL, 1978). Outro fator associado a maior capacidade de causar infecção da *C. albicans* pode ser sua alta diversidade genética (SLUTSKY *et al.*, 1985; SANGEORZAN *et al.*, 1994).

*C. albicans* pode se apresentar sob uma forma exclusiva que lhe dá maior capacidade de aderência às células epiteliais e ao acrílico de próteses dentárias. Esta forma é denominada de tubo germinativo o que lhe propicia o aumento da capacidade invasiva às células do hospedeiro (KIMURA & PEARSAL, 1980). Esta mesma espécie é produtora de numerosas enzimas, entre elas fosfolipase, lipase, fosfomonoesterase, hexosaminidases e pelo menos três proteinases aspárticas (ALLEN & BECK, 1987; KWON-CHUNG & BENNETT, 1992). Estas enzimas favorecem sua implantação e penetração no tecido e amostras com atividade

fosfolipásica aumentada aderem-se mais fortemente às células epiteliais bucais, aumentando sua patogenicidade (BARRET-BEE *et al.*, 1985).

Em indivíduos imunologicamente saudáveis, os mecanismos de defesa do hospedeiro são suficientes para prevenir infecções pela *Candida* (HEIMDAHL & NORD, 1990). A saúde bucal é dependente da integridade da mucosa. A presença de microbiota bucal estabelecida nas superfícies bucais também é importante, pois inibe a colonização de *Candida* como resultado da competição por nutrientes ou possivelmente bloqueando receptores da superfície das células epiteliais. Fatores não imunológicos, como a contínua descamação das células epiteliais, podem limitar a aderência do fungo e a consequente infecção (CHALLACOMBE, 1994).

A imunidade contra *Candida* é dada pela imunidade secretora nas mucosas caracterizada pelas imunoglobulinas secretadas na saliva, associada a imunidade celular quando o microrganismo invade o tecido, através da possível ação das células de Langerhans, células T supressoras, macrófagos e neutrófilos (CHALLACOMBE, 1994).

A candidose faz parte de um grupo de doenças de interesse particular, nas quais ambos os sistemas imunes, humoral e celular, estão envolvidos na manutenção da saúde bucal. A indução da formação de anticorpos anti-*Candida* pode ser desencadeada pela imunização local na saliva ou através da estimulação do tecido linfóide associado ao trato gastrointestinal (CHALLACOMBE, 1994). A imunidade à *Candida* na cavidade bucal inclui mecanismos específicos e inespecíficos de

defesa. O sistema inespecífico é representado basicamente pela saliva, a qual, além de conter fatores antimicrobianos como lisozima, lactoperoxidasas, polipeptídeos ricos em histidina, calprotectinas, lactoferrina, IgA secretora, histatinas, mucinas, células fagocitárias e outras glicoproteínas salivares, mantém o equilíbrio ecológico bucal, previne a aderência microbiana aos tecidos por meios mecânicos, imunológicos e humorais, agindo também através da capacidade tampão e do fluxo salivar (PARVINEN & LARMAS, 1981; OKSALA, 1990; CHALLACOMBE, 1994; NÄRHI *et al.*, 1994; VISSINK *et al.*, 1996; YEH *et al.*, 1997).

A IgA anti-*Candida* parece ocupar receptores da superfície dos fungos, causando sua agregação, inibindo sua aderência às células da mucosa bucal e a produção de enzimas e, conseqüentemente, sua colonização e crescimento. A produção de IgA-proteinases por algumas espécies e cepas específicas de *Candida* parece relacionar-se à sua maior patogenicidade (EPSTEIN *et al.*, 1982; VUDHICHAMNONG *et al.*, 1982; HEIMDAHL & NORD, 1990; FOTOS *et al.*, 1991).

As técnicas mais utilizadas para detecção de anticorpos são as reações de imunofluorescência e ELISA. Estas permitem identificar os isótipos dos anticorpos, sendo que a utilização de antígeno citoplasmático e técnica ELISA parecem ser as mais confiáveis. A pesquisa de IgA anti-*Candida* na superfície das células fúngicas ou na saliva são importantes no diagnóstico das candidoses (UNTERKIRCHER *et al.*, 1983; POLONELLI *et al.*, 1991).

Ainda não está claro porque alguns pacientes são portadores de *Candida* e outros não, entretanto fatores nutricionais, interação com a microbiota bacteriana e presença de anticorpos específicos na saliva parecem ser relevantes (STENDERUP, 1990). Nos recém-nascidos a origem do fungo parece ser o trato vaginal materno durante o parto e alimentos ou objetos contaminados levados à boca. No entanto, nas primeiras semanas há certa proteção conferida pelas imunoglobulinas da mãe transferidas ao recém-nascido através da placenta ou do leite (RUSSEL & LAY, 1973; DARWAZEH & AL-BASHIR, 1995). Em crianças, a presença de *C. albicans* na cavidade bucal é de 5% a 7% nas primeiras horas após o nascimento, 14% após a primeira semana, 50% nas crianças com menos de 1 ano de idade, cerca de 49% nas crianças entre 3 e 5,5 anos e 65% das crianças de 6 a 12 anos (LAY & RUSSEL, 1977; BERDICEVSKY *et al.*, 1984; DARWAZEH & AL-BASHIR, 1995; KOGA-ITO, 1997). Em pacientes hospitalizados, *C. albicans* é isolada em valores superiores a 80%, atingindo índices semelhantes aos encontrados em pacientes HIV-positivos e com AIDS (FRANKER *et al.*, 1990; WILKIESON *et al.*, 1991).

Candidose é a infecção oportunista mais comum da cavidade bucal de humanos, e a simples presença de leveduras não é sinônimo de doença. Para que haja candidose deve ocorrer desequilíbrio no sistema de defesa do hospedeiro, e a presença de fatores predisponentes locais e sistêmicos, que facilitem ao fungo a proliferação e ataque aos tecidos bucais (ASHAM & PAPADIMITRIOU, 1990; ALLEN, 1992). A transformação de *Candida* de sua forma comensal para forma

parasitária deve-se à fatores microbianos, ambientais e individuais. Algumas condições e fatores têm sido relacionados à passagem da forma comensal para quadros de candidose, no entanto mesmo altas contagens de *Candida* não indicam necessariamente sinais clínicos de candidose (STENDERUP, 1990).

O fluxo salivar reduzido é um dos fatores mais citados e contribui para a proliferação das colônias de *Candida* pela alteração do equilíbrio da microbiota bucal, causado pela redução da autolimpeza e dos componentes antimicrobianos salivares como lisozima, lactoferrina, sistema de lactoperoxidase e glicoproteínas salivares (PARVINEN & LARMAS, 1981; OKSALA, 1990; FOTOS *et al.*, 1992). Doenças que afetam as glândulas salivares como a Síndrome de Sjögren, podem elevar a frequência de infecções e as contagens de *Candida*, não só pela alteração da glândula, mas por afetar o sistema de defesa celular e humoral. Também é possível que ocorram alterações qualitativas na saliva destes pacientes (REICHL, 1990; FOTOS *et al.*, 1991).

A radioterapia abrangendo a região facial, além da redução do fluxo salivar, pode provocar mucosites, favorecendo a colonização de *Candida* (ROSSIE *et al.*, 1987; EPSTEIN *et al.*, 1993)

O termo xerostomia usualmente refere-se à queixa subjetiva ou sensação de boca seca, enquanto hipossalivação ou redução no fluxo salivar são expressões mais utilizadas para indicar diminuição efetiva, comprovada por mensuração do fluxo salivar (SREEBNY & VALDINI, 1987; NAVAZESH *et al.*, 1992; NÄRHI,

1994; BILLINGS *et al.*, 1996; NEDERFORS *et al.*, 1997). Pacientes com queixa de xerostomia podem não apresentar diminuição efetiva do fluxo salivar. Outros, no entanto, com hipossalivação podem não apresentar queixa de xerostomia, mas o fluxo salivar pode estar diminuído em até 50% antes que a sensação de xerostomia ocorra (DAWES, 1987; HANDELMAN *et al.*, 1989; GILBERT *et al.*, 1993; NARHI, 1994; BILLINGS *et al.*, 1996; VISSINK *et al.*, 1996; NEDERFORS *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 1998).

Estudos têm mostrado que cerca de 10 a 50% dos pacientes adultos e idosos podem apresentar queixa de xerostomia (OSTERBERG *et al.*, 1984; JORGE *et al.*, 1991; GILBERT *et al.*, 1993; NÄRHI, 1994; SAMARANAYAKE *et al.*, 1995; BILLINGS *et al.*, 1996; VISSINK *et al.*, 1996; NEDERFORS *et al.*, 1997). Têm sido sugerida correlação entre as queixas de xerostomia e o aumento da idade, com pacientes do sexo feminino principalmente, com o número de drogas potencialmente xerostômicas utilizadas pelos pacientes, com a respiração bucal e com o grau de desidratação do paciente (PARVINEN & LARMAS, 1982; NARHI *et al.*, 1992; GILBERT *et al.*, 1993; NARHI, 1994; NEDERFORS *et al.*, 1997).

Muito embora as queixas de xerostomia sejam mais comuns em pacientes mais idosos, diferenças significativas entre o fluxo salivar obtido de grupos etários diferentes não têm sido encontradas (PARVINEN & LARMAS, 1982; VISSINK *et al.*, 1996).

A variabilidade do fluxo salivar entre indivíduos, e na mesma pessoa em

diferentes períodos do dia, dificulta o estabelecimento do fluxo salivar padrão ou normal e a definição do valor a partir do qual o paciente deve ser considerado xerostômico (GILBERT *et al.*, 1993; WANG *et al.*, 1998). Para o fluxo salivar total não estimulado, os valores de fluxo normal situam-se próximos de 0,3 a 0,4 ml/min, e os valores de hipossalivação situam-se abaixo de 0,2 ou 0,1 ml/min (SREEBNY & VALDINI, 1987; EDGAR, 1992; EPSTEIN & SCULLY, 1992; NARHI *et al.*, 1993; NÄHRI, 1994). NAVAZESH *et al.* (1992) sugerem que valores de fluxo salivar em mg/min ou em ml/min podem ser utilizados, pela proximidade de equivalência entre ambos.

O fluxo salivar não estimulado é um indicador da taxa constante de secreção das glândulas, e como estas funcionam durante todo dia, ao menos com uma taxa basal, a saliva total não estimulada parece ser a mais indicada para a avaliação geral da capacidade salivar e correlação com os sintomas de xerostomia (NEDERFORS, 1993; WANG *et al.*, 1998).

As diferenças com relação ao fluxo salivar não estimulado entre pacientes de diferentes faixas etárias são mais discretas ou inexistentes quando analisamos o fluxo salivar estimulado, sugerindo que, embora pareça existir diminuição do fluxo salivar em idosos, a função das glândulas salivares, através de sua capacidade de reserva, não é alterada significativamente, e estas podem responder com aumento no fluxo quando devidamente estimuladas (BEN-ARYEH *et al.*, 1984; VISSINK *et al.*, 1996).

Diversas causas podem estar relacionadas à disfunção das glândulas salivares, com conseqüente diminuição de sua função, levando à redução do fluxo salivar (SCHUBERT & IZUTSU, 1987). Dentre estas, a relação entre diversos medicamentos e seu potencial em induzir hipossalivação têm sido amplamente discutida na literatura (GRAD *et al.*, 1985; HANDELMAN *et al.*, 1989; SREEBNY *et al.*, 1989; NÄRHI *et al.*, 1992; NÄRHI, 1994). Cerca de 400 medicamentos já foram relacionados à redução no fluxo salivar, incluindo principalmente drogas anorexiantes, anti-convulsivantes, anti-histamínicas, anti-colinérgicas, anti-psicóticas, relaxantes musculares, anti-hipertensivas, diuréticas, psicotrópicas (especialmente anti-depressivos tricíclicos), anti-parkinsonianas, anti-arrítmicas, e ansiolíticas (SREEBNY & SCHWARTZ, 1986; SCHUBERT & IZUTSU, 1987; MILLER *et al.*, 1992; GILBERT *et al.*, 1993; LUCAS, 1993). Outros fatores e condições incluem a síndrome de Sjögren, radioterapia na região de cabeça e pescoço e a síndrome da queimação de boca (SREEBNY & VALDINI, 1987; NÄRHI, 1994).

A utilização de medicamentos aumenta com a idade, e as mulheres parecem utiliza-los mais frequentemente que os homens e em maior quantidade (MILLER *et al.*, 1992). Existem variações quanto à sensibilidade das diferentes glândulas salivares, incluindo parótidas, submandibulares, sublinguais e glândulas menores às drogas (WU & SHIP, 1993). A composição inorgânica da saliva não parece ser afetada pela diminuição do fluxo salivar, embora a composição orgânica

possa apresentar alterações, diminuindo sua capacidade de defesa, principalmente pela redução na secreção de IgA (SMITH *et al.*, 1992; LUCAS, 1993; BILLINGS *et al.*, 1996; VISSINK *et al.*, 1996).

A hipossalivação pode se refletir na prevalência e gravidade de algumas doenças bucais, alterações na microbiota e no padrão de crescimento de alguns microorganismos, alterações no paladar e no hálito, queixas quanto a mastigação, deglutição e fala, e causar intenso desconforto aos pacientes, inclusive com relação às próteses dentárias (SREEBNY & VALDLNI, 1987; WRIGHT, 1987; GILBERT *et al.*, 1993; MEURMAN & RANTONEN, 1994; NAVAZESH *et al.*, 1995).

Ainda sobre os fatores locais, há uma certa unanimidade dos autores em afirmar que o uso de próteses, em especial as totais, estejam relacionados com o aumento de contagens de UFC e da frequência de candidose na cavidade bucal. Relacionado a isto, podemos destacar o uso noturno contínuo da prótese, presença de microporosidades na resina, redução do fluxo salivar e alterações de pH sob à área coberta, traumatismo e favorecimento da aderência (BUDTZ-JÖGENSEN & LÖE, 1972; BUDTZ-JÖRGENSEN & KNUDSEN, 1978; ROTROSEN *et al.*, 1986; EPSTEIN, 1990; JORGE *et al.*, 1991; PIRES, 1999).

A administração via oral de antibióticos por longos períodos é um fator tradicionalmente citado, embora controverso, na etiopatogenia das candidoses, assim como bochechos com efeito antimicrobiano (OKSALA, 1990). O mecanismo baseia-se na competição do fungo com bactérias, e com a redução destas últimas, os

fungos terão mais nutrientes e sítios de aderência, e conseqüentemente se proliferar livremente. Pode haver para alguns antibióticos certa diminuição imunológica do hospedeiro que favorece a proliferação fúngica pela redução das defesas celulares (OKSALA, 1990).

Outros fatores locais que contribuem com a proliferação do fungo, estão relacionados com as sialoadenectomias, a erupção dentária com a formação da película adquirida sobre os dentes, ulcerações benignas ou malignas e descontinuidade da mucosa bucal, dieta rica em carboidratos, uso de aparelhos ortodônticos e obturadores, como têm sido demonstrado em estudos experimentais em animais e humanos (JONES & RUSSEL, 1973; ARENDORF & ADDY, 1985; SAMARANAYAKE, 1986; JORGE *et al.*, 1987; OKSALA, 1990; FOTOS *et al.*, 1992; JORGE *et al.*, 1997; NAGY *et al.*, 1998).

Vários trabalhos foram realizados com intuito de comprovar uma relação do tabagismo com a candidose. Alguns não conseguiram estabelecer essa relação (BASTIAAN & READE, 1982; OLIVER & SHILLITOE, 1984), enquanto outros apoiam-se no fato do aumento da queratinização que ocorre na mucosa bucal dos fumantes, como fator para facilitar a aderência e conseqüente infecção por *Candida* (ARENDORF & WALKER, 1984; SAKKI, *et al.*, 1997; HOLMSTRUP, 1998).

Alterações como líquen plano, leucoplasias e hiperqueratoses podem favorecer o estabelecimento de *Candida*. Isto se dá principalmente pela retenção prolongada de células epiteliais, alterações moleculares e aumento da quantidade de

queratina (KROGH, 1987; OKSALA, 1990; FOTOS *et al.*, 1992). Leucoplasias são infectadas por *Candida* em cerca de 10% dos casos, líquen plano em 40% e lupus eritematoso em 50% dos casos (ARENDORF *et al.*, 1983; AXÉLL *et al.*, 1997).

Parece haver associação positiva significativa entre infecções por *Candida* e displasias epiteliais moderadas, glossite romboidal mediana e papilomas (BARRET *et al.*, 1998). Também *Candida* parece ter a capacidade de induzir displasias em hiperplasias benignas, de agravar a severidade de displasias epiteliais, e mesmo promover alterações malignas em casos de displasias epiteliais (ZHANG *et al.*, 1994; BARRET *et al.*, 1998). Existem relatos na literatura do desenvolvimento de carcinomas “*in situ*” e carcinomas invasivos em sítios de infecção crônica por *Candida* (PEDERSEN *et al.*, 1989). No entanto, apesar da frequente presença de *Candida* nos carcinomas, leucoplasias e líquen plano bucal, não há evidências definitivas da sua participação nessas lesões, sendo considerados ainda como um colonizador secundário da mucosa previamente alterada (FIELD *et al.*, 1989).

O gênero e idade dos pacientes também vem sendo relacionados com a presença de candidose. A idade parece influenciar a contagem de UFC, mas sua causa ainda não está completamente entendida. Talvez fatores presentes com o aumento da idade, como doenças sistêmicas e uso de medicamentos possam atuar simultaneamente e dificultar a interpretação dos dados. Nas crianças há um favorecimento da presença de *Candida*, uma vez que seu sistema imune não está completamente maduro, enquanto nos idosos, os mecanismos de homeostase são

deficientes, permitindo também o agravamento da candidose (RUSSEL & LAY, 1973; BASTIAAN & READE, 1982; REICHL, 1990; ZEGARELLI, 1993). Quanto ao gênero, diversos autores sugerem que a colonização por *Candida* é mais frequente em mulheres que em homens, na proporção de 2:1 (FOTOS *et al.*, 1991; ZEGARELLI, 1993).

Quanto aos fatores sistêmicos que predispõe o desenvolvimento de candidoses, podemos destacar quadros de imunossupressão, desordens endócrinas, períodos de convalescência e hospitalização, deficiências nutricionais de ferro e vitaminas, terapia com drogas imunossupressoras, doenças malignas, caquexia, alterações hormonais como gravidez e menopausa, uso de anticoncepcionais, disfunções leucocitárias e doenças mieloproliferativas (SAMARANAYAKE, 1986; HEIMDAHL & NORD, 1990; OKSALA, 1990; WAHLIN, 1991; UMAZUME *et al.*, 1995; WILSON, 1998).

Alterações relacionadas à alimentação como síndromes da má-absorção, anemias, deficiências alimentares e deficiência de ferro têm sido associadas a incidência elevada de mucosite por prótese, queilite angular e candidose mucocutânea. O íon ferro talvez atue modulando o sistema lactoferrina e lisozima, alterando o ritmo de crescimento das células epiteliais ou reduzindo a fagocitose e produção de anticorpos (HOLMSTRUP & BESSERMANN, 1983; OKSALA, 1990; FOTOS *et al.*, 1991).

Desordens endócrinas como diabetes mellitus, hipoadrenalismo, hiperparatireoidismo, hipotireoidismo e hipoadrenocorticismo parecem estar associadas com o aumento da candidose. A prevalência de mucosites por próteses, a frequência do isolamento de *Candida*, sua densidade e aderência na mucosa palatina são mais frequentes em pacientes diabéticos (EPSTEIN, 1990; OKSALA, 1990; UETA *et al.*, 1993; DOROCCA-BOBKOWSKA *et al.*, 1996). Quadros de imunossupressão, quer sejam relacionados a desordens sistêmicas como AIDS e doenças mieloproliferativas, ou em respostas a quimioterapia, têm sido relacionadas a maior susceptibilidade à candidose e infecções por espécies usualmente não encontradas em pacientes saudáveis (FRANKER *et al.*, 1990; BUNETEL & BONNAURE-MALLET, 1996; TEANPAISAN & NITTAYANANTA, 1998). A prevalência de lesões por leveduras em pacientes HIV-positivos varia de 50 a 90% e o número de portadores de *Candida* chega a 94% (GREENSPAN, 1994; TEANPAISAN & NITTAYANANTA, 1998).

Associação entre candidose bucal e a AIDS têm sido descrita desde o início da epidemia e é considerada um dos sinais iniciais da infecção pelo vírus. Na infecção pelo HIV ocorrem alterações em glândulas salivares, elevação do número de proteínas antimicrobianas e de determinados eletrólitos na saliva. Infecções severas por *Candida* foram correlacionadas com deficiências do sistema imune, particularmente nas células T, observadas na infecção pelo HIV (WRAY *et al.*, 1990; PHILP *et al.*, 1991).

Apesar de não ser comumente descrita como parte da microbiota da placa dental de pacientes saudáveis, nos pacientes com periodontite persistentes tratados com antibiótico e em pacientes imunossuprimidos, *C. albicans* foi observada em placa subgengival (ODDEN *et al.*, 1994).

A candidose bucal, quando avaliada sua evolução, pode apresentar-se sob duas formas: aguda ou crônica. As formas agudas subdividem-se em pseudomembranosas e atróficas ou eritematosas, e as crônicas em pseudomembranosas, hiperplásicas, atrófica, queilite angular e candidose mucocutânea crônica (HOLMSTRUP & AXÉLL, 1990; KWON-CHUNG & BENNETT, 1992; LYNCH, 1994; WEBB *et al.*, 1998).

Clinicamente, as lesões da forma pseudomembranosa aparecem como placas brancas e cremosas, localizadas principalmente na língua, palato e bochechas. A forma eritematosa apresenta-se como áreas vermelhas com bordas pouco definidas, no dorso lingual, mas podendo estender-se às comissuras labiais e faringe, eventualmente sintomáticas. O tipo hiperplásico apresenta-se como placas brancas, geralmente firmes e persistentes, circundadas por eritema (HOLMSTRUP & AXÉLL, 1990). Pacientes HIV-positivos podem apresentar tipos diferentes de candidose (REICHART *et al.*, 1994).

O diagnóstico da candidose bucal depende das características clínicas e da evolução, associados à evidência das leveduras ou micélios em esfregaços, citologia e cortes histológicos corados em ácido periódico-Schiff (PAS), Grocott ou

Gram, imunofluorescência, cultura de *Candida* a partir de amostras de saliva, swabs, impressão da mucosa, titulação da anticorpos anti-*Candida* salivares, hibridização “*in situ*” e sondas de DNA (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1990; OLSEN & STENDERUP, 1990; REICHL, 1990; AGUIRRE et al., 1996).

Uma vez que pacientes saudáveis podem ter *Candida* isolada na cavidade bucal, o uso isolado de culturas positivas para critério diagnóstico para candidose é inadequado. É extremamente difícil definir se o fungo é o patógeno principal, secundário ou mero achado acidental, e não há limites seguro de UFC/ml para diferenciar o comensalismo de estados patológicos (FOTOS *et al.*, 1991; FOTOS *et al.*, 1992). Até o momento o único critério amplamente aceito para o diagnóstico laboratorial é a invasão tecidual por fungos. Com frequência são realizados testes terapêuticos como forma de descartar doenças com manifestações clínicas similares e o diagnóstico de candidose implica na necessidade de se pesquisar fatores subjacentes que possam justificar a infecção e o orientar o tratamento (FOTOS *et al.*, 1991).

Fatores como o tipo de candidose, condições sistêmicas do paciente, fatores predisponentes envolvidos e severidade das manifestações clínicas, vão influenciar no tipo de tratamento escolhido, desde a escolha do agente, forma de administração e a duração da terapia (EPSTEIN, 1990; ZEGARELLI, 1993; GREENSPAN, 1994). Os agentes anti-fúngicos atualmente disponíveis incluem formulações tópicas, incluindo soluções, géis, pomadas, vernizes, pastilhas, tabletes,

cremes e pós, e sistêmicas, por via oral e endovenosa. As substâncias utilizadas incluem os derivados polienólicos (nistatina, e anfotericina B), azólicos (miconazol, cetoconazol, fluconazol e itraconazol), fluocitosina e griseofulvina (SAMARANAYAKE & HOLMSTRUP, 1989; EPSTEIN, 1990; ZEGARELLI, 1993; GREENSPAN, 1994).

## **2.2. Hemofilia**

A hemofilia é uma doença hereditária hemorrágica conhecida desde a antiguidade, em razão do sangramento excessivo de alguns recém-nascidos após a circuncisão, a qual, geralmente, conduzia à morte (BEIGUELMAN, 1982). Denominada “doença dos reis”, a hemofilia tornou-se popular por sua alta frequência entre os membros das famílias reais européias. A rainha Vitória da Inglaterra, por exemplo, teve um filho, três netos e sete bisnetos hemofílicos (BEIGUELMAN, 1991).

O termo hemofilia (hemos = sangue + philos = amigo) foi inicialmente utilizado por Schönlein em 1820, devido ao fato de uma transfusão sanguínea deter a hemorragia do paciente. A descrição clínica e sua relação com a coagulação sanguínea só foram estabelecidas no início do século XIX (ARRUDA, 1995).

Dos vários tipos de hemofilias, os mais comuns são devido há uma deficiência hereditária do fator VIII ou fator IX de coagulação. Os genes responsáveis por estes fatores localizam-se no cromossomo X, e quando mutados, causam hemofilia A e hemofilia B, respectivamente, como uma condição hereditária recessiva associada ao cromossomo X. Usualmente afetam crianças do gênero masculino, que herdaram o gene mutado de sua mãe, mas cerca de 1/3 dos casos são mutações espontâneas, sem história de hemofilia na família (HOYER, 1994; QIAN *et al.*, 2000; MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001).

Desde de 1947, é reconhecido que a hemofilia pode representar, no mínimo, dois distúrbios diferentes. A hemofilia B (doença do Natal, deficiência do fator IX, e deficiência do componente tromboplastina do plasma – PTC) foi primeiro distinguida da hemofilia A por AGGELER *et al.* em 1952. A hemofilia A é de quatro a oito vezes mais comum que a hemofilia B. Embora clinicamente indistinguível da hemofilia A, esta forma também é transmitida como uma herança recessiva associada ao cromossomo X (HOYER, 1994).

A hemofilia A é o distúrbio hereditário mais comum da coagulação. Tem sido reconhecida em todos os locais do mundo, entretanto, o distúrbio parece mais raro entre os chineses e indivíduos da raça negra. A incidência da hemofilia A é de 1:5.000 nascimentos de crianças do gênero masculino, e da hemofilia B, de 1:30.000 (HOYER, 1994; HIGH, 2001; MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001; KULKARNI & LUSHER, 2001).

A incidência da hemofilia A, quando comparada a outros distúrbios hereditários da coagulação, varia dependendo da população estudada. Estudos realizados no norte da Europa e nos Estados Unidos, revelaram que 68% a 80% dos casos de distúrbios hereditários da coagulação pertenciam a hemofilia A (HIGH, 2001).

A anormalidade hemostática da hemofilia A (deficiência de fator VIII, hemofilia clássica) está fundamentada em uma hipótese proposta por ADDIS em 1910, onde sua principal anormalidade era a deficiência ou ineficiência de uma proteína plasmática (HOYER, 1994). Essa substância (o fator anti-hemofílico, AHF, fator VIII) revelou-se difícil de ser purificada e só mais recentemente tem sido estudada em uma forma semipurificada. O fator VIII circula normalmente no plasma, ligado a uma molécula maior, o fator de von Willebrand (vWF). Este atua como carregador do fator VIII e, aparentemente está em quantidades normais ou acima do normal em pacientes hemofílicos (HOYER, 1994; HIGH, 2001).

A gravidade do sangramento, caracterizada pela expressão do defeito genético, varia de família para família na hemofilia A. Dentro da mesma família, contudo, a gravidade clínica do distúrbio é relativamente constante, isto é, parentes de hemofílicos graves serão sempre afetados gravemente. Quando avaliada em pacientes gêmeos, só em casos equivocados o distúrbio não aparece nos dois membros de um mesmo par idêntico (EMILIEN *et al.*, 2000).

A hemofilia foi bem documentada em mulheres. A forma mais comum é vista em uma minoria heterozigota, na qual a inativação do cromossomo X (a hipótese de Lyon) pode ocorrer em um estágio inicial da embriogênese e resulta em níveis baixos de fator VIII. Uma segunda causa para a hemofilia é a união entre um homem afetado e uma mulher portadora. Metade das mulheres descendentes poderão herdar dois cromossomos X anormais, um do pai e um da mãe. Em vários outros exemplos de hemofilia feminina, o distúrbio parece haver se desenvolvido presumidamente como o resultado de um novo gene mutante. Uma anormalidade cromossômica pode resultar num genótipo homozigoto nas mulheres, exemplo, mosaïcismo 45XX/45X, cariótipo 46 XY, isocromossomo X inativo ou cromossomo X suprimido. Vários graus, não usuais, de inativação do cromossomo X (hiperlionição) podem produzir diferentes deficiências de fator VIII em muitos portadores de hemofilia A (EMILIEN *et al.*, 2000; KULKARNI & LUSHER, 2001).

Hemofilia ocorre nas formas suave, moderada e severa, de acordo com os níveis de fatores de coagulação no plasma do indivíduo. Níveis variando de 30 a 6%, correspondem a hemofilia suave, de 2 a 5%, moderada e menos de 1%, severa. Embora pacientes com hemofilia suave usualmente sangrem excessivamente apenas após traumas graves ou cirurgias, pacientes com hemofilia severa, que correspondem cerca de 50% dos casos, apresentam vários episódios de sangramentos espontâneos ou excessivos diante de traumas pequenos durante toda a

vida, particularmente dentro das articulações ou músculos (HOYER, 1994; MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001; HIGH, 2001).

As características clínicas mais marcantes da hemofilia são as hemorragias dentro das articulações (hemartroses) e nos músculos, facilidade em contundir-se, prolongadas e potencialmente fatais hemorragias após cirurgias, mas sangramento não excessivo após pequenos traumas ou abrasões. As articulações mais frequentemente envolvidas são as do joelho, cotovelo, tornozelo, ombro e quadril. Geralmente uma só articulação está envolvida, embora possa ocorrer simultaneamente em duas ou mais articulações (HOYER, 1994).

Grandes equimoses e hematomas, subcutâneos e intramusculares, são comuns na hemofilia. Sangramentos espontâneos ou desenvolvidos a partir de pequenos traumas são frequentes e, quando presentes, estão associados a maior risco de vida desses pacientes (SOUCIE *et al.*, 2000). Os hematomas podem produzir consequências sérias pela compressão de estruturas vitais. O sangramento da língua, garganta ou pescoço pode desenvolver-se espontaneamente e é perigoso, uma vez que pode comprometer o trato respiratório com grande rapidez. Sangramentos intracranianos ocorriam em cerca de 25% dos pacientes hemofílicos falecidos antes da epidemia da AIDS, e trauma antecedente era reconhecido em pelo menos metade destes pacientes (HOYER, 1994).

Mesmo na ausência de trauma, existem usualmente pequenos sangramentos nos primeiros anos de vida. Hemartroses são frequentemente notadas

quando a criança começa a andar. Outro problema que pode atingir consequências mais graves, aparece durante a erupção e exfoliação dos dentes decíduos, que pode ocorrer sem sangramento anormal ou acompanhadas de hemorragias que duram dias ou semanas (HOYER, 1994).

Hemorragias na boca, gengiva, lábios e língua são frequentes e sérias. A epistaxe ocorre em muitos pacientes e pode ter grandes proporções. Hematêmese e melena, ou ambas, não são comuns. A fonte do sangue é geralmente o trato gastrointestinal superior. A hematúria, embora mais comum do que o sangramento gastrointestinal, resulta de uma condição patológica no trato genitourinário (HIGH, 2001).

Foi observado que o sangramento gengival espontâneo pode alterar a microbiota bucal. Em estudo realizado por SAXEN *et al.* (1989), onde avaliou pacientes portadores de intolerância a frutose hereditária, notou-se uma associação do sangramento gengival com uma maior quantidade de *Actinomyces odontolyticus*, *Veillonella parvula* e *Wolonella recta*.

Uma observação comum é a que pacientes hemofílicos melhoram na adolescência. O curso mais benigno dos hemofílicos mais velhos pode ser atribuído a: (1) morte na fase inicial da vida daqueles mais gravemente afetados; (2) a passagem pelo período da dentição e (3) inatividade acentuada como resultado de deformações permanentes das articulações. A expectativa de vida dos bebês

hemofílicos foi calculada como sendo 1/12 (8,3%) dos normais. O maior número de mortes deveu-se às perdas sanguíneas após cirurgias (BIGGS, 1976).

O diagnóstico da hemofilia A deve ser suspeitado quando um sangramento incomum ocorre em um paciente do gênero masculino, e essa suspeita é confirmada quando resultados de testes laboratoriais indicam contagem de plaquetas normal e tempo de protrombina normal, mas o tempo de tromboplastina parcial ativado prolongado. Logo, teste para especificação do fator alterado deve ser realizado para poder diferenciar entre a hemofilia A e B. Os exames hematológicos básicos não revelam resultados característicos na hemofilia. A presença ou ausência de anemia ou sinais de regeneração sanguínea depende da severidade e da frequência dos sangramentos (HOYER, 1994).

Vários adstringentes, drogas, dietas e hormônios administrados periodicamente foram indicados para o tratamento da hemofilia. Eles incluem: contraceptivos orais, corticosteróides, vitamina K, rutina, bioflavonóides e também o transplante do baço, entre outros. Nenhuma dessas terapias foram eficientes. Contudo, o tratamento principal para a hemofilia é a terapia de substituição ou reposição. O tratamento moderno da hemofilia iniciou-se em 1970, com a possibilidade de avaliação das concentrações de fatores de coagulação no plasma sanguíneo, e posterior administração intravenosa do fator requerido do sangue ou produtos sanguíneos derivados de pessoas ou animais normais. O objetivo da terapia de substituição é obter uma concentração do fator necessário, no sítio de

sangramento, tal que a coagulação possa se tornar hemostaticamente efetiva (MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001).

Infelizmente, é impossível manter níveis constantes de fatores VIII ou IX nos hemofílicos por administração contínua, seja pela curta vida-média dos fatores (8 a 12 horas no fator VIII e cerca de 24 horas no fator IX), seja pelo alto preço. Isso leva a restrições na vida dos hemofílicos. Em países desenvolvidos, no entanto, existe a possibilidade de auto-tratamento, no qual o paciente pode administrar-se o fator de coagulação em uma situação de emergência (MARKOVA, 1983).

O uso difundido da administração da terapia de reposição domiciliar nos países desenvolvidos, levou a um controle precoce de hemorragias e desse modo, uma redução ou prevenção de danos músculo-esqueléticos típicos nos pacientes que eram inadequadamente tratados (MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001).

Além do alto custo, outro problema da terapêutica de reposição para o hemofílico é a contaminação infecciosa por vírus. No Brasil, por exemplo, mais de 90% dos hemofílicos estão contaminados pelo HCV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1994).

A utilização frequente de concentrados de fatores podem levar a distúrbios nas funções das células B e T, monócitos, macrófagos, células natural “*killer*” e inversão da razão das células CD4/CD8. A produção de IgA, IgM e IgG nestes pacientes é três vezes maior quando comparada a de pacientes saudáveis, entretanto, a produção estimulada por mitógenos destas imunoglobulinas é

marcadamente menor nos pacientes hemofílicos (BRIEVA *et al.*, 1985; BIAGIOTTI *et al.*, 1986; STERNBACK *et al.*, 1987; KEKOW *et al.*, 1987). Estas alterações podem levar a uma diminuição da resistência a infecções e a neoplasias. Logo, uma vez que pacientes hemofílicos graves necessitam mais frequentemente e em maiores quantidades da terapia de reposição, eles apresentam maiores alterações funcionais destas células, e conseqüentemente, maior susceptibilidade a infecções (KIM *et al.*, 1989).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar as alterações linfocitárias nos hemofílicos. Primeiro, a inversão na razão CD4/CD8 pelo aumento da contagem das células T-CD8 após graves infecções por CMV, vírus Epstein-Baar (EBV) e vírus herpes simples (HSV). Isto pode sugerir que muitos hemofílicos são expostos a inúmeros vírus inativos durante a terapia de reposição. Segundo, é possível que a longo prazo, aloantígenos contidos nos concentrados de fator, possam causar defeitos imunoregulatórios graves, sendo associado clinicamente a imunossupressão na ausência da infecção pelo HIV. Também o aumento dos níveis de imunoglobulinas podem ser explicado pela exposição à proteínas estranhas contidas nos concentrados de fator (KIM *et al.*, 1989).

Concentrados manufacturados de um *pool* plasmático obtidos de centenas de doadores eram invariavelmente contaminados com vírus da hepatite B (HBV) ou C (HCV), causando hepatites em praticamente todos os pacientes hemofílicos. Hepatites crônicas eram comuns, com efeitos relativamente suaves e não

progressivas, cujos benefícios destes concentrados superavam os prejuízos. Contudo esta percepção otimista mudou dramaticamente por volta de 1980, quando 60 a 70% dos pacientes com hemofilia severa na Europa Ocidental e nos Estados Unidos infectaram-se com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), os quais foram contaminados pelos concentrados de plasma (KIM *et al.*, 1989; MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001; HIGH, 2001).

Maiores esforços estão sendo feitos para substituir os derivados sanguíneos por auxiliares como o acetato de desmopressina (DDAVP). Este medicamento estimula a liberação de proteínas pelas células endoteliais, dentre elas o fator de von Willebrand e o fator VIII associado. O número de receptores expostos pode ser diminuído pelo uso de produtos de um único doador, como os crioprecipitados (HOYER, 1994).

Nos últimos 15 anos concentrados plasmáticos de fator de coagulação mais seguros têm sido produzidos, e a engenharia genética de recombinação de fator está sendo agora avaliada. Além disso, técnicas moleculares podem ser utilizadas para identificar a alteração genética que causa a hemofilia, e assim, facilitar a prevenção da doença identificando os portadores em diagnóstico pré-natal. Novos tratamentos têm melhorado substancialmente o prognóstico dos pacientes hemofílicos, dentre eles o desenvolvimento de agonistas aos aloanticorpos dos fatores VIII e IX (inibidores), desenvolvidos como resposta a terapia de reposição destes fatores da coagulação (MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001).

Aproximadamente 10 a 40% dos pacientes com hemofilia A desenvolvem anticorpos contra o fator VIII (inibidores) com a terapêutica tradicional. O aparecimento do inibidor geralmente ocorre até os 5 anos de idade e/ou entre o 50º e o 100º dias de exposição ao concentrado de fator VIII (ARRUDA, 1995; SHOBEIRI *et al.*, 2000; QIAN *et al.*, 2000; COLOWICK *et al.*, 2000 ). Sempre que um episódio hemorrágico não responde bem ao tratamento de reposição, é obrigatório a investigação da presença de inibidor. Nesses casos, o controle dos episódios hemorrágicos torna-se mais difícil e mais dispendioso, com necessidade do uso de concentrados de complexo protrombínico ativado ou grandes quantidades de concentrados de fator (ARRUDA, 1995).

Concentrados de fator derivados da recombinação do DNA podem ser usados para o tratamento dos hemofílicos sem o risco de transmissão de infecções virais (LUDLAN, 1997). Fator VIIA recombinado é alternativa para tratamento de muitos problemas trombóticos associados com o complexo de protrombina ou concentrados de complexo de protrombina ativado. Já o fator VIII recombinado tem atividade biológica comparada com a do fator VIII plasmático e é seguro e eficaz para o tratamento da hemofilia, com vida-média semelhante ao fator plasmático e sem efeitos adversos a curto ou longo prazo. Também é pouco provável que haja risco de sensibilização ao fator recombinante levando assim ao desenvolvimento de inibidores (EMILIEN *et al.*, 2000).

A introdução da terapia anti-retroviral tem reduzido a mortalidade e morbidade dos pacientes hemofílicos HIV-positivos. Entretanto, a combinação de terapias que inclui a combinação de inibidores de proteases, levam a um aumento da suscetibilidade desses pacientes à sangramentos espontâneos, particularmente em locais incomuns como nos dedos e articulações do pulso. A possibilidade de uma terapia anti-retroviral poder aumentar o risco de pacientes hemofílicos adquirirem doenças cardiovasculares prematuras também está sendo avaliada (MANNUCCI & TUDDENHAM, 2001).

A sobreposição de infecções nos pacientes hemofílicos HIV-positivos com o HCV tem sido descrita em mais de 90% dos casos, onde esta associação pode estar relacionada com o desenvolvimento simultâneo de doenças mucocutanêas nestes indivíduos (SHIMIZU *et al.*, 2000). Há um aumento de doenças no fígado de hemofílicos HIV-positivos, sendo estas mais severas e responsáveis pelo crescimento da mortalidade destes pacientes. O dano hepático geralmente se dá por co-infecção pelo HCV, onde a replicação deste vírus está drasticamente aumentada na presença do HIV (LEE C. A., 1998; BONACINI & PUOTI, 2000). Tentativas para destruir o vírus da hepatite em preparações concentradas dos fatores de coagulação têm tido sucesso limitado. Os processos de aquecimento a seco que se mostraram efetivos para o HIV, não eliminaram, no entanto, o risco da transmissão da hepatite, e, em especial, da hepatite C (SHIMIZU *et al.*, 2000).

Em estudo realizado por SHIMIZU *et al* (2000), onde foram avaliados 53 pacientes hemofílicos HIV-positivos e 57 hemofílicos HIV-negativos, a incidência de desordens mucocutanêas em hemofílicos HIV-positivos foi diferente de outros grupos de pacientes HIV- positivos. Alterações como sarcoma de Kaposi, molusco contagioso e doenças cutâneas transmitidas sexualmente como condiloma e sífilis, que são frequentemente encontradas em indivíduos infectados pelo HIV, foram mais raros em indivíduos hemofílicos HIV-positivos. Apenas a candidose apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos de hemofílicos HIV-positivos e HIV-negativos, onde esta enfermidade foi o mais importante sinal de progressão da infecção pelo HIV nos pacientes hemofílicos. Candidose, seguido de leucoplasia pilosa, são as duas alterações bucais mais comuns em pacientes hemofílicos portadores do HIV (FICARRA *et al.*, 1994).

Em pacientes infectados pelo HIV, as concentrações na saliva de lactoferrina, secreção de IgA e íons cloreto estão aumentadas, diferentemente das quantidades de lisozima, proteína total e potássio que estão diminuídas. Não existe relação entre a atividade anti-*Candida* e a composição salivar. Porém há uma diminuição da atividade anti-*Candida* e do fluxo salivar nos pacientes HIV infectados, quando comparados a pacientes controles. Essas alterações podem contribuir para o aumento da incidência de candidose bucal nesses pacientes (LIN *et al.*, 2001).

Em um estudo realizado por TSANG & SAMARANAYAKE (1999), onde avaliaram a capacidade de aderência de *Candida* à células do epitélio bucal de pacientes HIV infectados ou não, foram achados colônias do fungo com menor aderência às células epiteliais bucais coletadas de pacientes HIV-hemofílicos, heterossexuais e bissexuais, quando comparados às células dos HIV-homossexuais. Isto pode ser devido as células do hospedeiro, em diferentes grupos de risco, serem afetadas de diversas maneiras, resultando em diferentes receptividade dos organismos os quais, deste modo, podem manifestarem-se clinicamente de diferente formas na cavidade bucal.

Várias condições, além das hepáticas, têm sido atribuídas a infecção persistente pelo HCV, e que são presumivelmente consequências de uma alteração do sistema imune do paciente. Estas alterações incluem artrite, líquen plano, glomerulonefrites, queratoconjuntivite *sicca* e porfiria cutânea tardia (DE CASTRO *et al.*, 1993; MISIANI *et al.*, 1994; PAWLOTSKY *et al.*, 1994). Também tem sido sugerido que a hepatite crônica pode estar associada ao desenvolvimento de linfoma não-Hodgkin (MAZZARO *et al.*, 1996; ZUCKERMAN *et al.*, 1997), embora a mortalidade dos pacientes hemofílicos em geral até o momento no Reino Unido, não sustente essa idéia (DARBY *et al.*, 1995). HCV pode ser isolado na saliva de quase 50% dos pacientes hemofílicos (ROY *et al.*, 1996).

Há um consenso geral entre os estudiosos de que pacientes portadores do HIV e de alguns tipos de hepatite, quer seja pela própria doença, quer seja pela

terapia medicamentosa necessária, apresentam maior colonização de *Candida sp* na cavidade bucal, sendo que em alguns casos, apresentando candidose. Inúmeros relatos de pacientes hemofílicos infectados pelo HIV (SHIMIZU *et al.*, 2000) e/ou HCV (GIANGRANDE, 1998) têm sido descritos mostrando a presença deste fungo em quantidades aumentadas e de fatores que contribuam para o aumento de *Candida* em cavidade bucal. Ainda não foi possível fazer uma relação direta da hemofilia com a quantidade e tipos de espécies de *Candida sp* na cavidades bucal destes pacientes. Também não está totalmente comprovado que alguma terapia utilizada para hemofilia possa propiciar uma maior colonização de *Candida sp*. Uma vez que ainda não se tem conhecimento do comportamento de *Candida sp* em hemofílicos e, sabendo que são indivíduos passíveis de sofrerem influências de fatores locais e sistêmicos como, infecção viral, alteração do sistema imunológico, alteração do fluxo salivar e composição salivar, uso de medicamentos, lesões bucais, além de fatores secundários como uso de próteses, tabagismo e etilismo, torna-se necessário um estudo específico sobre o assunto.

### 3. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi quantificar a presença de *Candida* e identificar as espécies deste gênero na saliva de pacientes hemofílicos e correlacionar os resultados com a idade, fluxo salivar, estado sorológico, tipo de hemofilia, hábitos de tabagismo e etilismo, uso de próteses dentárias, medicações utilizadas e eventuais lesões presentes na cavidade bucal destes pacientes.



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Características dos grupos avaliados

Fizeram parte do estudo 129 pacientes divididos em dois grupos:

Grupo controle – composto por 43 pacientes oriundos do Serviço de Triagem da Disciplina de Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP. Estes pacientes não relatavam doença sistêmica atual ou pregressa e, ao exame clínico, não apresentavam sinais de qualquer doença. A relação homens/mulheres foi de 1:0,8 (24/19). A idade variou entre 7 e 60 anos, com média de  $29,34 \pm 13,79$  anos. Cerca de 81% (35) dos pacientes tinham pele de cor branca e 19% (8) pele de cor negra.

Grupo hemofílico – composto por 86 pacientes portadores de hemofilia A ou B em tratamento odontológico no Serviço de Odontologia do Hemocentro/UNICAMP, no período 2000 a 2001. Todos pacientes estavam, no momento da primeira consulta, sob tratamento e/ou avaliação sistêmica no Hemocentro/UNICAMP. Os pacientes foram avaliados por uma equipe odontológica do local, onde foram submetidos a anamnese e exame físico e todas as

informações foram transcritas para uma ficha clínica padronizada pelo Hemocentro/UNICAMP para o estudo (ANEXO I).

Os pacientes foram classificados quanto ao tipo de Hemofilia em A ou B e aos subtipos leve, moderada ou grave. Foram questionados quanto ao estado de saúde atual, história progressiva de hemorragias e necessidade de transfusão de sangue ou hemoderivados. Também foram avaliados, através de exames sorológicos, quanto a possibilidade de serem portadores de algum vírus em decorrência da terapia de reposição e, em caso de resposta positiva, quanto a terapia atual utilizada para à infecção viral. Por fim, foram questionados quanto ao tabagismo e etilismo e avaliados quanto a presença ou não de lesões em cavidade bucal e utilização e estado de conservação de próteses dentárias.

O grupo era composto em sua totalidade de pacientes do gênero masculino, com idades variando entre 3 e 69 anos com média de  $27,50 \pm 16,92$  anos. Cerca de 65% (56) dos pacientes tinham menos de 30 anos de idade, 20% (17) entre 30 e 50 anos e 15% (13) mais de 50 anos de idade. Dos 86 pacientes, 66 (77%) tinham cor de pele branca, 11 (13%) cor de pele negra e 09 (10%) eram mestiços.

#### **4.2. Coleta de saliva e fluxo salivar**

Foi realizada uma coleta de saliva de cada paciente no momento da primeira consulta odontológica. Esta foi realizada de forma não estimulada por 5 minutos, em potes de vidros estéreis, identificados e pesados individualmente (PIRES, 1999). As coletas foram realizadas no mínimo 3 horas após a última refeição. A saliva coletada foi armazenado em geladeira à 4° C, transportado em caixa térmica com gelo e processada no máximo após 24 horas após a coleta. O peso de cada amostra foi determinado em balança de precisão (marca Marte, modelo AL 500, 220 V) e ajustado para fluxo em miligramas (mg /min), considerando-se 1 miligrama (mg) equivalente a 1 mililitro (ml) (NAVAZESH *et al.*, 1992). O fluxo salivar obtido de cada paciente foi classificado em reduzido, normal e abundante. Para o fluxo salivar total não estimulado, os valores normais situam-se entre 0,3 a 0,4 ml/min e os de hipossalivação, situam-se abaixo de 0,2 ou 0,1 ml/min (SCREEBNY *et al.*, 1989).

#### **4.3. Quantificação (isolamento e contagem) de *Candida***

A análise microbiológica foi realizada com a mesma saliva utilizada na avaliação do fluxo salivar, que após sua medição, foi homogeneizado em agitador e efetuadas diluições. Alíquotas de 0,1 ml de saliva pura foram acrescidas de 0,9 ml

de solução fisiológica estéril e novamente homogeneizadas, gerando amostra de saliva diluída à  $10^{-1}$ . Se necessário, da amostra diluída à  $10^{-1}$  era obtida alíquota de 0,1 ml e acrescida de 0,9 ml de solução fisiológica estéril, obtendo-se diluição  $10^{-2}$ . O mesmo procedimento foi realizado quantas vezes foram necessária, até conseguir atingir uma diluição que possibilitou uma quantificação das colônias de forma satisfatória. Alíquotas de 0,1 ml da saliva pura, da diluição  $10^{-1}$  e, eventualmente da diluição  $10^{-2}$ , foram semeadas em duplicata em placas de Petri de cultura com ágar Sabouraud dextrose com Cloranfenicol (0,1 mg de quemicitina succinato por ml de meio) e incubadas em estufa de cultura à  $37^{\circ}$  C por 48 horas.

Meio ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol

Caldo Sabouraud .....	30 g
Ágar .....	20 g
Quemicitina succinato .....	0,1 g
Água destilada .....	1000 ml

As culturas positivas foram contadas e foi obtida a média das duplicatas para a determinação do número de unidades formadoras de colônias (UFC/ml), selecionando-se, sempre que possível, a diluição que apresentasse entre 30 e 300 colônias típicas por placa. Foram consideradas típicas as colônias de formato esférico, brancas, foscas, com aparência de porcelana, com diâmetro entre 1 a 8 mm

e odor característico do gênero.

O resultado, em UFC/ml de saliva, foi dado pela multiplicação da média do número de colônias das duas placas pelo fator de diluição e pela alíquota utilizada. Assim, os resultados foram multiplicados por 10 vezes para a saliva pura, por 100 vezes para a diluição  $10^{-1}$ , por 1000 vezes para diluição  $10^{-2}$ , assim sucessivamente. Os pacientes foram posteriormente categorizados em três grupos: “negativos” ou que não apresentaram crescimento de colônias em duas amostragens consecutivas, “portadores” que apresentaram contagens entre 1 e 399 UFC/ml e “positivos” que apresentaram contagens iguais ou superiores à 400 UFC/ml. As colônias de cada tipo morfológico característico foram isoladas em duplicata e armazenadas em frascos contendo solução salina estéril à temperatura ambiente identificados de acordo com o paciente de origem, e submetidas aos testes de identificação das espécies de *Candida*.

#### **4.4-Identificação das espécies de *Candida***

A identificação foi realizada de acordo com SANDVÉN (1990), utilizando-se as seguintes provas:

#### **4.4.1-Formação do tubo germinativo:**

Utilizou-se 1 ml de soro humano depositado em tubo de ensaio 10 X 100, acrescido de uma alçada da amostra a ser analisada e incubado em banho-maria em estufa de cultura à 37° C por até 3 horas. Para visualização do tubo germinativo, uma gota de suspensão foi colocada entre lâmina e lamínula e observada à microscopia de luz (Microscópio binocular, marca Zeiss). A presença do tubo germinativo indicou positividade para o teste..

#### **4.4.2-Produção de clamidoconídeos:**

Foi utilizado o meio ágar-fubá tween 80 (pH 5,6), com a seguinte a constituição:

Meio ágar-fubá + tween 80

Fubá ..... 40g

Ágar ..... 15g

Tween80 ..... 10 ml

Água destilada ..... 1000 ml

Utilizou-se o meio ágar-fubá autoclavado e aquecido, depositado sobre

lâmina de vidro, aguardando-se seu resfriamento e endurecimento, após o que semeou-se em sua superfície a amostra a ser analisada. O conjunto foi encubado em placa de Petri, com algodão embebido em água, à temperatura ambiente por 72 horas ou mais e a leitura foi feita sob microscopia óptica (Microscópio binocular, marca Zeiss). A visualização do clamidoconídeo indicou positividade para o teste.

#### **4.4.3- Fermentação de Carboidratos (Zimograma)**

Para a realização da prova foi utilizado o meio caldo vermelho fenol, em quatro tubos de ensaio com tubos de Durhan em seu interior. Em cada tubo foi acrescentado um carboidrato (glicose, maltose, sacarose e lactose). Após a autoclavagem, os tubos foram semeados com cultura pura da amostra e a leitura realizada após 72 horas, considerando-se a produção de ácido pela viragem de pH (mudança de cor) e produção de gás no interior dos tubos de Durhan.

Meio Vermelho Fenol:

Caldo vermelho fenol ..... 16 g

Água destilada ..... 1000 ml

pH – 7,2

Adiciona-se 0,25 g do açúcar em cada 100 ml do meio.

#### 4.4.4-Assimilação de Carboidratos (Auxanograma)

Para este teste foi utilizado o seguinte meio:

Sulfato de amônia .....	5.0g
Fosfato de Potássio monobásico.....	10g
Sulfato de magnésio .....	0,5g
Ágar .....	20,0g
Água .....	1000ml

Após a dissolução em banho-maria, o meio foi distribuído (18-20 ml) em tubo de ensaio, autoclavado à 120<sup>0</sup>C por 15 mim e armazenado em geladeira. Para execução da prova foi preparada uma suspensão da levedura em solução fisiológica esterilizada, com aproximadamente 10<sup>8</sup> células a partir de cultura em ágar Sabouraud dextrose. Desta suspensão foi colocado 0,6 ml nos tubos com o meio previamente liquefeito e resfriado (a cerca de 45° C) e vertidos em placa de Petri. Após a solidificação, discos de filtro previamente embebidos nos açúcares (glicose, maltose, sacarose, lactose e galactose) e secos em estufa foram colocados na superfície do meio a intervalos regulares de espaço. Após a incubação de 72 horas à 37° C, a leitura foi feita pela observação ou não de halo de crescimento ao redor do

disco de papel.

A identificação das espécies foi feita baseada em SANDVEN (1990) e LARONE (1995) conforme pode ser vista em ANEXO II.

#### **4.5. Análise Estatística**

Os dados foram digitados em planilha eletrônica (EXCEL® 9.0/2000, Microsoft, EUA). De acordo com o tipo de cada variável, do objetivo do estudo de cada uma delas e do estudo de suposições, os resultados foram analisados por meio dos testes de t, Qui-Quadrado sem correção, Wilcoxon, Kruskal-Wallis ou teste exato de Fischer (bicaudal), como calculados pelo programa acima citado ou pelo EPI-INFO 6.04b (CDC, EUA).



## 5. RESULTADOS

### 5.1 Características gerais dos grupos avaliados:

As características demográficas dos dois grupos podem ser vistas na Tabela 1.

TABELA 1. Características demográficas dos pacientes (n = 129) do grupo controle e grupo hemofílico:

	Controle (n = 43)	Hemofílico (n = 86)
Gênero (M/F)	24/19	86/0
Idade (média ± desvio padrão)	29,34 ± 13,79	27,50 ± 16,97
Cor da pele (B/P/N)	34/0/9	66/9/11

M = masculino; F= feminino; B = branco; P = pardo; N = negro

Grupo controle – dos 43 pacientes que compuseram este grupo, 7 (16%) relataram tabagismo e 5 (12%) etilismo crônico. Um (2%) paciente utilizava prótese parcial removível superior, um (2%) apresentou líquen plano em mucosa bucal e outro (2%) relatou uso de medicação anti-depressiva.

Grupo hemofílico – dos 86 pacientes desse grupo, 7 (8%) utilizavam

próteses dentárias, sendo que 5 pacientes usavam próteses parciais removíveis duplas e 2 pacientes próteses totais duplas. Em exame intra-bucal foi constatado que as próteses estavam em bom estado de conservação. Apenas 3 (3,5%) relatavam tabagismo e etilismo crônico e 2 (2%) pacientes relataram fazer uso de algum medicamento (Sulfa e Diclofenaco de Sódio). Oito pacientes portadores do HIV faziam uso do “coquetel” de drogas anti-retroviral, que serão relatados posteriormente.

Ao exame físico geral, 33 pacientes (38%) apresentavam áreas hemorrágica, sendo que 15 (17%) exibiam hematomas e equimoses disseminadas e 18 (21%) petéquias e púrpuras em cavidade bucal. Nove (10%) pacientes apresentavam hemartroses, as quais acometiam principalmente joelhos.

Foram observadas alterações intra-bucais em 24 (28%) pacientes. Dez (12%) apresentavam doença periodontal associada a sangramento gengival espontâneo. Também foi observada a presença de língua saburrosa (12 casos), língua fissurada (9 casos) e glossite romboidal mediana (1 caso) (Tabela 2).

Como pode ser observado, não houve diferença estatística entre uso de prótese e de medicações nos dois grupos. Pacientes do grupo controle consomem mais álcool e tabaco que os pacientes do grupo hemofílico. Já os pacientes do grupo hemofílico apresentam mais lesões em cavidade bucal que os pacientes do grupo controle.

TABELA 2 – Distribuição dos pacientes (n = 129) do grupo controle e grupo hemofílico quanto tabagismo, etilismo, uso de prótese, uso de medicamento e alteração bucal.

	Controle (n = 43)	Hemofílicos (n = 86)	
Tabagismo (SIM/NÃO)	7/36	3/83	p= 0,015
Etilismo (SIM/NÃO)	4/39	0/86	p= 0,011
Prótese (SIM/NÃO)	1/42	7/79	
Alteração bucal (SIM/NÃO)	1/42	24/62	p= 0,0005
Medicamento (SIM/NÃO)	2/41	2/84	

### 5.2. Características próprias do grupo hemofílico:

Dos 86 pacientes avaliados no Serviço de Odontologia do Hemocentro/UNICAMP, 68 (78%) apresentavam hemofilia tipo A e 18 (22%) tipo B (3,5:1). Dos 68 pacientes com hemofilia A, 34 (50%) tinham hemofilia grave, 18 (27%) hemofilia moderada e 16 (23%) hemofilia leve. De 18 pacientes portadores de hemofilia tipo B, 5 (28%) tinham hemofilia grave, 5 (28%) hemofilia moderada e 8 (44%) hemofilia leve (Tabela 3).

TABELA 3 - Distribuição geral dos 86 pacientes quanto ao tipo e gravidade da hemofilia.

	A, n (%)	B, n (%)
Grave	34 (39,5%)	5 (6%)
Moderada	18 (21%)	5 (6%)
Leve	16 (18,5%)	8 (9%)

Dos 86 pacientes hemofílicos, 29 (34%) pacientes eram portadores de um ou mais vírus diagnosticados em exames sorológicos de rotina. Vinte e seis (90%) eram portadores do HCV, 8 (28%) do HIV, 7 (24%) do CMV e 1 (3%) do HBV. Oito (9%) pacientes apresentaram mais de um vírus simultaneamente, sendo 4 (5%) portadores de HCV, CMV e HIV, 2 (2%) de HCV e CMV, 1 (1%) de HCV, HIV e HBV e 1 (1%) de HCV e HIV. Dos 29 pacientes portadores de algum vírus, 17 (59%) eram hemofílicos A grave, 5 (17%) hemofílicos B leve, 4 (14%) hemofílicos A moderado, 2 (7%) hemofílicos A leve e 1 (3%) hemofílicos B moderado, como pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4- Distribuição dos pacientes (n = 29) quanto ao estado sorológico associado ao tipo de hemofilia.

	HCV	HIV	HBV	CMV
A grave	16 (61,5%)	6 (75%)	0	6 (86%)
A moderado	3 (11,5%)	0	0	1 (14%)
A leve	2 (8%)	1 (12,5%)	1 (100%)	0
B grave	0	0	0	0
B moderado	1 (4%)	0	0	0
B leve	4 (15%)	1 (12,5%)	0	0
Total	26 (100%)	8 (100%)	1 (100%)	7 (100%)

### 5.3. Fluxo salivar

Os 43 pacientes do grupo controle apresentaram média de fluxo salivar de  $0,482 \pm 0,113$  ml/min sendo o maior fluxo de 0,708 ml/min e o menor de 0,284 ml/min. A distribuição categorizada destes pacientes em fluxo normal, reduzido e abundante foi de 22, 0 e 21 respectivamente.

Houve diferença estatisticamente significante entre o fluxo salivar de homens e mulheres ( $0,513 \pm 0,107$  ml/min e  $0,443 \pm 0,110$  ml/min), com  $p= 0,042$ , segundo teste de ANOVA. Houve discreta correlação do fluxo salivar com o aumento da idade, porém sem significância estatística.

O fluxo salivar médio dos 86 pacientes do grupo hemofílico foi de 0,415

$\pm 0,212$  ml/min, sendo o maior fluxo salivar de 1,08 ml/min e o menor de 0,076 ml/min. Cerca de 62% (51) dos pacientes apresentaram fluxo salivar normal, 26% (21) fluxo salivar abundante e 12% (10) fluxo salivar reduzido. Não foram realizadas coletas de 4 pacientes deste grupo. Nestes pacientes foi realizado esfregaços no dorso de língua com swab.(Figura 1 e Tabela 5).

Figura 1 - Distribuição dos pacientes quanto as categorias de fluxo salivar

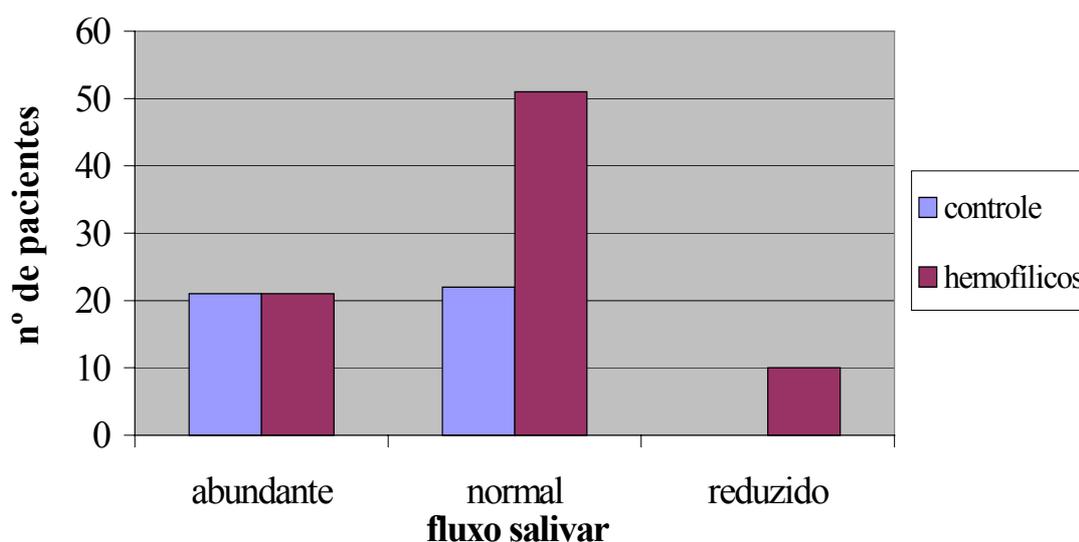


TABELA 5 – Distribuição dos pacientes (n = 125) do grupo controle e hemofílico quanto ao fluxo salivar

Grupo	Média
Controle (n = 43)	0,492 ± 0,113 ml/min
Hemofílico (n = 82)	0,415 ± 0,212 ml/min

p = 0,0025 para teste Kruskal-Wallis

Houve correlação negativa entre o fluxo e idade do paciente, porém sem significância estatística. O fluxo salivar também não foi influenciado pelo tipo de hemofilia. A distribuição dos pacientes quanto ao tipo de hemofilia associado ao fluxo salivar está demonstrada na Tabela 6.

TABELA 6- Distribuição dos pacientes (n = 86) quanto ao tipo de hemofilia associado a média de fluxo salivar.

Hemofilia	Média
A grave	0,431 ± 0,210 ml/min
A moderada	0,355 ± 0,153 ml/min
A leve	0,383 ± 0,223 ml/min
B grave	0,467 ± 0,414 ml/min
B moderada	0,517 ± 0,195 ml/min
B leve	0,456 ± 0,219 ml/min

#### 5.4. Quantificação de *Candida*

Dos 43 pacientes avaliados no grupo controle, 24 (56%) eram negativos, 7 (16%) portadores e 12 (28%) positivos para *Candida*. A média de UFCs nos pacientes portadores e positivos foi de  $1.352 \pm 1.860,68$  UFC/ml. Quando excluídos os 19 pacientes do gênero feminino do grupo controle, restando 24 pacientes do gênero masculino, 13 (54%) eram negativos, 4 (17%) portadores e 7 (29%) positivos para *Candida*.

Apenas um paciente fazia uso de prótese parcial removível, sendo que era negativo para *Candida*. Também um paciente apresentava alteração em cavidade bucal (líquen plano), sendo este portador para *Candida*. Dos 7 pacientes que relataram o uso de tabaco, um (14%) era negativo, 2 (28%) eram portadores e 4 (57%) eram positivos para *Candida*. A média de UFCs nos pacientes portadores e positivos que relataram o uso de tabaco foi de 1.503/ml de saliva.

Houve correlação inversa entre o fluxo salivar e contagem de UFCs na saliva, porém sem significância estatística.

Dos 86 pacientes avaliados no grupo hemofílico, 31 (36%) eram negativos, 19 (22%) eram portadores e 36 (42%) eram positivos para *Candida*. A média de contagem nos pacientes portadores e positivos foi de  $3,637 \times 10^{10}$  UFC/ml de saliva. A distribuição categorizada e a média de UFCs dos pacientes hemofílicos

e controle quanto a presença de *Candida* pode ser vista na Tabela 7.

TABELA 7- Distribuição categorizada e média de UFCs dos pacientes (n = 129) hemofílicos e controle quanto a presença de *Candida*.

	Controle (n = 43)	Hemofílicos (n = 86)	Total
Negativo	24	31	55
Portador	7	19	26
Positivo	12	36	48
Média (base log 10)	2,558 ± 0,910	3,653 ± 2,275	p = 0,045

Quando comparamos os 55 pacientes portadores e positivos do grupo hemofílico com os 19 pacientes portadores e positivos do grupo controle, pelo teste Qui-quadrado, houve diferença estatística significativa, com  $p = 0.032$ .

A maioria dos pacientes que fazia uso de prótese (n=7) foram positivos para *Candida* (5) sendo apenas um paciente portador e um negativo. Não houve influência da presença de alterações bucais sobre a quantidade de *Candida*. Do total de 24 pacientes com alguma alteração, 9 eram positivos, 8 portadores e 7 negativos para *Candida*.

O tipo e gravidade de hemofilia também não influenciaram a contagem de *Candida* na saliva. A distribuição categorizada dos pacientes hemofílicos quanto a contagem e médias de UFCs está demonstrada na Tabela 8.

TABELA 8- Distribuição categorizada dos pacientes hemofílicos (n = 86) quanto a contagem e médias de UFCs.

Hemofilia	Positivo	Portador	Negativo	Média de UFCs
A grave (n=33)	16 (48%)	7 (21%)	10 (30%)	3,899 ± 2,615
A moderada (n=18)	8 (44%)	4 (22%)	6 (33%)	3,255 ± 1,806
A leve (n=16)	5 (31%)	5 (31%)	6 (38%)	2,717 ± 0,832
B grave (n=6)	2 (33%)	2 (33%)	2 (33%)	3,723 ± 2,760
B moderada (n=5)	2 (40%)	1 (20%)	2 (40%)	5,403 ± 3,719
B leve (n=8)	0	3 (37%)	5 (63%)	4,633 ± 2,481

Obs.: média de UfC em log base 10

Dos 26 pacientes portadores de HCV, temos que 13 (50%) pacientes eram positivos, 6 (23%) portadores e 7 (27%) negativos para *Candida*. Dos 8 pacientes portadores de HIV, 5 (62,5%) eram positivos, 2 (25%) portadores e um (12,5%) negativo. Dos 7 pacientes portadores de CMV, 5 (71%) eram positivos e 2 (29%) portadores. O único paciente portador de HBV era positivo para *Candida*. A distribuição dos pacientes quanto a contagem de UFCs em relação ao estado sorológico está demonstrada na Tabela 9.

Cabe ressaltar que vários dos pacientes avaliados na tabela acima eram portadores de dois ou três vírus simultaneamente.

TABELA 9- Distribuição dos pacientes (n = 29) quanto a contagem de UFCs em relação ao estado sorológico .

	Positivo	Portador	Negativo
HCV	13 (50%)	6 (23%)	7 (27%)
HIV	5 (62,5%)	2 (25%)	1 (12,5%)
HBV	1 (100%)	0	0
CMV	5 (71%)	2 (29%)	0

Se na análise do grupo hemofílicos forem excluídos os portadores do HIV, dos 78 pacientes restantes, 48 (62%) pacientes eram portadores ou positivos para *Candida*. Usando o mesmo critério para os outros vírus, temos que, dos 60 pacientes hemofílicos não contaminados pelo HCV, 36 (60%) eram positivos ou portadores para *Candida*. Dos 79 pacientes não contaminados pelo CMV, 48 (61%) eram portadores ou positivos para *Candida*. Dos 85 pacientes hemofílicos não contaminados pelo HBV, 54 (63%) eram portadores ou positivos para *Candida*. Também a análise dos 57 pacientes hemofílicos livres de qualquer contaminação viral, mostrou que 34 (60%) deles eram portadores ou positivos para *Candida* (Tabela 10).

TABELA 10 – Distribuição categorizada dos pacientes hemofílicos (sem a presença de contaminação viral) quanto a presença de *Candida*:

	Positivo	Portador	Negativo
Excluindo HCV+ (n = 60)	23 (38%)	13 (22%)	24 (40%)
Excluindo HIV+ (n = 78)	31 (40%)	17 (22%)	30 (38%)
Excluindo CMV+ (n = 79)	31 (39%)	17 (22%)	31 (39%)
Excluindo HBV+ (n = 85)	35 (41%)	19 (22%)	31 (37%)
Excluindo 2 ou + vírus (n = 57)	21 (37%)	13 (23%)	23 (40%)

Quando excluídos dois ou três fatores como uso de prótese, presença de alterações bucais e fluxo salivar reduzido dos pacientes do grupo hemofílico, dos 52 pacientes restantes, 30 (58%) eram portadores ou positivos para *Candida*, como pode ser visto mais detalhadamente na Tabela 11.

TABELA 11 – Distribuição categorizada dos pacientes hemofílicos (excluindo os que utilizam prótese dentária, portadores de alterações bucais e/ou com fluxo salivar reduzido) quanto a presença de *Candida*.

	Positivo	Portador	Negativo
Sem uso de Prótese (n = 79)	31 (39%)	18 (23%)	30 (38%)
Sem lesões bucais (n = 62)	27 (43%)	11 (18%)	24 (39%)
Sem fluxo salivar reduzido (n = 72)	28 (39%)	18 (25%)	26 (36%)
Sem 2 ou 3 dos fatores acima (n = 52)	20 (39%)	10 (19%)	22 (42%)

Analisando os pacientes hemofílicos sem nenhum dos fatores avaliados que pudessem influenciar a quantidade de *Candida* na saliva (uso de prótese,

presença de alterações bucais, fluxo salivar reduzido e alterações sistêmicas associadas a contaminações virais – HIV, HCV, HBV, e/ou CMV), dos 40 pacientes restantes 21(52,5%) eram portadores ou positivos para *Candida*.

### 5.5. Especificação de *Candida*

Dos 19 pacientes do grupo controle portadores ou positivos para *Candida*, *C. albicans* foi encontrada em 13 (68%) pacientes. A segunda espécie mais encontrada foi *C. tropicalis*, em 7 (37%) pacientes. Em 5 (26%) pacientes foi encontrado *Candida sp.*

TABELA 12 - Distribuição das espécies de *Candida* encontradas nos pacientes do grupo controle (n = 19).

Espécie	Nº de casos e porcentagem
<i>C. albicans</i>	13 (68%)
<i>C. tropicalis</i>	7 (37%)
<i>Candida sp</i>	5 (26%)

Com relação às espécies identificadas nos pacientes hemofílicos, *C. albicans* foi encontrada em 36 (65%) dos 55 portadores ou positivos para *Candida*.

A segunda espécie mais comum foi *C tropicalis*, encontrada em 28 (51%) pacientes. Outras espécies foram encontradas em frequências menores: *Candida sp* (5 pacientes), *C. krusei* (1 paciente) e *Rhodotorula rubra* (1 paciente). A distribuição das espécies de *Candida* encontradas pode ser vista na Tabela 13.

TABELA 13 - Distribuição das espécies de *Candida* encontradas nos pacientes hemofílicos (n = 55).

Espécie	Nº de casos e porcentagem
<i>C. albicans</i>	36 (65%)
<i>C. tropicalis</i>	28 (51%)
<i>Candida sp</i>	5 (9%)
<i>C. Krusei</i>	1 (2%)
<i>Rhodotorula rubra</i>	1 (2%)

TABELA 14 - Distribuição dos pacientes hemofílicos (n = 86) quanto as espécies de *Candida*.

1. <i>C. albicans</i>	2. Negativo
3. <i>C. krusei</i>	4. <i>C. tropicalis</i>
5. <i>C. tropicalis</i>	6. Negativo
7. <i>C. tropicalis</i>	8. <i>C. tropicalis</i>
9. Negativo	10. <i>C. albicans</i>
11. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	12. <i>C. albicans</i>
13. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	14. Negativo
15. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	16. Negativo
17. Negativo	18. <i>C. albicans</i>
19. Negativo	20. Negativo
21. Negativo	22. Negativo
23. Negativo	24. <i>R. Rubra</i> + <i>C. tropicalis</i>
25. Negativo	26. <i>C. tropicalis</i>
27. <i>C. tropicalis</i>	28. <i>C. tropicalis</i> + <i>C. albicans</i>
29. <i>C. albicans</i>	30. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>
31. Negativo	32. <i>C. tropicalis</i> + <i>Candida sp</i>
33. <i>C. tropicalis</i> + <i>C. albicans</i>	34. <i>C. tropicalis</i>
35. <i>C. tropicalis</i>	36. <i>C. tropicalis</i>
37. <i>C. albicans</i>	38. <i>C. albicans</i>
39. <i>C. albicans</i>	40. <i>C. albicans</i> + <i>Candida sp</i>
41. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	42. <i>C. tropicalis</i>
43. <i>C. tropicalis</i> + <i>C. albicans</i>	44. <i>C. albicans</i>
45. Negativo	46. <i>C. albicans</i>
47. <i>C. albicans</i>	48. <i>C. albicans</i>
49. Negativo	50. Negativo
51. Negativo	52. <i>C. albicans</i>
53. Negativo	54. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>
55. <i>C. albicans</i>	56. Negativo
57. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	58. <i>C. tropicalis</i>
59. <i>C. albicans</i>	60. Negativo
61. Negativo	62. Negativo
63. Negativo	64. <i>C. albicans</i>
65. Negativo	66. Negativo
67. <i>C. tropicalis</i> + <i>C. albicans</i>	68. Negativo
69. Negativo	70. Contaminou
71. <i>C. albicans</i>	72. Negativo
73. <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	74. <i>C. tropicalis</i>
75. Contaminou	76. Negativo
77. <i>C. albicans</i>	78. <i>C. albicans</i>
79. <i>C. albicans</i>	80. Negativo
81. <i>C. albicans</i>	82. <i>C. albicans</i>
83. Negativo	84. <i>C. albicans</i>
85. <i>C. tropicalis</i> + <i>Candida sp</i>	86. <i>C. tropicalis</i>



## 6. DISCUSSÃO

Hemofilia é uma desordem sanguínea hemorrágica hereditária, caracterizada pela deficiência dos Fatores VIII ou IX, que são glicoproteínas necessárias para a coagulação do sangue (SOUCIE *et al.*, 2000). Alguns achados primários ou secundários relacionados à hemofilia podem acometer os pacientes e alterar seu sistema imunológico, predispondo-os a maior risco de infecções. Dentre eles podemos destacar a maior facilidade de contaminação viral em decorrência da terapia de reposição, desregulação dos componentes do sistema imunológico, alteração da composição salivar e sangramento gengival espontâneo com consequente alteração da microbiota bucal (BRIEVA *et al.*, 1985; BIAGIOTTI *et al.*, 1986; STERNBACK *et al.*, 1987; KEKOW *et al.*, 1987; KIM *et al.*, 1989; ROY *et al.*, 1996; SAXEN *et al.*, 2001).

Pacientes hemofílicos são mais susceptíveis a portarem o fungo na cavidade bucal quando comparados aos pacientes normais. Dos pacientes hemofílicos 64% foram portadores e positivos para *Candida*, em comparação aos 44% dos pacientes do grupo controle e aos 20-50% reportados na literatura para indivíduos saudáveis (CANNON *et al.*, 1995). Apesar da alta frequência de indivíduos portadores e positivos e de elevadas contagens de *Candida* nesses pacientes, não houve presença de candidose. Foi detectado apenas um caso de

glossíte romboidal mediana, alteração no dorso lingual fortemente associada a *Candida* (ARENDRORF & WALKER, 1984).

Não houve diferença estatística significativa entre os grupos controle e hemofílico quanto as características demográficas avaliadas. A presença de mulheres no grupo controle não alterou estatisticamente os resultados obtidos quanto a quantificação e especificação de *Candida* na saliva. A homogeneidade entre os grupos propiciou maior comparabilidade entre os resultados e afasta fatores que poderiam influenciar nossos resultados.

Pacientes hemofílicos são mais susceptíveis a desenvolvimento de infecções sistêmicas. Em decorrência das frequentes transfusões de fator de coagulação que podem estar contaminadas por diversos vírus ativos ou inativos, e também em decorrência da terapia de reposição, estes pacientes podem apresentar alterações qualitativas e quantitativas dos componentes do sistema imune. Pode haver alteração da função e aumento da quantidade de linfócitos B, com conseqüente alteração da razão de células CD4/CD8 e aumento da produção de imunoglobulinas, além de alterações funcionais de células natural “*killer*”, monócitos e macrófagos. Essas alterações podem aumentar a susceptibilidade desses pacientes a desenvolverem infecções (BRIEVA *et al.*, 1985; BIAGIOTTI *et al.*, 1986; STERNBACK *et al.*, 1987; KEKOW *et al.*, 1987; KIM *et al.*, 1989).

Apesar de hemofílicos terem maior quantidade de *Candida* na saliva, não foi constatado maior presença de candidose em nossos pacientes. Isto poderia nos

fazer concluir que uma possível deficiência imunológica causada por infecções virais ou por desregulação do sistema imune poderia ter influenciado a quantificação de *Candida*, mas não influenciou no desenvolvimento da infecção pelo fungo.

Hemofilia A e B graves necessitam mais frequentemente de terapia de reposição, logo as alterações pertinentes ao sistema imunológico são mais intensas nesses pacientes e, conseqüentemente, estes são mais susceptíveis a infecções (KIM *et al.*, 1989). Analisando nossos resultados, a alteração no sistema imunológico, em decorrência da grande quantidade de transfusões de fator, não influenciou a quantificação de *Candida*. Não houve diferença estatística entre os subtipos de hemofilia quanto a presença e a quantificação de *Candida*. Os resultados entre todos subtipos de hemofilia foram similares e houve uma variação na incidência de *Candida* nos tipos de hemofilia, não respeitando a ordem entre hemofilia grave, moderada e leve. Isto faz-nos concluir que o fator terapia de reposição associado a desregulação do sistema imune não influenciou a colonização e contagem de UFCs de *Candida*.

A composição salivar pode estar alterada em decorrência da presença de vírus contraídos durante a terapia de reposição (ROY *et al.*, 1996) ou por alteração dos componentes do sistema imune, refletida principalmente pelo aumento da quantidade de imunoglobulinas como IgA, que podem ocorrer também em decorrência da terapia de reposição (BRIEVA *et al.*, 1985; BIAGIOTTI *et al.*, 1986; STERNBACK *et al.*, 1987; KEKOW *et al.*, 1987; KIM *et al.*, 1989). Por outro lado,

esta alteração da composição salivar pelo aumento de IgA poderia funcionar de forma inversa dificultando o desenvolvimento de *Candida*.

Os efeitos da terapia de reposição não alteraram a composição da saliva a ponto de influenciar na colonização de *Candida*, apesar das evidências encontradas na literatura (BRIEVA *et al.*, 1985; BIAGIOTTI *et al.*, 1986; STERNBACK *et al.*, 1987; KEKOW *et al.*, 1987; KIM *et al.*, 1989). Isto pode ser comprovado pela similaridade dos resultados encontrados em nosso estudo entre os subtipos de hemofilia. Uma vez que pacientes portadores de hemofilia grave necessitam mais frequentemente de transfusão de fator de coagulação, estes teriam que apresentar uma maior alteração da composição salivar e uma maior presença de *Candida* na cavidade bucal, o que não foi encontrado em nossos pacientes. Assim, não houve associação entre frequência de transfusão de fator com alteração da composição salivar e colonização de *Candida*.

O fluxo salivar reduzido é considerado junto com a alteração da composição da saliva, o fator mais importante na proliferação de *Candida* e desenvolvimento de candidose (PARVINEN & LARMAS, 1981; OKSALA, 1990; FOTOS *et al.*, 1992; NAVAZESH *et al.*, 1992; NÄRHI *et al.*, 1993). Em nosso estudo, observamos uma diferença estatística quando comparamos as médias do fluxo salivar nos pacientes do grupo controle e do grupo hemofílico onde os pacientes hemofílicos apresentaram uma média de fluxo salivar significativamente

menor quando comparada ao do grupo controle. Houve correlação inversa entre o fluxo salivar e a contagem de UFCs, porém sem significância estatística..

O fluxo salivar reduzido nos pacientes hemofílicos poderia contribuir para a maior colonização de *Candida*. Por outro lado, a média de fluxo salivar dos hemofílicos pode ser considerada normal ainda que menor que a do grupo controle, não justificando o aumento da colonização de *Candida* nesses indivíduos.

Outro fator que pode influenciar no fluxo salivar é a utilização de algumas drogas (SREEBNY & SCHWARTZ, 1986; SCHUBERT & IZUTSU, 1987; MILLER *et al.*, 1992; GILBERT *et al.*, 1993; LUCAS, 1993). Em nosso estudo, apenas dois pacientes de cada grupo estavam utilizando alguma medicação no momento da coleta de saliva, sendo que, um paciente era positivo e o outro negativo em cada grupo, o que não nos mostra diferença estatística.

Uma das principais alterações bucais na hemofilia é o sangramento gengival espontâneo e sangramento perante menor trauma (SOUCIE *et al.*, 2000). Este fato pode estar associado a alteração da microbiota bucal e consequente alteração da composição da saliva.(SAXEN *et al.*, 2001).

Em nosso estudo apenas um paciente do grupo controle apresentou lesão bucal, enquanto 24 pacientes do grupo hemofílico apresentaram alguma alteração bucal no momento da consulta. Esta diferença pode ser explicada em parte, pelo fato de que desses 24 pacientes, 10 apresentavam sangramento gengival inerente a hemofilia. Sangramento gengival dificulta a higienização aumentando a inflamação

gingival e podendo favorecer a colonização de *Candida*, quer seja pela alteração da composição da saliva (PARVINEN & LARMAS, 1981; OKSALA, 1990; FOTOS *et al.*, 1992; NAVAZESH *et al.*, 1992; NÄRHI *et al.*, 1993), ou pelas ulcerações e descontinuidade causadas na mucosa bucal (JONES & RUSSEL, 1973; SHAKIR *et al.*, 1983; BERDICEVSKY *et al.*, 1984; ARENDORF & ADDY, 1985; SARAMANAYKE, 1986; JORGE *et al.*, 1987; MENTNER *et al.*, 1990; OKSALA, 1990; FOTOS *et al.*, 1992; JORGE *et al.*, 1993; JORGE *et al.*, 1997; NAGY *et al.*, 1998; PIRES *et al.*, 1999).

Dos 24 pacientes hemofílicos com alterações bucais, 7 eram negativos para *Candida*, 7 portadores e 10 positivos para *Candida*. Em nosso estudo, 71% dos pacientes com alterações bucais eram portadores ou positivos para *Candida*. Isto confirma que a presença de alteração bucais é um fator que pode influenciar na colonização de *Candida* na cavidade bucal.

A incidência de *Candida* na saliva pode ser influenciada pela sensibilidade dos métodos de detecção, e a disparidade entre os estudos reflete diferenças quanto a idade, gênero, presença de próteses, aparelhos ortodônticos, hábito de tabagismo, presença de cárie, condição periodontal e higiene bucal deficiente da população estudada, assim como tamanho da amostra. Além dos fatores citados acima, deficiências imunológicas congênitas ou adquiridas e o uso de medicamentos influenciam a incidência de *Candida* (STENDERUP 1990, FOTOS *et al.*, 1991).

Pacientes idosos, hospitalizados ou não, podem apresentar diversos fatores que contribuem para o desenvolvimento de *Candida*. Entre eles podemos ressaltar o uso de próteses, aumento do número de lesões associadas ao uso de próteses, precária condição geral dos dentes, higienização deficiente, diminuição do fluxo salivar associada ou não ao aumento da utilização de medicamentos (JORGE *et al.*, 1991; SAMARANAYAKE *et al.*, 1995; BUDTZ-JÖRGENSEN *et al.*, 1996; PIRES *et al.*, 1999). Comparando a idade média dos dois grupos, notamos uma proximidade dos valores, com médias de 29,35 e 27,5 anos para o grupo controle e hemofílico, respectivamente, não havendo diferença estatística entre os dois grupos. Este dado nos indica que nossa população alvo trata-se de pacientes predominantemente jovens, onde os fatores que influenciam o desenvolvimento de *Candida* nos idosos devem ser apenas parcialmente considerados.

A associação do tabagismo, em conjunto ou não com o etilismo, no aumento do número e variação das espécies de *Candida* na cavidade bucal, é controversa (BASTIAAN & READE, 1982; OLIVER & SHILLITOE, 1984; STENDERUP, 1990; PIRES *et al.*, 1999). Em nosso estudo, tivemos uma variação significativa dessas variantes nos dois grupos. No grupo controle tivemos 7 (16%) pacientes fumantes de um total de 43, enquanto no grupo hemofílico tivemos 3 (3,5%) pacientes fumantes de um total de 86. Quando avaliamos o etilismo, temos que no grupo controle 4 (9%) pacientes consumiam álcool de forma crônica e no grupo hemofílico nenhum paciente relatou esse hábito. Isto nos indica que em nossa

amostra os pacientes do grupo controle consomem mais álcool e tabaco quando comparados ao grupo hemofílico. Uma razão talvez seja o fato dos pacientes do grupo hemofílico serem pacientes com uma patologia sistêmica que precisem de cuidados especiais, podendo se consentizarem mais facilmente dos riscos que esses vícios podem trazer à saúde, evitando esses dois hábitos.

Dos três pacientes fumantes do grupo hemofílico, todos foram portadores ou positivos para *Candida*, e dos 7 pacientes fumantes do grupo controle, 6 (86%) eram portadores ou positivos para *Candida*. Avaliando os quatro pacientes do grupo controle que consumiam álcool, 3 (75%) eram portadores ou positivos para *Candida*. Isto indica que tabagismo e etilismo influenciam na colonização de *Candida* na saliva.

Uso de próteses dentárias também podem influenciar a colonização de *Candida* (BUDTZ-JÖGENSEN & LÖE, 1972; BUDTZ-JÖRGENSEN & KNUDSEN, 1978; ROTROSEN *et al.*, 1986; EPSTEIN, 1990; PIRES, 1999). No grupo controle apenas um paciente fazia uso de prótese, enquanto no grupo hemofílico 7 pacientes utilizavam, contudo essa diferença não é estatisticamente significativa. Avaliando os sete pacientes que utilizam próteses no grupo de hemofílico, 6 (86%) eram portadores ou positivos para *Candida*, o que vêm confirmar que utilização de próteses dentárias é fator agravante para *Candida*.

Inúmeros são os fatores sistêmicos que têm sido relacionados à candidose (OKSALA, 1990; JORGE *et al.*, 1993; CANNON *et al.*, 1995; WILSON, 1998).

Quadros de imunossupressão, como a AIDS, tem sido relacionado à maior susceptibilidade à candidose e infecção por espécies de *Candida* usualmente não encontradas em pacientes saudáveis (ODDS *et al.*, 1989; TYLENDÁ *et al.*, 1989; FRANKER *et al.*, 1990; BONAURE-MALLET, 1996; TEANPAISAN & NITTAYANANTA, 1998). Portadores de hepatite crônica também têm sido relacionados ao aumento de fatores que predisõem o desenvolvimento de candidose (GIANGRANDE, 1998).

Dos 86 pacientes hemofílicos, 29 eram portadores de um ou mais vírus. Destes 29 pacientes, 8 eram portadores do HIV; sendo que deste 8 pacientes HIV-positivos, 7 (87,5%) eram portadores e positivos para *Candida*. Todos os 8 pacientes estavam em fase crônica da infecção pelo HIV, utilizando coquetel anti-retroviral e não apresentando doença ativa. Este fato confirma que o vírus HIV é um fator que influencia na colonização de *Candida* na cavidade bucal, como já demonstrado na literatura (WRAY *et al.*, 1990; PHILP *et al.*, 1991).

Analisando infecção por outros vírus, dos 86 pacientes hemofílicos, 26 (30%) eram infectados pelo HCV, sendo destes 19 (73%) portadores ou positivos para *Candida*; 7 (8%) eram infectados pelo CMV, todos eles portadores ou positivos para *Candida*; 1 era infectado pelo HBV, e também positivo para *Candida*; e 8 (9%) estavam infectados pelo HCV, CMV e HIV em conjunto, sendo os 8 pacientes portadores ou positivos para *Candida*. Isto indica que pacientes hemofílicos

portadores de algum vírus (HCV, HBV, CMV, e/ou HIV) são mais propensos a serem portadores ou positivos para *Candida* na saliva.

Quando excluimos os pacientes portadores de vírus (HIV, HCV, HBV e/ou CMV) do nosso grupo de hemofílicos, os resultados obtidos em relação a pacientes portadores e positivos para *Candida* são similares entre si e aos do grupo hemofílico bruto. Isto nos indica que o fator presença de vírus (HIV, HCV, HBV e/ou CMV) não influenciou na colonização de *Candida* em nossos pacientes hemofílicos, embora este achado possa ser decorrente da pequena quantidade de pacientes portadores desses vírus em nosso estudo. O mesmo ocorreu quando analisamos os resultados excluindo os pacientes tabagistas, etilistas, usuários de próteses, que utilizavam medicações ou que apresentavam alterações bucais. Todos os resultados são semelhantes no que diz respeito a presença de *Candida* nos subgrupos em comparação ao grupo total dos hemofílicos, sem diferenças estatísticas.

Todos os fatores excluídos nessa última análise são capazes de influenciar o desenvolvimento de *Candida*, mas devido ao pequeno número de pacientes que sofreram influência de um ou mais desses fatores, estes não foram capazes de influenciar os resultados de nossa pesquisa. Caso quiséssemos avaliar a influencia desses fatores no desenvolvimento de *Candida* em hemofílicos, uma maior quantidade de pacientes sob influencia deles teria de ser avaliada, o que foge dos objetivos iniciais da pesquisa.

*C. albicans* é a espécie mais comum na cavidade bucal, constituindo 60 a 90% das espécies, podendo ser isolada a partir de crianças e adultos saudáveis ou portadores de candidose, incluindo usuários de prótese, indivíduos HIV-positivos e pacientes xerostômicos (ARENDRORF & WALKER, 1979; FRANKER *et al.*, 1990; PAULA *et al.*, 1990; BLAIR *et al.*, 1995; DARWAZEH & ALBASHIR, 1995; KOGA-ITO, 1997; RAMIREZ-AMADOR *et al.*, 1997; KINDELAN *et al.*, 1998). Em nosso estudo, *C. albicans* foi identificada em 36 (65,5%) pacientes hemofílicos, seguida de *C. tropicalis* identificada em 28 (51%) pacientes. No grupo controle, *C. albicans* foi identificada em 13 (68%) e *C. tropicalis* em 7 (37%) pacientes. Este resultado confirma que *C. albicans* e *C. tropicalis* são as espécies mais encontradas na cavidade bucal. Não houve diferença significativa quanto as espécies de *Candida* encontradas nos dois grupos.

Dentre os 40 pacientes hemofílicos que não sofreram influência de nenhum dos fatores analisados, dos 21 pacientes portadores ou positivos para *Candida*, 16 (76%) apresentaram *C. albicans* e 10 (47%) *C. tropicalis*. Estes dados suportam a idéia que nenhum dos fatores analisados foram capazes de alterar a especificação de *Candida*.

Cabe ainda ressaltar a grande porcentagem de *C. tropicalis* encontrada nos dois grupos quando comparados a índices da literatura (CANNON *et al.*, 1995). Não houve associação da maior quantidade dessa espécie em nossos pacientes com qualquer fator analisado.



## 7. CONCLUSÕES

1. Pacientes hemofílicos apresentaram maior porcentagem de pacientes considerados portadores ou positivos para *Candida* e maior quantidade de *Candida* na saliva quando comparados aos pacientes do grupo controle.
2. Pacientes hemofílicos não desenvolveram candidose em cavidade bucal com maior frequência, apesar do aumento da quantidade de *Candida* na saliva.
3. O fluxo salivar dos pacientes hemofílicos foi menor que o dos pacientes do grupo controle.
4. A frequência de alterações bucais foi maior nos pacientes hemofílicos quando comparados aos pacientes do grupo controle.
5. Não foi possível estabelecer nenhum fator inerente a hemofilia que contribuísse significativamente com o aumento da quantificação de *Candida* e com a maior prevalência de pacientes considerados portadores e positivos para *Candida* na saliva.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>**

- AGUIRRE, J. M.; VERDUGO, F.; ZAMACOMA, J. M.; *et al.* Cytological changes in oral mucosa in denture stomatitis. **Gerodontology**, Basel, v.13, n.1, p.63-67, jul. 1996.
- ALLEN, C. M. Diagnosing and managing oral candidiasis. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.123, n.1, p.77-78, 81-82, jan. 1992.
- ALLEN, C. M.; BECK, F. M. Differences in mucosal reaction related to *Candida albicans* isolated. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v.16, n.2, p.89-93, feb. 1987.
- ARENDORF, T.; ADDY, M. Candidal carriage and plaque distribution before, during and after removable orthodontic appliance therapy. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 12, n.5, p.360-368, may 1985.
- ARENDORF, T.; WALKER, D. M. Oral candidal populations in health and disease. **Br. Dent. J.**, London, v.147, n.10, p.266-272, 20 nov. 1979.
- ARENDORF, T.; WALKER, D. M. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.25, n.1, p.1-10, 1980.
- ARENDORF, T.; WALKER, D. M. Tobacco smoking and denture wearing as local aetiological factor in median rhomboid glossitis. **Int. J. Oral Surg.**, Copenhagen, v.13, n.5, p.411-415, oct. 1984.

---

<sup>1</sup> Baseado em  
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro, Referências Bibliográficas  
NBR 6023 Rio de Janeiro, 1989, 19p  
Abreviaturas de periódicos de acordo com o *Index to Dental Literature* e *Index Medicus*

- ARENDORF, T.; ADDY, M.; KINGDON, R. J.; *et al.* Tobacco smoking and denture wearing in oral candidal leukoplakia. **Br. Dent. J.**, London, v.155, n.10, p.340-343, 19 nov. 1983.
- ARRUDA, V. R. Detecção de portadoras e caracterização molecular da hemofilia em uma população brasileira. Campinas, 1995. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade estadual de Campinas.
- ASHMAN, R. B.; PAPADIMITRIOU, J.M. What's new in the mechanism of host resistance to *Candida albicans* infection? **Pathol. Res. Pract.**, Stuttgart, v.186, n.4, p.527-534, aug. 1990.
- AXÉLL, T.; SAMARANAYAKE, L. P.; REICHART, P. A.; *et al.* A proposal for reclassification of oral candidiasis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 84, n.2, p.111-112, aug. 1997.
- BARRET, A. W.; KINGSMILL, V., J.; SPEIGHT, P. M. The frequency of fungal infection in biopsies of oral mucosal lesions. **Oral Dis.**, Hound mills, v.4, n.1, p.26-31, mar. 1998.
- BARRET-BEE, K.; *et al.* A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. **J. Gen. Microbiol.**, London, v.131, n.5, p.1217-1221, may 1985.
- BASTIAAN, R. J.; READE, P. C. The prevalence of *Candida albicans* in the mouth of tobacco smokers with and without oral mucous membrane keratosis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.53, n.2, p.148-151, feb. 1982.
- BEEN-ARYEH, H.; MIRON, D.; SZARGEL, R.; *et al.* Whole-saliva secretion rates in old and young healthy subjects. **J. Dent. Res.**, Washington, v.63, n.9, p.1147-1148, sep. 1984.

- BEIGUELMAN, B. **Citogênita humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.
- BEIGUELMAN, B. **Curso prático de Bioestatística**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991.
- BERDICEVSKY, I.; BEN-ARYEH, H.; SZARGEL, R.; *et al.* Oral *Candida* in children. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, St Louis, V.51, n.1,p.37-40, jan. 1994.
- BERGENDAL, T.; HOLBERG, K.; NORD, C-E. Yeast colonization in the oral cavity and feces in patients with denture stomatitis. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.37, n.1, p.37-45, 1979.
- BIAGIOTTI, R.; GIUDIZI, M. G., ALMERIGOGNA, F.; *et al.* Abnormalities of in vitro immunoglobulin production in apparently healthy haemophiliacs: relationship with alterations of T cell subsets and with HTLV-III seropositivity. **Clin. Exp. Immunol.**, Oxford, v. 63, n.2, p.354-358, feb. 1986.
- BIGGS, R. **Blood coagulation, haemostasis and thrombosis**. Oxford: Blackwell, 1976.
- BILLINGS, R. J.; PRONSKIN, H. M.; MOSS, M. E. Xerostomia and associated factors in a community-dwelling adult population. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.24, n.5, p.312-316, oct. 1996.
- BLAIR, Y.; BAGG, J.; MacFARLANE, T. W.; *et al.* Microbiological assessment of denture hygiene among patients in longstay and daycare community places. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.23, n.2, p.100-1003, april 1995.

- BONACINI, M.; PUOTI, M. Hepatitis C in patients with human immunodeficiency virus infection: diagnosis, natural history, meta analysis of sexual and vertical transmission and therapeutic issues. **Arch. Int. Med.**, Chicago, v.160, n.22, p.3365-3373, dec. 2000.
- BRIEVA, J. A.; SEQUI, J.; ZABAY, J. M.; *et al.* Abnormal B cell function in haemophiliacs and their relationship with factor concentrates administration. **Clin. Exp. Immunol.**, Oxford, v.59, n.2, p.491-498, feb. 1985.
- BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy and prophylaxis of oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.61-69, feb. 1990.
- BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. Diagnosis of oral candidiasis. **Acta. Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.37-43, 1990.
- BUDTZ-JÖRGENSEN, E.; KNUDSEN, A., M. Chlorhexidine gel and Steradent® employed in cleaning dentures. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.36, n.2, p.83-87, 1978.
- BUDTZ-JÖRGENSEN, E.; LÖE, H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.80, n.6, p.457-464, 1972.
- BUNETEL, L.; BONNAURE-MALLET, M. Oral pathoses caused by *Candida albicans* during chemotherapy: update on development mechanisms. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.82, n.2, p.161-165, aug. 1996.

- CANNON, R., D.; HOLMS, A. R.; MASON, A. B.; *et al.* C. Oral *Candida*: clearance, colonization or candidiasis? **J. Dent. Res.**, Washington, v.74, n.5, p.1151-1161, may 1995.
- CHALLACOMBE, S. J. Immunologic aspects of oral candidiasis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.78, n.2, p.202-210, aug. 1994.
- COLOWICK, A. B.; BOHN, R. L.; AVORN, J.; *et al.* Immune tolerance induction in hemophilia patients with inhibitors: costly can be cheaper. **Blood**, Duluth, v.96, n.5, p.1698-1702, sep. 2000.
- DARBY, S. C.; EWART, D. W.; GIANGRANDE, P. L. F.; *et al.* Mortality before and after HIV infection in the complete UK population of haemophiliacs. **Nature**, London, v.377, n., p. 79-82, 1995.
- DARWAZEH, A. M.; AL-BASHIR, A. Oral candidal flora in healthy infants. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.24, n.8, p.361364, sep. 1995.
- DAWES, C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. **J. Dent. Res.**, Washington, v.66, n.Spec No., p.648-653, feb. 1987.
- De CASTRO, M.; SANCHEZ, J.; HERRERA, J. F.; *et al.* Hepatitis C antibodies and liver disease in patients with porphyria cutanea tarda. **Hepatology**, Philadelphia, v.17, n., p.551-557, 1993.
- DOROCCA-BOBKOWSKA, B.; BUDTZ-JÖRGENSEN, E.; WLOCH, S. Non-insulin-dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.25, n.8, p.411-415. sep. 1996.

- EDGAR, W. M. Saliva: its secretion, composition and functions. **Br. Dent. J.**, London, v.172, n.8, p.305-312, 25 apr. 1992.
- EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J. M.; PENASSE, C.; *et al.* Haemophilias: advances towards genetic engineering replacement therapy. **Clin. Lab. Haematol.**, Oxford, v.22, n.6, p.313-323, dec. 2000.
- EPSTEIN, J. B., Antifungal therapy in oropharyngeal mycotic infections. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.69, n.1, p.32-41, jan. 1990.
- EPSTEIN, J. B.; FREILCH, M. M.; LE, N. D. Risk factors for oropharyngeal candidiasis in patients who receive radiation therapy for malignant conditions of the head and neck. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.76, n.2, p.169-174, aug. 1993.
- EPSTEIN, J. B.; KIMURA, L. H.; MENARD, T. W.; *et al.* Effects of specific antibodies in the interaction between the fungus *Candida albicans* and human oral mucous. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.27, n.6, p.469-474, 1982.
- EPSTEIN, J. B.; SCULLY, C. The role of saliva in oral healthy and the causes an effects of xerostomia. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v.58, n.3, p.217-221, mar. 1992.
- FICARRA, G.; CHIODO, M.; MORFINI, M.; *et al.* Oral lesions among HIV-infected hemophiliacs. A study of 54 patients. **Haematologica**, Roma, v.79, n.2, p.148-153, mar.-apr. 1994.
- FIELD, E. A.; FIELD, J. K.; MARTIN, M. V. Does *Candida* have a role in oral ephitelial neoplasia? **J. Med. Vet. Mycol.** , Oxford, v.27, n.5, p.277-294, 1989.

- FOTOS, P. G.; HELLSTEIN, J. W.; VINCENT, S. D. Oral candidosis revisited. **Gen. Dent.**, Chicago, v.39, n.6, p.422-430, nov.-dec. 1991.
- FOTOS, P. G.; HELLSTEIN, J. W.; VINCENT, S. D. Oral candidosis: clinical, historical and therapeutic features of 100 cases. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.74, n.1, p.41-49, jul. 1992.
- FRANKER, C. K.; LUCARTORTO, F. M.; JONSON, B. S.; *et al.* Characterization of the microflora from oral mucosal surfaces of some HIV-infected patients. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.69, n.6, p.683-687, jun. 1990.
- GIANGRANDE, P. L. F. Hepatitis in haemophilia. **Br. J. Haematol.**, Oxford, v.103, n.1, p.1-9, oct. 1998.
- GILBERT, G. H.; HEFT, M. W.; DUINCAN, R. P. Mouth dryness as reported by older Floridians. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.21, n.6, p.390-397, dec. 1993.
- GRAD, H.; GRUSHKA, M.; YANOVER, L. Drug induced xerostomia: the effects and treatment. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v.51, n.4, p.296-300, apr.1985.
- GREENSPAN, D. Treatment of oral candidiasis in HIV infection. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.78, n.2, p.211-215, aug. 1994.
- HANDELMAN, S. L.; BARIC, J. M.; SAUNDERS, R. H.; *et al.* Hiposalivatory drug use, whole stimulated salivary flow, and mouth dryness in older, long-term care residents. **Spec. Care Dent.**, Chicago, v.9, n.1, p.12-18, jan.-fev. 1989.

- HEIMDAHL, A.; NORD, C. E. Oral yeasts infections in immunocompromised and seriously diseased patients. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.77-84, feb. 1990.
- HIGH, K. A. Gene transfer as an approach to treating hemophilia. **Cir. Res.**, Philadelphia, v.88, n.2, p.137-144, feb. 2001.
- HOLMSTRUP, P. Tobacco and oral candidiasis. Abstracts of the EU-Working Group on Tobacco and Oral Health Consensus meeting – Copenhagen 23-26 October 1997. **Oral Dis.**, Houndmills, v.4, n., p.53-54, 1998.
- HOLMSTRUP, P.; AXÉLL, T. Classification and clinical manifestations of oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p. 57-59, feb. 1990.
- HOLMSTRUP, P.; BESSERMAN, M. Clinical, therapeutic and pathogenic aspects of chronic oral multifocal candidiasis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.56, n.,p.388-395, 1983.
- HOYER, L. W. Medical progress: Hemophilia A. **N. Engl. J. Med.**, Massachusetts, v.330, n.1, p.38-47, jan. 1994.
- JONES, J. H.; RUSSEL, C. Experimental oral candidiasis in wealing rats. **J. Dent. Res.**, Washington, v.52, n.1, p.182, jan.-feb. 1973.
- 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**, São Paulo, v.11, n.4, p.279-285, 1997.
- JORGE, A. O. C.; ALMEIDA, N. Q.; UNTERKIRCHER, C. S.; *et al.* Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de *Candida albicans* na

- cavidade bucal. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.41, n.6, p. 308-310, nov.-dez. 1987.
- JORGE, A. O. C.; TOTTI, M. A. G.; ALMEIDA, O. P.; *et al.* Effects of sialoadenectomy on the carriage of *Candida albicans* in the mouth of rates. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.22, n.3, p.138-140, mar. 1993.
- JORGE, J. Jr.; ALMEIDA, O. P.; BOZZO, L.; *et al.* Oral mucosal health and disease in institutionalized elderly in Brazil. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.19, n.3, p. 173-175, jun. 1991.
- KEKOW, J.; PLENDL, H.; GROSS, W. L. Influence of factor substitution on the B-cell response in hemophiliacs. **Cancer Detect. Prev. Suppl.**, Cambridge, v.1, p. 43-49, 1987.
- KIM, K.-Y.; YANG, C. H.; KANG, S. H.; *et al.* A comprehensive study of immunological abnormalities in Korean hemophiliacs. **Yonsei Med. J.**, Seoul, v.30, n.2, p.180-186, may 1989.
- KIMURA, L. H.; PEARSAL, N. N. Adherence of *Candida* to human buccal epithelial cells. **Infect. Immunol.**, Washington, v.21, n.1, p.64-68, jul. 1978.
- KIMURA, L. H.; PEARSAL, N. N. Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. **Infect. Immunol.**, v.28, n.2, p.464-468, may 1980.
- KINDELAN, S. A.; YEOMAN, C. M.; DOUGLAS, C. W. I.; *et al.* A comparison of intraoral *Candida* carriage in Sjögren's syndrome patients with healthy xerostomic controls. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St Louis, v.85, n.2, p.162-167, feb. 1998.

- KOGA-ITO, C. Y. Correlação entre presença de estreptococos do grupo *mutans* e grupo *Candida* com níveis de IgA na saliva humana. Piracicaba, 1997. 154p. Tese (Doutorado em Biologia e Patologia Buço-Dental) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
- KREGGER-van RIJ, N. J. W. **The Yeasts: a taxonomic study**. 3<sup>rd</sup> ed., Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984. Pp: 585-844.
- KROGH, P. Yeast species and biotypes associated with oral leukoplakia and lichen planus. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.63, n.1, p.48-54, jan. 1987.
- KULKARNI, R.; LUSHER, J. Perinatal management of newborns with haemophilia. **Br. J. Haematol**, Oxford, v.112, n.2, p.264-274, feb. 2001.
- KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. **Medical Mycology**. Lea & Febiger: Philadelphia, 1992. Part IV. Subcutaneous and Deep Mycoses. Chapter 13. Candidiasis. p. 280-336.
- LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. Guia para identificação – fungos, actinomicetos, algas – de interesse médico. Sarvier-FAPESP, 1998, São Paulo, Capítulo 2, p. 86-139.
- LARONE, D. H. Medically important fungi: a guide to identification. ASM Press, Washigton, 1995. Chapter 4: Yeasts and yeastlike organism. P.61-89.
- LAY, K. M.; RUSSEL, C. *Candida* species and yeast in mouth of infants from a special care of a maternity hospital. **Arch. Dis. Child.**, London, v.52, n.10, p.794-804, oct. 1977.

- LEE, C. A. The natural history of HIV disease in haemophilia. **Blood Rev.**, Edinburgh, v.12, n., p.135-144, 1998.
- LIN, L. A.; JOHNSON, D. A.; PATTERSON, T. F.; et al. Salivary anticandidal activity and saliva composition in an HIV-infected cohort. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v.16, n.5, p. 270-278, feb. 2001.
- LUCAS, V. S. Association of psychotropic drugs, prevalence of denture- related stomatitis and oral candidiasis. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.21, n.5, p.313-316, oct. 1993.
- LUDLAN, C. A. On be half of UKHCDO Executive committe. Guildelines on therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary coagulation disorders. **Haemophilia**, London, v.3, p.63-72, 1997.
- LYNCH, D. P. Oral candidiasis. History, classification and clinical presentation. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.78, n.2, p.189-193, aug. 1994.
- MacFARLANE, T. W.; SARAMANAYAKE, L. P. **Clinical oral microbiology**. London: Wright, 1989.
- MANNUCCI, P. M.; TUDDENHAM, E. G. D. Medical progress: The hemophilias – from royal genes to gene therapy. **N. Engl. J. Med.**, Massachusetts, v.344, n.23, p.1773-1779, jun. 2001.
- MARKOVA, I. The haemophilic patient's self perception of changes in health and life – style arising from self-treatment. **Int. J. Reahbil. Res.**, London, v. 6, n., p.11-18,1983.

- MAZZARO, C.; ZAGONEL, V.; MONFARDINI, S.; *et al.* Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphomas. **Br. J. Haematol.**, Oxford, v.94, p.544-550, 1996.
- MEURMAN, J. H.; RANTONEN, P. Salivary flow rate, buffering capacity, and yeast counts in 187 consecutive adults patients from Kuopio, Finland. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 102, n.4, p. 229-234, aug. 1994.
- MILLER, C. S.; KAPLAN, A. L.; GUEST, G. F.; *et al.* Documenting medication use in adult dental patients: 1987-1991. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.123, n.11, p.40-48, nov. 1992.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE – Coordenação de sangue e hemoderivados – Normas técnicas para o tratamento de hemofilia, p. 36, Brasília, 1994.
- MISIANI, R.; BELLAVITA, L.; FENILI, D.; *et al.* Interferon alfa-2<sup>a</sup> therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus.. **N. Engl. J. Med.**, Massachusetts, v. 330, p.751-756, 1994.
- NAGY, K. N.; SONKOD, I.; SZOKE, I.; *et al.* The microflora associated with oral carcinomas. **Oral Oncol.**, v.34, n.4, p.304-308, jul. 1998.
- NÄRHI, T. O. Prevalence of subjective feelings of dry mouth in the elderly. **J. Dent. Res.**, Washington, v.73, n.1, p.20-25, jan. 1994.
- NÄRHI, T. O.; AINAMO, A.; MEURMAN, J. H. Salivary yeasts, saliva, and oral mucosa in the elderly. **J. Dent. Res.**, Washington, v.72, n.6, p.1009-1014, jun. 1993.
- NÄRHI, T. O.; MEURMAN, J. H. AINAMO, A.; *et al.* Association between salivary flow rate and the use of systemic medication among 76-, 81- and 86-year-old

inhabitants in Helsinki, Finland. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, n.12, p.1875-1880, dec. 1992.

NÄRHI, T. O.; TENOVUO, J.; AINAMO, A.; *et al.* Antimicrobial factors, sialic acid, and protein concentration in whole saliva of the elderly. **Scand. J. Dent. Res.** Copenhagen, v.102, n.2, p.120-125, apr. 1994.

NAVAZESH, M.; *et al.* Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, n.7, p.1363-1369, 1992.

NAVAZESH, M.; CHRISTENSEN, C.; BRIGHTMAN, V.J. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, n.7, p.1363-1369, jul. 1992.

NAVAZESH, M.; WOOD, G. J.; BRIGHTMAN, V.J. Relationship between salivary flow rates and *Candida albicans* count. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.80, n.3, p.284-288, sep. 1995.

NEDERFORS, T.; ISAKSSON, R.; MÖRNSTAD, H.; *et al.* Prevalence of perceived symptoms of dry mouth in a adult Swedish population – relation to age, sex and pharmacotherapy. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.25, n.3, p.211-216, jun. 1997.

NEDERFORS, T. Oral mucosal friction and subjective perception of dry mouth in relation to saliva secretion. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.101, n.1, p.44-48, feb. 1993.

ODDEN, K.; SCHENCK, K.; KOPPANG, H. S.; *et al.* Candidal infection of the gingiva in the HIV-infected person. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.23, n.4, p.178-183, apr. 1994.

- ODDS, F. C. Ecology and epidemiology of *Candida* species. **Zbl. Bakt. Hyg A.**, Stuttgart, v.257, p.207-212, 1984.
- OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.71-74, feb. 1990.
- OLIVEIRA, N. G. **Dicionário Médico Ilustrado Dorland** : São Paulo, Manole, 1999.
- OLIVER, D. E.; SHILLITOE, E. J. Effects of smoking on the prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans*. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v.13, n.3, p.265-270, jun. 1984.
- OLSEN, I.; STENDERUP, A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.11-18, feb. 1990.
- ÖSTERBERG, T.; LANDAHL, S.; HEDEGARD, B. Salivary flow, saliva, pH and buffering capacity in 70-year-old men and women: correlation to dental health, dryness in the mouth, disease and drug treatment. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v.11, n.2, p.157-170, mar. 1984.
- PARVINEN, T.; LARMAS, M. Age dependency of stimulated salivary flow rate, pH and *Lactobacillus* and yeast concentrations. **J. Dent. Res.**, Washington, v.61, n.9, p.1052-1055, sep. 1982.
- PARVINEN, T.; LARMAS, M. The relation of stimulated salivary flow rate and pH to *Lactobacillus* and yeast concentrations in saliva. **J. Dent. Res.**, Washington, v.60, n.12, p.1929-1935, dec. 1981.

- PAULA, C. R.; SAMPAIO, M. C.; BIRMAN, E. G.; *et al.* Oral yeasts in patients with cancer of the mouth, before and during radiotherapy. **Mycopathologia**, Dordrecht, v.112, n.2, p.119-124, nov. 1990.
- PAWLOTSKY, J. M.; BEM YAHIA, M.; VOISIN, M. C.; *et al.* Immunologic disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. **Hepatology**, Philadelphia, v.19, p. 841-848, 1994.
- PEDERSEN, A.; RINDUN, J. L.; REIBEL, J.; *et al.* Carcinoma *in situ* and carcinoma in patients with chronic oral candidiasis. **Tandlaegebladet**, Copenhagen, v.93, n.13, p.509-513, sep. 1989.
- PHILIP, C. F. Saliva and salivary gland alterations in HIV infections. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.122, n., p.122-146, 1991.
- PIRES, F. R. características clínicas de pacientes edêntulos e presença de candidíase na saliva antes e seis meses a confecção de novas próteses totais. Piracicaba, 1999. p.139. Tese (mestrado em Biologia e Patologia Buço-Dental) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
- POLONELLI, L.; CONTI, S.; MENOZZI, M. G.; *et al.* Diagnostic potential of IgA coated *Candida* cells in mucous membrane candidiasis. **Mycopathologia**, Dordrecht, v.116, n.2, p.105-112, nov. 1991.
- QIAN, J.; COLLINS, M.; SHARPE, A. H.; *et al.* Prevention and treatment of factor VIII inhibitors in murine hemophilia A. **Blood**, Duluth, v.95, n.4, p.1324-1329, feb. 2000.
- REICHART, P. A.; SCHMIDT-WESTHAUSEN, A.; SARAMANAYAKE, L. P.; *et al.* Candida-associated palatal papillary hyperplasia in HIV infection. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.23, n.9, p.403-405, oct. 1994.

- REICHL, R. B. Oral candidiasis: an old disease of growing concern. **Gen. Dent.**, Chicago, v.38, n.2, p.114-120, mar.-apr. 1990.
- ROSSIE, K. M.; TAYLOR, J.; BECK, F. M.; *et al.* Influence of radiation therapy on oral *Candida albicans* colonization: a quantitative assessment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.64, n.6, p.698-701, dec. 1987.
- ROTROSEN, D.; CALDERONE, R. A.; EDWARDS, J. F. Adherence of *Candida* species to host tissues and plastic surfaces. **Rev. Infec. Dis.**, Chicago, v.8, n.1, p.73-85, jan.-feb. 1986.
- ROY, K. M.; BAGG, J.; FOLLETT, E. A.; *et al.* Hepatitis C virus in saliva of haemophiliac patients attending an oral surgery unit. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Edinburgh, v.34, n.2, p.162-165, apr. 1996.
- RUSSEL, C.; LAY, K. M. Natural history of *Candida* species and yeasts in the oral cavities of infants. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.18, n.8, p.957-962, aug. 1973.
- SAKKI, T. K.; KNUUTTILA, M. L. E.; LÄÄRÄ, E.; *et al.* The association of yeasts and denture stomatitis with behavioral and biologic factors. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.84, n.6, p.624-629, dec. 1997.
- SARAMANAYAKE, L. P. Nutritional factors and oral candidiasis. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v.15, n.2, p.61-65, feb. 1986.
- SARAMANAYAKE, L. P.; HOLMSTRUP, P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.18, n.10, p.554-564, dec. 1989.

- SARAMANAYAKE, L. P.; HUGHES, A.; WEETMAN, D. A.; *et al.* Growth and acid production of *Candida* species in human saliva supplemented with glucose. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v.15, n.5, p.251-254, may 1986.
- SARAMANAYAKE, L. P.; WILKIESON, C. A.; LAMEY, P. J.; *et al.* Oral disease in the elderly in long-term hospital care. **Oral Dis.**, v.1, n.3, p.147-151, sep. 1995.
- SANDVÉN, P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.27-36, feb. 1990.
- SANGEORZAN, J. A.; BRADLEY, S. F.; HE, X.; *et al.* Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergency of fluconazole resistance. **Am. J. Med.**, Newton, v.97, n.4, p.339-346, oct. 1994.
- SAXEN, L.; JOUSIMIES-SOMER, H.; KAISLA, A.; *et al.* Subgingival microflora, dental and periodontal conditions in patients with hereditary fructose intolerance. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.97, n.2, p.150-158, apr. 1989.
- SCHUBERT, M. M.; IZUTSU, K. T. Iatrogenic causes of salivary gland dysfunction. **J. Dent. Res.**, Washington, v.66, n.Spec. Iss., p.680-688, feb. 1987.
- SCREEBNY, L. M.; *et al.* Xerostomia: Part II: relationship to nonoral symptoms, drugs and disease. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.68, n.4, p.419-427, 1989.
- SCREEBNY, L. M.; SCHWARTZ, S. S. A reference guide to drugs and dry mouth. **Gerodontology**, Basel, v.5, n.2, p.75-99, autumn 1986.

- SCREEBNY, L. M.; VALDINI, A. Xerostomia – a neglected symptom. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v.147, n.7, p.1333-1337, jul. 1987.
- SCREEBNY, L. M.; VALDINI, A.; YU, A.; *et al.* Xerostomia. Part II: Relationship to nonoral symptoms, drugs and disease. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.68, n.4, p.419-427. oct. 1989.
- SHIMIZU, S.; CHEN, K.-R.; TAGAMI, H.; *et al.* Mucocutaneous manifestation in Japanese HIV-positive hemophiliacs. **Dermatology**, Basel, v.201, n., p.321-325, aug. 2000.
- SMITH, D. J.; JOSHIPURA, K.; KENT, R.; *et al.* Effects of age on immunoglobulin content and volume of human labial gland saliva. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, n.12, p.1891-1894, dec. 1992.
- SHOBEIRI, S. A.; WEST, E. C.; KAHN, M. J.; *et al.* Postpartum acquired hemophilia (factor VIII inhibitors): a case report and review of the literature. **Obstet. Gynecol. Surv.**, Baltimore, v.55, n.12, p.729-737, dec. 2000.
- SLUTSKY, B.; BUFFO, J.; SOLL, D. R. High-frequency switching of colony morphology in *Candida albicans*. **Science**, Washington, v.230, n., p.666-669, 1985.
- SOUCIE, M. J.; NUSS, R.; EVATT, B.; *et al.* Mortality among males with hemophilia: relations with source of medical care. **Blood**, Duluth, v.96, n.2, p.437-442, jul. 2000.
- STENDERUP, A. Oral mycology. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.3-10, feb. 1990.

- STERNBACH, M. S.; TSOUKAS, C.; PAQUIN, M.; *et al.* Monocyte-macrophage (M-M) functions in asymptomatic hemophiliacs and supertransfused thalassemics. **Clin. Invest. Med.**, Toronto, v. 10, n.4, p.275-281, jul. 1987.
- TEANPAISAN, R.; NITTAYANANTA, W. Prevalence of *Candida* species in AIDS patients and HIV-free subjects in Thailand. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.27, n.1, p.4-7, jan. 1998.
- TSANG, C. S. P.; SAMARANAYKE, L. P. factors affecting the adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells in human immunodeficiency virus infection. **Br. J. Dermatol.**, Oxford, v. 141, n., p. 852-858, jun. 1999.
- UETA, E.; OSAKI, T.; YONEDA, K.; *et al.* Prevalence of diabetes mellitus in odontogenic infection and oral candidiasis: an analysis neutrophil supression. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.22, n.4, p.168-174, apr. 1993
- UMAZUME, M.; UETA, E.; OSAKI, T. Reduced inhibition of *Candida albicans* adhesion by saliva from patients receiving oral cancer therapy. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.33, n.2, p.432-439, feb. 1995.
- UNTERKIRCHER, C. S.; TAUNAY, A. E.; TAKEDA, A. Candidíase crônica atrófica, pesquisa de anticorpos específicos no soro e na saliva. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, V.12, n.1/2, p.77-82, 1983.
- VISSINK, A.; SPIJKERVET, F. K. L.; AMERONGEN, A. V. N. Aging and saliva: A review of literature. **Spec. Care Dent.**, Chicago, v.16, n.3, p.95-103, may-jun. 1996.
- VUDHICHAMNONG, K.; WALKER, D. M.; RYLEY, H. C. The effect the secretory immunoglobulin A on the in vitro adherence of the yeast candida

- albicans to human oral epithelial cells. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.27, n.8, p.617-621, aug. 1982.
- WAHLIN, Y. B. Salivary secretion rate, yeast cells, and oral candidiasis in patients with acute leukemia. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.71, n.6, p.689-695, jun. 1991.
- WANG, S. L.; ZHAO, Z. T.; LI, J.; *et al.* Investigation of the clinical value of total flow rates. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.43, n.1, p.39-43, jan. 1998.
- WEBB, B. C.; THOMAS, C. J.; HARTY, D. W.; *et al.* Effectiveness of two methods of denture sterilization. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v.27, n.6, p.416-423, jun. 1998.
- WEBB, B. C.; THOMAS, C. J.; WILLCOX, M. D. P.; *et al.* *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part I. Factors influencing distribution of *Candida* species in the oral cavity. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v.43, n.1, p.45-50, feb. 1998.
- WILKIESON, C.; *et al.* Oral candidosis in the elderly in long term hospital care. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.20, n.1, p.13-16, jan. 1991.
- WILSON, J. The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. **Br. Dent. J.**, London, v.185, n.8, p.380-384, 1998 oct. 24.
- WRAY, D.; FELIX, D. H.; CUMMING, C. G. Alteration of humoral responses to *Candida* in HIV infection. **Br. Dent. J.**, London, v.168, n.8, p.326-329, 1990 apr. 21.
- WRIGHT, W. E. Management of oral sequelae. **J. Dent. Res.**, Washington, v.66, n.Spec.Iss., p.699-702, 1987.

- WU, A. J.; SHIP, J. A. A characterization of major salivary gland flow rates in the presence of medications and systemic diseases. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Luis, v.76, n.3, p.301-306, sep. 1993.
- YEH, C-K.; DODDS, M. W. J.; ZUO, P.; *et al.* A population-bvased study of salivary lysozyme concentyrations and candidal counts. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.42, n.1, p.25-31, jan. 1997.
- ZEGARELLI, D. J. Fungal infections of the oral cavity. **Otolaryngol. Clin. North. Am.**, Philadelphia, v.26, n.6, p.1069-1089, dec. 1993.
- ZHANG, K. H.; WANG, H. J.; QIN, J. X. Effect of candidal infection on the hyperplastic oral epithelium. **Chung Hua Kou Chiang Hsueh Tsa Chih**, Beijing, v.29, n.6, p.339-41, 384, nov. 1994.
- ZUCKERMAN, E.; ZUCKERMAN, T.; LEVINE, A. M.; *et al.* Hepatitis C virus infection in patients with B-cell lymphoma. **Ann. Int. Med.**, Philadelphia, v.127, p.423-428, 1997.



**ANEXOS**

## ANEXO I – Ficha para avaliação dos pacientes hemofílicos:

Nº do prontuário HC/UNICAMP: _____	Nº Prontuário do Hemocentro: _____
Nome: _____	Sexo: _____ Cor: _____
Data de nascimento: ____ / ____ / ____ ( )	
Tipo de hemofilia: _____	
Início do tratamento: _____	HC/UNICAMP: _____
Tratamentos realizados: _____	
Internações e complicações: _____	
História e antecedentes médicos: _____	
Último exame de sangue: _____	
Contraíu algum vírus: sim ( ) não ( )	
HCV ( ) HBV ( ) CMV ( ) HIV ( ) EBV ( ) HTLV ( ) outros ( )	
Se sim, há quanto tempo: _____	
Tratamento: _____	
História odontológica e complicações odontológicas: _____	
Prótese dentária: sim ( ) não ( ) Qual: _____ Sup. ( ) Inf. ( ) Tempo: _____	
Estado de conservação: _____	
Fuma: sim ( ) não ( ) Quanto: _____	
Tempo: _____	
Bebe: sim ( ) não ( ) Quanto: _____	
Tempo: _____	
Está utilizando alguma medicação: sim ( ) não ( ) Há quanto tempo: _____	
Por que: _____	
Já teve história de hemorragia espontânea na boca: sim ( ) não ( ) Quando _____	
Procedimento realizado: _____	
Já teve história de hemorragia por pequenos traumas na boca: sim ( ) não ( ) Quando: _____	
Procedimento realizado: _____	
Queixa de boca seca: sim ( ) não ( )	
Estado de saúde bucal: ( ) bom ( ) regular ( ) ruim	

Variações de normalidade: \_\_\_\_\_

Lesões bucais: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Coleta de saliva: data: / / . Fluxo salivar \_\_\_\_\_ mg/min

Quantificação de *Candida*: \_\_\_\_\_

Especificação de *Candida*: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Observações: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Condução: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Características bioquímicas, de microcultivo e formação de tubo germinativo de espécies do gênero *Candida*\*.

Espécies de <i>Candida</i>	Tubo Germinativo	Clamidoconídeo	Pseudohifa ou hifa verdadeira	Fermentação de Carboidratos***				Assimilação de Carboidratos				
				Gli	Sac	Mal	Lac	Gli	Gal	Sac	Mal	Lac
<i>albicans</i>	+	+	+	A/G	A/-	A/G	-/-	+	+	+	+	-
<i>tropicalis</i>	-	-	+	A/G	A/G	A/G	-/-	+	+	+	+	-
<i>guilliermondii</i>	-	-	+	A/G	A/G	-/-	-/-	+	+	+	+	-
<i>krusei</i>	-	-	+	A/G	-/-	/-	-/-	+	-	-	-	-
<i>lusitaniae</i>	-	-	+	A/G	A/G	-/-	-/-	+	+	+		-
<i>parapsilosis</i>	-	-	+	A/G	-/-	-/-	-/-	+	+	+	+	-
<i>kefyr</i>	-	-	+	A/G	A/G	-/-	A/G	+	+	+	-	+
<i>glabrata</i>	-	-	-	A/G	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-
<i>rugosa</i>	-	-	+	-/-	-/-	-/-	-/-	+	+	-	-	-
<i>stellatoidea**</i>	V	V	+	A/G	?	A/G	-/-	+	+	-	+	-
<i>famata</i>	-	-	-	A/G	-/-	-/-	A/G	+	+	+	+	+
<i>lipolytica</i>	-	-	+	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-

\*Baseado em SANDVEN (1990) e LARONE (1995).

\*\*Atualmente considerada uma variante de *Candida albicans*

\*\*\*A = produção de ácido; G = produção de gás; V = variável (+ ou-)

\*\*\*\* *C. guilliermondii* assimila rafinose e *C. lusitaniae* não