

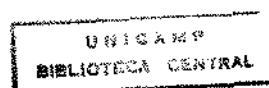
Quantificação e Identificação de *Candida sp* em saliva total de pacientes HIV positivo - estudo longitudinal

**Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do grau de Mestre
em Ciências, Área de Biologia e Patologia
Buco-Dental.**

NADJA RODRIGUES DE MELO



PIRACICABA
1999



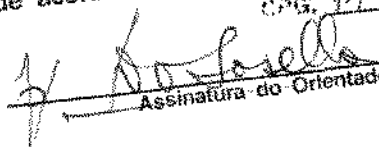
Quantificação e Identificação de *Candida sp* em saliva total de pacientes HIV positivo - estudo longitudinal

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do grau de Mestre
em Ciências, Área de Biologia e Patologia
Buco-Dental.

Orientador:
Prof. Dr. Jacks Jorge Junior

NADJA RODRIGUES DE MELO

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CCPG. 14/106/99


Assinatura do Orientador

PIRACICABA
1999

9913873

88

UNIDADE	
N.º CHAMADA	
V.	Ex
TOMBO BC	38337
PROC.	228/99
C	☐
D	☒
PREÇO	51,00
DATA	21-01-99
N.º CPD	

CM-00125567-1

Ficha Catalográfica

M491q

Melo, Nadjá Rodrigues de.

Quantificação e identificação de *Candida sp* em saliva total de pacientes HIV positivo : estudo longitudinal. / Nadjá Rodrigues de Melo. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1999.

72p. : il.

Orientador : Prof. Dr. Jacks Jorge Junior.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. *Candida albicans*. 2. HIV (Vírus). 3. AIDS (Doença). 4. Saliva. I. Jorge Junior, Jacks. 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.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 08 de Abril de 1999, considerou a candidata NADJA RODRIGUES DE MELO aprovada.

1. Prof. Dr. JACKS JORGE JUNIOR

2. Prof. Dr. ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE

3. Profa. Dra. MARIA LETÍCIA CINTRA

Dedico esta tese e toda minha vida,

Ao meu pai, minha mãe e Deus.

Em especial pelo minuto de cada dia dos meus pais.

Minha família meus irmãos Eiko, Rica, Deco e minha avó Sumiko.

Ao pequeno mas grande companheiro Mike.

À amiga Lili, Milu e ao Bio que conviveram comigo durante os momentos de alegria, de rotina, nas dificuldades e no sucesso. Esses sim são eternamente verdadeiros, mesmo que o tempo passe esses jamais serão esquecidos. Sinto que colhi das sementinhas que plantei e agora nesta nova safra vou começar a plantar novamente.

Agradecimentos

No desfecho do Curso de Mestrado pude olhar para trás e reviver como num filme todos os caminhos que percorri desde o término da Graduação até o início da pós-graduação, que alicerçaram desde a realização do projeto à execução do mesmo.

Toda experiência associada a AIDS que acumulei durante esses anos sustentaram todas as dificuldades e bons momentos que vivi. Toda minha preocupação em desenvolver algo que pudesse repercutir de maneira direta e que contribuísse para a melhora da qualidade de vida dos pacientes hoje posso responder aliviada e com alegria que tive o prazer de durante todo o desenvolvimento da pesquisa colaborar para a qualidade e sobrevida dos pacientes. Neste momento tenho a satisfação de deixar marcado nesta história meus sinceros agradecimentos a todos os meus pacientes do Ambulatório de AIDS de Rio Claro e do GPD - UNICAMP.

Agradeço também à minha primeira mestra Dra. Catalina Riera Costa que é um marco da história da AIDS no Brasil, um exemplo de profissional e ser humano.

Ao Prof. Dr. **JACKS JORGE JUNIOR** pela orientação, paciência e prontidão a todos que o solicitam.

Agradeço ao

Prof. Dr. Rogério de Jesus Pedro pela co-orientação.

Ao Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum DD. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.

À coordenadora dos cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury .

À Profa. Dra. Darcy Oliveira Tosello atual coordenadora do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.

Ao Prof. Dr. Rogério de Jesus Pedro Chefe da Disciplina de Moléstias Infecciosas e Coordenador do GPD (Grupo de Pesquisa em DST/AIDS) por ter permitido minha participação junto ao GPD - UNICAMP fornecendo toda a infra-estrutura e sua pronta atenção e credibilidade no Projeto de Pesquisa assim como na co-orientação desta tese.

Ao Dr. Francisco Hideo Aoki pela dedicação e espontaneidade.

Ao Prof. Dr. Fausto Bérzin que me iniciou na carreira acadêmica.

Aos colegas do GPD - UNICAMP Andréa, Cleusa, Daniela, Regiane, Rose e Valdir, a todos os médicos e pacientes pela dedicação e otimismo.

Ao apoio e importante participação do grupo do Gastrocentro – UNICAMP, Nancy Nishimura coordenadora do Laboratório de Imunoparasitologia, as amigas Natália, Dercy e Isabel pela infra-estrutura e atenção.

Ao Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida pelo incentivo, compreensão e credibilidade durante a fase em que estive em Campinas.

Aos colegas do laboratório de Patologia, à amiga Elza da Microbiologia de Piracicaba sempre atenciosos e colegas da Pós-Graduação pela colaboração.

Ao Prof. Dr. Edgard Graner pelo incentivo e atenção com sugestões e estímulos nas minhas inovações laboratoriais.

Aos Bioestatísticos Cleide e Helymar sempre companheiros e exemplo de organização.

Aos companheiros pesquisadores Prof. Dr. Taguchi, Prof. Dr. Miyagi, Prof. Dr. Uno e Profa. Dra. Sano e amigo Tomy toda minha amizade e respeito.

A realização desta tese foi viabilizada pela **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, através da concessão de bolsa de Mestrado e reserva técnica (Processo 97/07020-2).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

μL = microlitro
3TC = Lamivudina
AIDS = Síndrome da Imunodeficiência Aguda
ANOVA = Análise de variância
ATM = Articulação Têmporomandibular
AZT = Zidovudina
BACTRIM = Trimetoprima-Sulfametoxazol
Bartlett = Teste de normalidade de distribuição de dados de Bart
CD4 = Linfócitos T4
CD8 = Linfócitos T8
CDC = Centers for Disease Control and Prevention
CMV = Citomegalovirus
DST = Doença Sexualmente transmissível
EEG = Equação de Estimação Generalizadas – Teste estatístico.
EPI – INFO = Software de estatística e epidemiologia da OMS-CDC
Fisher = Teste exato de Fisher
FOP/UNICAMP = Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP
GB = Glóbulos Brancos
GPD/UNICAMP = Grupo de pesquisa em DST/UNICAMP
GUNA = Gengivite Ulceronecrosante Aguda
Hc = Hematócrito
HIV = Vírus da Imunodeficiência Humana
HIV+ = Paciente portador do HIV
HIV-positivo = Paciente portador do HIV
IgA = Imunoglobulina A
K-W = Teste de Kruskal-Wallis
LC95% = Limite de confiança de 95%
Média $\pm$ DP = Média e Desvio-padrão
MK = Indinavir
ml = mililitro
mm = milímetro
OMS = Organização Mundial de Saúde
PAS = Coloração pelo ácido periódico de Schiff
pH = Potencial de hidrogênio iônico
Protocolo MK-639 = Protocolo de pesquisa do Indinavir - inibidor de protease
QQ = Qui quadrado
SAS = Software de estatística
T4 = Linfócitos T4
T8 = Linfócitos T8
TGO = Transaminases glutâmico oxalacética
TGP = Transaminases glutâmico pirúvica
UFC = Unidades formadoras de colônia
UFC/mL = Número de unidades formadoras de colônias por ml de saliva
UNICAMP = Universidade Estadual de Campinas
VHS = Velocidade de Hemossedimentação

RESUMO

Desde a caracterização da AIDS no início dos anos oitenta, aumentou o número de pacientes imunossuprimidos com as mais variadas expressões clínicas associadas. Uma delas, a candidose bucal, infecção fúngica muito comum, assumiu posição de importância insuspeita até então causando assim intensificação dos estudos associados a esta importante doença. O presente estudo teve por objetivo determinar, longitudinalmente, por um ano, a contagem e identificação do gênero *Candida* na saliva total de pacientes portadores do HIV, correlacionando com aspectos clínicos e parâmetros laboratoriais. Foram avaliados 188 pacientes, 93 dos quais por um período mínimo de 1 ano, portadores do HIV e provenientes do Grupo de Pesquisa em DST (GPD) – UNICAMP, incluídos no protocolo de pesquisa multicêntrico randomizado, duplo cego, com inibidor de protease HIV (Protocolo MK-639), em combinação com outros antiretrovirais, fase aberta, que está sendo desenvolvido há três anos. O paciente desta pesquisa tinha $35,2 \pm 8,2$ anos, era do gênero masculino (64,9%), leucoderma (82,4%), com instrução primária (51,6%), e casado (43,6%) ou solteiro (37,2%). Eram classificados no grupo C3 (36,7%) ou B2 (28,2%) e com a categoria de exposição, para o gênero masculino, o homossexualismo (37,7%) ou uso de drogas injetáveis (35,2%), e para o feminino, o heterossexualismo (98,5%). Os pacientes foram submetidos a exames clínicos e laboratoriais periódicos e padronizados para determinação de indicadores de saúde geral e bucal tais como situação sorológica, clínico-epidemiológica, marcadores laboratoriais, fluxo salivar e análise microbiológica da saliva. A candidose bucal foi encontrada em 32% dos pacientes e nestes, a contagem de UFC/ml foi significativamente maior ($p=0,00$) do que nos que não apresentaram esta manifestação bucal. A densidade de colonização por *Candida* não mostrou correlação com os principais marcadores de imunidade como linfócitos CD4, linfócitos CD8, carga viral, entretanto foram significativos para contagem de glóbulos brancos ($p= -0,0004$), dosagens de TGO e TGP ($p= 0,01$ e $p=0,02$) respectivamente. *C.albicans* correspondeu a 75,8% das espécies identificadas.

Palavras - chave: Candidose Bucal - HIV – Saliva - Marcadores Laboratoriais –
Candida – *Candida albicans*.

SUMMARY

Since the characterization of the AIDS in 1981, it has been increasing the number of immunosuppressed patients that express the most varied associated clinical expressions. One of them, the buccal candidosis, a very common fungal infection, have assumed position unsuspected importance until then causing the intensification of the studies associated to this important infection. The present study had for objective to determine, longitudinally, for one year, the counts and identification of the genus *Candida* in the whole saliva of patient carriers of HIV, correlating with clinical aspects and laboratorial parameters. They were appraised 188 patient, 94 of the which for a 1 year-old minimum time, carriers of HIV and coming of the Group of Research in DST (GPD) - UNICAMP, included in the protocol of research multicentric randomized, double blinded, with HIV protease inhibitor (MK-639 Protocol), open phase, that have been done during the last three years. The medium patient of this research had $35,2 \pm 8,2$ years, they were of male gender (64,9%), white (82,4%), with primary instruction (51,6%), and married (43,6%) or single (37,2%). They were classified in the group C3 (36,7%) or B2 (28,2%). The risk category was, for the male gender, the homosexuality (37,7%) or the use of injected drugs (35,2%), and for the female gender, the heterosexuality (98,5%). The patients were submitted to periodical clinical and laboratorial exams in order to determine such indicators of general and buccal health as serologic situation, laboratorial markers, salivary flow and microbiological analysis of the saliva. The buccal candidosis was found in 32% of the patients and in these, the UFC/ml counts was significant larger ($p=0,00$) than in those patients that didn't present this oral manifestation. The colonization density for *Candida* show correlation ($p=0,06$) with immunity markers as CD4 lymphocytes counts, but didn't show correlation with CD8 lymphocytes counts, viral load, only significant results for white cell counts ($p= -0,02$), TGO and TGP levels (both $p = -0,03$). *C.albicans* corresponded at 78,5% of the identified species. The density of colonization of the saliva, expressed in UFC/ml, for *Candida* showed correlation with local and systemic factors.

Key-Words : Buccal Candidosis - HIV - Saliva - Laboratorial markers – *Candida* – *Candida albicans*

INTRODUÇÃO

Candidose é a infecção bucal mais comum nos pacientes HIV+, podendo ser a primeira manifestação da doença. Embora a candidose bucal não seja uma condição que *per se* defina o estado do paciente HIV+, ela reflete o declínio do sistema imune e o agravamento da doença.

Os fungos do gênero *Candida* são microrganismos comuns na cavidade bucal e podem atuar de maneira comensal ou parasitária. STENDERUP (1990), num artigo de revisão, relatou que as espécies mais prevalentes descritas na literatura eram *C.albicans* (69,6%), *C.tropicalis* (6,9%), *C.glabrata* (6,6%), *C.guilliermondii* (0,4%), *C.kefyr* (1,0%), *C.krusei* (1,7%), *C.parapsilosis* (1,9%), *Candida sp.* (7,0%), *Rhodotorula sp.* (0,3%), além de outras leveduras não identificadas (4,2%). Sugeriu que as menos freqüentes devem ser transitórias na cavidade bucal e que *C.glabrata* é mais prevalente em usuários de prótese e em idosos. Leveduras podem estar aumentadas em grupos imunodeprimidos e *C.albicans* é responsável pela maioria das infecções, sendo considerada a mais virulenta, seguida por *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.pseudotropicalis* e *C.guilliermondii*.

O equilíbrio hospedeiro-fungo quase sempre é alterado a partir de características relacionadas ao hospedeiro e só raramente das leveduras. Dos numerosos fatores que afetam a presença do gênero *Candida* em humanos podem ser destacados a presença de próteses totais, gênero, idade, doenças sistêmicas debilitantes, xerostomia, anemias, câncer, AIDS e má-higiene (OKSALA 1990, FOTOS et al. 1991). A virulência dos fungos é determinada, ao menos em parte, pela capacidade de aderir às células epiteliais e quebrar as barreiras de proteção da mucosa bucal (SHEPHERD 1986).

Contagens de leveduras na saliva podem variar de forma acentuada conforme os métodos e a população utilizada no estudo, mas o nível de 400 UFC/ml de saliva tem sido utilizado como valor referencial de normalidade (STENDERUP 1990). As contagens variam conforme o horário do dia, atingindo o máximo no início da manhã e no final da tarde (WILLIAMSON 1972a, 1972b). Saliva normal pode suportar crescimentos maiores que 10^3

UFC/ml, mas o crescimento de cocos Gram negativos inibe os fungos por competição (SHEPHERD 1986). A simples presença de leveduras não é sinônimo de doença e para que haja candidose deve ocorrer desequilíbrio no sistema de defesa do hospedeiro que facilite ao fungo a proliferação e ataque aos tecidos bucais (ASHMAN & PAPADIMITRIOU 1990). As infecções em geral são melhor justificadas por desequilíbrios no sistema de defesa do hospedeiro do que pela virulência do fungo, ainda que haja espécies mais virulentas que outras (ODDS 1984, BUDTZ-JÖRGENSEN 1990a).

O tratamento de infecções fúngicas bucais é basicamente medicamentoso e podem haver efeitos colaterais (BUDTZ-JÖRGENSEN 1990b). Resistência das leveduras do gênero *Candida* a drogas antifúngicas do grupo azole tem sido descrita com frequência crescente, comumente em pacientes HIV+ com baixa contagem de CD4 que passam por longos períodos de tratamento ou profilaxia antifúngica (SANGEORZAN et al. 1994).

Pacientes com candidose bucal podem ter características clínicas e sintomas variados, dificultando o diagnóstico. Falhas no reconhecimento precoce das manifestações iniciais retardam o tratamento e propiciam uma evolução agressiva da doença com sua reconhecida morbidade para os pacientes HIV+ (SILVERMAN et al. 1996).

No presente estudo realizou-se quantificação e identificação das leveduras bucais presentes na saliva de pacientes portadores do HIV, durante um período médio de 17 meses, e avaliou-se a correlação com dados clínicos e laboratoriais.

REVISÃO DA LITERATURA

Leveduras são fungos muito comuns, com cerca de 56 gêneros e 500 espécies já isoladas e um crescente número sendo relatado. Na cavidade bucal já foram isolados 25 gêneros e 167 espécies, das quais 10 gêneros e 40 espécies podem ser patogênicos ao ser humano (STENDERUP 1990). As leveduras mais freqüentes na cavidade bucal e em outras superfícies mucosas são do gênero *Candida*, que compreende 155 espécies, todas assexuadas e dimorfas, sendo *C.albicans* a mais comum (MacFARLANE &

SAMARANAYAKE 1989, FOTOS et al. 1991). A incidência de infecções por leveduras parece estar aumentando, principalmente após a epidemia de AIDS, e espécies tidas como não patogênicas tem sido relatadas como causadoras de doença em humanos (KOLNICK 1980, BUDTZ-JÖRGENSEN 1990b, SANDVÉN 1990). *Candida* pode ser transmitida de pessoa para pessoa por contato íntimo entre parceiros sexuais ou entre pais e filhos (ODDS 1984, SANGEORZAN et al. 1994). A maioria das infecções entretanto, parece ser causada por leveduras endógenas (ODDS 1984, FOTOS et al. 1991), principalmente o dorso da língua, onde papilas filiformes e reentrâncias, como forame cego e fissura mediana, servem de sítio privilegiado, fornecendo proteção e meio ambiente favorável. Isto faz da interpretação de swabs de dorso de língua uma tarefa delicada (ARENDORF & WALKER 1980). Além do dorso da língua, *Candida* pode ser encontrada em outros sítios bucais, como palato duro e mucosa jugal (ARENDORF & WALKER 1980).

Candida tem sido isolada de vários sítios orgânicos como pele com freqüências de até 17%, vagina até 13%, ânus até 39% e boca até 37% (ODDS 1984). Diferentes métodos de coleta, origem das amostras, meio de cultura, grupos de pacientes estudados e métodos de análise levam a uma variação entre 35 a 50% no isolamento de *Candida* em pacientes sem doença (FOTOS et al. 1991). A levedura mais comum e também mais virulenta é *C.albicans*, representando mais da metade do total de fungos isolados. Quando a fonte utilizada é a saliva total, o isolamento de leveduras varia de 25 a 71% em pessoas sem doença e *C.albicans* participa com 4 a 62% do total (STENDERUP 1990, FOTOS et al. 1991).

A virulência está associada à capacidade de aderência do fungo, maior na *C.albicans* (ASHMAN & PAPADIMITRIOU 1990), sendo favorecida pela presença de taxas elevadas de glicose na saliva (BUDTZ-JÖRGENSEN 1990a). Aderência da *Candida* ao epitélio bucal talvez seja o fator isolado de maior importância na determinação da virulência. 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). Outro fator associado a maior capacidade de causar infecção

da *C.albicans* pode ser a alta diversidade genética da mesma (SLUTSKY et al. 1985, SANGEORZAN et al. 1994).

As leveduras mais encontradas, além da *C.albicans*, são *C.glabrata* (7%), *C.krusei* (5%), *C.tropicalis* (7%), *C.parapsilosis* (5%) e *C.guilliermondii* (5%) conforme relatado por (CANNON et al. 1995) e, apesar do isolamento de numerosas espécies de mucosa bucal e vaginal, apenas um pequeno número das mesmas é responsável pela maioria das infecções (FOTOS et al. 1991).

Mecanismos não imunológicos podem ser importantes na incidência da candidose em indivíduos HIV+, incluindo vitaminas e componentes salivares tais como a transferrina e lactoferrina (WRAY et al. 1990).

Fluxo salivar reduzido é um dos fatores mais citados e contribui para a proliferação dos fungos 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). Em trabalho clássico, realizado em 54 indivíduos saudáveis, ARENDORF & WALKER (1980), afirmaram que a presença de *Candida* é significativamente maior em salivas ácidas, o que está de acordo com PARVINEN & LARMAS (1981). Há evidências de que suplementação da saliva com sucrose ou glicose agrava candidoses preexistentes ou facilita o surgimento onde não existem. O papel dos açúcares parece estar ligado à capacidade de adesão da *Candida*, estimulada em presença de açúcares, ou ao uso da mesma como substrato metabólico (SAMARANAYAKE 1986, FOTOS et al. 1991). Doenças que afetam glândulas salivares, provocando xerostomia, como síndrome de Sjögren, podem elevar a frequência de infecções e as contagens de *Candida*, não só por afetar as glândulas salivares 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).

Talvez o fator mais implicado no aumento de contagens de UFC e na prevalência de candidose seja o uso de próteses, especialmente totais. É relevante o uso contínuo e

noturno, presença de microporosidade na resina, redução do fluxo salivar e alterações de pH sob a área coberta, traumatismos e favorecimento da aderência (BUDTZ-JÖRGENSEN & LÖE 1972, BUDTZ-JÖRGENSEN & KNUDSEN 1978, ROTROSEN et al. 1986, EPSTEIN 1990).

Participação da *Candida* está bem estabelecida em doenças bucais como a mucosite por prótese (ARENDORF & WALKER 1987), queilite angular (MacFARLANE & HELNARSKA 1976, ÖHMAN & JONTELL 1988) e glossite romboidal mediana (ARENDORF & WALKER 1984), ainda que a etiologia seja eminentemente multifatorial. Outras doenças talvez tenham participação da *Candida* em sua etiopatogenia, como a gengivite/periodontite (SCHEININ et al. 1992), câncer bucal (KROGH 1990) e despapilação lingual (ALLEN 1992, BÁNOCZY et al. 1993).

Uso prolongado de antibióticos, especialmente de largo espectro e por via oral, (FOTOS et al. 1992) é um fator tradicionalmente citado e controverso na etiopatogenia da *Candida*, assim como bochechos com efeito antimicrobiano (OKSALA 1990). Parecem agir através da inibição ou supressão do crescimento de bactérias que ocupam o mesmo sítio que o fungo, competindo por nutrientes e sítios de aderência. Com a redução da competição a levedura pode proliferar livremente. Pode haver, para alguns antibióticos, certa depressão imunológica do hospedeiro, que favorece a proliferação fúngica pela redução das defesas celulares.

Ulcerações e outras quebras de continuidade epitelial, inclusive irritantes crônicos locais expõe sítios e moléculas, usualmente protegidos, que facilitam a aderência da *Candida* à mucosa (OKSALA 1990, FOTOS et al. 1991).

Influência do gênero na contagem de UFC é relatada por diversos autores que sugerem colonização por *Candida* mais freqüentemente em mulheres que em homens, na proporção de 2:1 (FOTOS et al. 1991, ZEGARELLI 1993).

Idade parece influenciar as contagens de UFC, mas o mecanismo exato não é completamente entendido. Talvez outros fatores associados à idade avançada como doenças sistêmicas, uso de medicamentos ou deficiências motoras possam atuar

simultaneamente e dificultar a interpretação dos dados. Em crianças o sistema imune não está completamente maduro e favorece a presença de *Candida*, mas nas primeiras semanas há certa proteção, conferida pelas imunoglobulinas herdadas da mãe através da placenta ou do leite (RUSSEL & LAY 1973). Em idosos os mecanismos de homeostase não funcionam adequadamente e permitem a instalação ou agravamento da candidose (BASTIAAN & READE 1982, REICHL 1990, OKSALA 1990, ZEGARELLI 1993).

Alterações no mecanismo de funcionamento dos neutrófilos, que produzem menos oxidantes e apresentam reduzida capacidade fagocitária, podem favorecer a instalação de infecção por *Candida* (UETA et al. 1993).

Um grande grupo de alterações sistêmicas relacionadas à alimentação parece atuar de maneira semelhante; má-absorção (OKSALA 1990), anemias (HOLMSTRUP & BESSERMANN 1983), deficiências alimentares (SAMARANAYAKE 1986, FOTOS et al. 1992) e deficiência de ferro (FOTOS et al. 1991) tem sido associadas a incidência elevada de mucosite por prótese, queilite angular e candidose muco-cutânea. As infecções tornam-se mais graves e a recidiva é freqüente se a deficiência basal não é corrigida. O íon ferro talvez atue modulando o sistema de lactoferrina e lisozima, alterando o ritmo de crescimento das células epiteliais ou reduzindo a fagocitose e produção de anticorpos (HOLMSTRUP & BESSERMANN 1983). Hipovitaminoses, como a deficiência de folatos, podem aumentar o crescimento de fungos. O mecanismo de atuação é pouco conhecido, mas parece haver alteração no ritmo de formação de células epiteliais e redução da esfoliação, com conseqüente favorecimento da aderência dos fungos (SAMARANAYAKE 1986).

AIDS favorece o aparecimento de infecções fúngicas por redução do número e da função dos linfócitos T4 e, por conseqüência, das células fagocitárias como os polimorfonucleados (FETTER et al. 1993, ALCABES et al. 1994, LIFSON et al. 1994). A correlação negativa entre candidose bucal e contagem de CD4 foi relatada por MONIACI et al. em 1990. FELIX & WRAY (1993), relataram prevalência de 52% de lesões por leveduras em 121 pacientes HIV-positivo, contra 6% no grupo HIV-negativo utilizado como controle. O percentual de portadores entre HIV-positivo foi de 93,4% e entre HIV-

negativos foi de 57%. A lesão mais encontrada foi a candidose eritematosa, em ambos os grupos.

Apesar de não ser comumente descrita como parte da microbiota da placa dental de pacientes saudáveis, nos pacientes com periodontite persistente tratados com antibióticos e imunossuprimidos, *C.albicans* já foi observada em placa subgingival. Invasão tecidual por *Candida* é mais freqüente em pacientes com periodontite ulceronecrosante que em pacientes HIV positivo sem episódios desta manifestação e há evidências de que *Candida* pode contribuir para o desenvolvimento deste tipo de periodontite em portadores do HIV, como sugerido por ODDEN et al. (1994).

Associação entre candidose bucal e a AIDS tem sido descrita a desde o início da epidemia e é considerada um dos sinais iniciais da infecção. A presença da candidose em pacientes HIV+ implica em provável progressão da doença e alta prevalência de candidose em grupos populacionais infectados pelo HIV foi descrita por SAMARANAYAKE et al. (1989). Infecções graves por *Candida* foram correlacionadas com deficiências do sistema imune, particularmente nas células T, observadas na infecção pelo HIV (WRAY et al. 1990). Avaliação de indivíduos assintomáticos portadores do HIV, por meio de culturas de saliva e swabs de mucosa, mostrou nível quatro vezes maior de colônias de *Candida* quando comparados com indivíduos soronegativos, sugerindo que altas contagens de colônias antecedem as manifestações clínicas de candidose, refletindo alterações iniciais dos mecanismos de defesa do indivíduo infectado (TYLENDÁ et al. 1989).

PHILIP et al. (1991) observaram que após a infecção pelo HIV ocorrem alterações na glândula salivar, elevação do nível de proteínas antimicrobianas e de determinados eletrólitos na saliva.

Diagnóstico da candidose depende em grande parte das características clínicas e da evolução da doença. Os critérios podem ser resumidos da seguinte forma: 1- presença de placas brancas e/ou manchas avermelhadas na mucosa bucal, 2- presença de micélio no exame de esfregaço direto da lesão. 3- presença de hifas penetrando no epitélio em

cortes histológicos corados pelo PAS, Grocott ou Gram, 4- Cultura de *Candida* a partir de amostra de saliva, 5- Alta titulação de anticorpos anti*Candida* em saliva (REICHL 1990). É evidente que nem todos estes testes podem ou devem ser realizados para todos os pacientes, exceto os dois primeiros que são rápidos, baratos e facilmente disponíveis.

O uso isolado de culturas positivas como critério de diagnóstico para candidose é inadequado já que pacientes saudáveis podem ter *Candida* isolada a partir de amostras da cavidade bucal. A interpretação é complicada pela dificuldade de definir o fungo encontrado como patógeno principal, secundário ou mero achado acidental, e por não haver "cut-off" seguro de UFC/ml para diferenciar o comensalismo de estados patológicos (FOTOS et al. 1991, FOTOS et al. 1992).

A utilização de critérios clínicos diversificados pode dificultar a comparação entre os resultados (FELIX & WRAY 1993). Muitos autores tentaram correlacionar as contagens de UFC/ml com as características clínicas de candidose, mas até o momento o único critério amplamente aceito para o diagnóstico laboratorial é a invasão tecidual por fungos (FOTOS et al. 1991). Não há unanimidade sobre o valor e indicações de cada teste e ainda menos quanto à correlação e comparabilidade entre eles (SKOGLUND et al. 1994).

Candidose bucal pode atuar como marcador clínico da presença de doenças subjacentes e graves, cujo diagnóstico precoce pode ser fundamental para a saúde do paciente (TYLENDÁ et al. 1989) e ainda que a candidose seja uma micose superficial e normalmente sem gravidade, pode disseminar-se e gerar o quadro de candidose sistêmica (NÄRHI et al. 1993). Em pacientes imunodeprimidos como na AIDS, transplantados e em idosos, o diagnóstico precoce da candidose e o devido tratamento profilático pode ser de vital importância (TYLENDÁ et al. 1989, NÄRHI et al. 1993).

O tratamento das candidoses é classicamente realizado com antifúngicos sistêmicos ou tópicos e depende do tipo de lesão presente e da condição sistêmica do paciente. Excelentes artigos de revisão tem sido publicados sobre o assunto, como o de BUDTZ-JÖRGENSEN (1990b) que tece considerações sobre etiopatogenia e tratamento das infecções por levedura na cavidade bucal. O autor considerou a presença de prótese

total como importante fator predisponente à candidose e sugeriu como medida de prevenção a meticulosa limpeza diária e a suspensão do uso noturno. Recomendou ainda o uso de agentes desinfetantes como a clorexidina e anfotericina B, ainda que tenha admitido o alto índice de recorrência após a suspensão do uso dos medicamentos. Já EPSTEIN (1990), descrevendo opções de tratamento para candidose de orofaringe, salientou a importância dos fatores sistêmicos e locais, em especial a aderência, sobre a efetividade do tratamento, e recomendou a utilização de medicamentos tópicos como opção para reduzir efeitos colaterais e bochechos de clorexidina como medida preventiva em pacientes imunodeprimidos.

Num estudo prospectivo, FELIX et al. 1993, verificaram a prevalência de candidose bucal em indivíduos HIV positivos e isolaram *Candida* em 93,4% dos mesmos. Evidências clínicas de candidose bucal foram observadas em 52% e a forma eritematosa foi a mais comum.

WRAY et al. (1990) relataram que a variante pseudomembranosa aguda é a forma clínica mais comum de candidose bucal na infecção pelo HIV. GILLESPIE & MARIÑO (1993), identificaram a candidose como lesão mais freqüente na cavidade bucal de pacientes infectados pelo HIV, seguida pela leucoplasia pilosa, em toda a América Latina, com exceção do Peru onde a condição bucal mais prevalente foi a xerostomia.

A importância das contagens de UFC/ml de saliva como preditoras do desenvolvimento de candidose foi destacada por GREENSPAN (1994), que revisou as alternativas de tratamento de candidose em detalhado painel dos medicamentos disponíveis e o aparecimento de microrganismos resistentes. É importante considerar o efeito do tratamento medicamentoso sobre a doença, e interpretar as variações laboratoriais, como a UFC/ml, à luz das mudanças ocorridas na mucosa bucal.

Esta dificuldade de correlação entre exame laboratorial e característica clínica foi sentida por KÖNSBERG & AXÉLL (1994), que analisaram o efeito do tratamento tópico com miconazole sobre a mucosite por prótese baseados em critérios clínicos e microbiológicos (contagem de UFC) em 40 pacientes. O elegante experimento testou

miconazole e placebo em estudo duplo cego randomizado e os autores relataram redução significativa das contagens de UFC no grupo tratado, mas não no grupo placebo. Entretanto as características clínicas evoluíram de maneira similar, sem melhora significativa, para ambos os grupos e as contagens de UFC retornaram ao nível basal 2 semanas após o fim do tratamento.

Sintomatologia relacionada a candidose bucal costuma ocorrer apenas em presença de *C.albicans*. A resistência da *C.albicans* a drogas antifúngicas do grupo azole ocorre com maior frequência em pacientes HIV+ com contagem de CD4 baixa. Cepas que causam infecção frequentemente são as que recolonizam o trato gastrointestinal, podendo também ocorrer uma possível transmissão de cepas de parceiro para parceiro (SANGEORZAN et al. 1994).

TYLENDÁ et al. (1989), identificaram os tipos fúngicos prevalentes em indivíduos HIV e estabeleceram que *C.albicans* como espécie dominante na saliva, mucosa jugal e língua. Não encontraram correlação entre concentração de colônias na saliva e contagem de T4 ou correlação T4/T8. Também não observaram correlação entre concentração de colônias e IgA anti - *C.albicans*.

GREENSPAN et al. (1994) constataram que *C.albicans* é a espécie mais prevalente nas manifestações bucais associadas ao HIV e que a resistência a determinadas drogas antifúngicas pode estar associada a presença de espécies diferentes de *Candida*.

Em estudo prospectivo, ALCABES et al. (1994), correlacionaram alguns marcadores laboratoriais e AIDS e verificaram aumento na incidência de AIDS com um declínio do número e percentual de linfócitos CD4. O mesmo ocorreu com o aumento de nível sérico de beta-2 microglobulina, baixos níveis de contagem de plaquetas, de leucócitos e p24. A incidência de candidose bucal estava aumentada conforme havia diminuição do número e percentual de linfócitos.

BEGG et al. (1996) constataram uma forte correlação entre a presença de lesões orais e imunossupressão, sugerindo que o nível de $CD4 < 200 \text{ cells/mm}^3$ seria um bom indicador para a maior incidência de candidose.

O tempo médio para o desenvolvimento da AIDS foi descrito por RAMÍREZ-AMADOR et al. (1996). Em pacientes com candidose bucal a média foi de 511 dias. Naqueles com leucoplasia pilosa 714 dias e na combinação de ambas 532 dias. O autor sugeriu correlação entre candidose bucal, leucoplasia pilosa e baixas contagens de CD4 e progressão da doença.

Algumas vezes dados microbiológicos são tão complexos que conclusões tornam-se temerárias. FRANKER et al. (1990), caracterizaram a microbiota da boca de 54 pacientes HIV positivos por meio de Swabs. Leveduras foram isoladas de 43 (80%) pacientes, 25 com candidose. *C.albicans* estava presente em 84% dos casos e *C.stellatoidea*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* e *C.paratropicalis* também foram encontradas. Os autores não chegaram a conclusões de maior impacto pois havia muitas variáveis poucos casos.

Objetivos:

Os objetivos deste trabalho foram:

- 1- Determinar a presença e quantificar o gênero *Candida* em amostras de saliva total de pacientes portadores do HIV do GPD/UNICAMP.
- 2- Identificar as espécies do gênero *Candida* presentes em amostras de saliva total de pacientes portadores do HIV.
- 3- Avaliar fatores locais e sistêmicos que influem na presença e na contagem de *Candida* na saliva de pacientes portadores do HIV, e no desenvolvimento da candidose aguda e crônica.
- 4- Acompanhar as modificações ocorridas na presença, contagem e identificação de *Candida* na saliva total de pacientes portadores do HIV longitudinalmente, por um ano, correlacionando com as mudanças ocorridas nos indicadores bucais e sistêmicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Fizeram parte deste estudo pacientes HIV+ provenientes do Grupo de Pesquisa em DST (GPD) - UNICAMP, em Campinas – SP. Estes pacientes fazem parte do protocolo de pesquisa multicêntrico randomizado, duplo cego, com inibidor de protease HIV (Indinavir) em combinação com outros antiretrovirais, fase aberta, que está sendo desenvolvido há três anos. Após a apresentação dos detalhes do funcionamento da pesquisa, e se houve concordância com a participação no estudo, foi entregue o formulário do consentimento informado (Anexo 1, página 52). O estudo foi dividido em duas etapas, uma transversal, com 188 pacientes que passaram por todas as avaliações da consulta inicial, e outra longitudinal, com 93 pacientes, acompanhados em consultas mensais ou bimensais, por meio de exame clínico e coleta de amostras de saliva total até completar um mínimo de um ano de seguimento. Os exames laboratoriais foram realizados bimestralmente, acompanhando o protocolo MK-639. Os únicos critérios de inclusão foram participar do protocolo MK-639, a concordância com os termos do consentimento informado e estar em condições físicas para ser examinado e coletar amostra salivar. Os critérios de exclusão foram a não concordância com os termos do consentimento informado e qualquer situação que não permitisse a livre opção por parte do paciente, como quadros de doença neurológica grave ou debilidade orgânica acentuada.

Entrevista:

Na primeira consulta, os pacientes receberam explicação detalhada sobre a pesquisa e receberam o consentimento informado (Anexo 1, página 52) e qualquer dúvida adicional foi esclarecida pela pesquisadora (NRM). Pacientes que concordavam com os termos da pesquisa e assinavam a autorização para participação em pesquisa clínica, passavam por entrevista detalhada sobre características gerais, história médica, e odontológica, hábitos e outras características. Os pacientes foram classificados segundo o estágio de doença como proposto pelo CDC 1993 (ANEXO 5, página 64). Seguiu-se o exame clínico, devidamente anotado em ficha clínica padronizada (Anexo 2, página 55) e a coleta de amostra de saliva total, mucosa bucal. As consultas subsequentes foram realizadas seguindo a mesma seqüência, a partir da entrevista, em ficha simplificada, a

cada mês ou cada dois meses, conforme a etapa do protocolo MK-639. Todas as consultas ocorreram no GPD da UNICAMP, em Campinas – SP.

Medicação utilizada:

A medicação utilizada (nome comercial, princípio ativo e indicação terapêutica) utilizada por cada paciente era anotada a cada sessão a partir dos dados da ficha médica em local apropriado na ficha da pesquisa (Anexo 2, página 55). Medicamentos com mais de uma ação terapêutica ou princípio ativo foram classificados pelo grupo medicamentos/ação principal. Os antiretrovirais incluíam Zidovudina (AZT), Lamivudine (3TC), Indinavir e outros antiretrovirais (Didanosine, Zalcitabine, Stavudine, Ritonavir e Saquinavir).

A avaliação bucal incluiu os seguintes indicadores:

Perdas dentárias totais (desdentados totais):

Foram considerados desdentados totais pacientes sem dentes visíveis ou com até 2 raízes residuais. Pessoas com mais de 2 dentes, mesmo com extração indicada, foram consideradas dentadas.

Variações da normalidade e lesões da normalidade da mucosa bucal:

Os indivíduos tiveram a cavidade bucal examinada sob iluminação artificial, com auxílio de espátulas de madeira.

A seqüência utilizada incluiu a semimucosa labial inferior e superior, comissuras esquerda e direita, mucosa labial inferior e superior, mucosa retrocomissural e jugal esquerda e direita, fórnice inferior e superior, região retromolar esquerda e direita, túber esquerdo e direito, mucosa vestibular de rebordo inferior e superior, palato duro, mucosa palatina de rebordo superior, palato mole, orofaringe, dorso de língua, borda lateral e ápice de língua, ventre de língua, soalho bucal, e mucosa lingual de rebordo inferior. Aumentos de volume e deformidades foram palpadas, assim como ulcerações, musculatura e região de ATM. Alterações da normalidade e lesões mais comuns foram anotadas em ficha própria e lesões ou alterações pouco freqüentes descritas na ficha

clínica. Lesões sem importância clínica, ou aquelas cujo diagnóstico é exclusivamente clínico, não foram biopsiadas sistematicamente. Lesões de importância clínica, ou pouco frequentes, foram biopsiadas para confirmação do diagnóstico. As lesões relacionadas a doença do HIV foram classificadas em grupos segundo critério estabelecido por EC-Clearing House (1993).

Grupo 1 ou lesões fortemente associadas com a doença do HIV: Candidose eritematosa e pseudomembranosa, leucoplasia pilosa, sarcoma de Kaposi, linfoma não-Hodgkin, periodontite do HIV ou periodontite necrosante, eritema gengival linear e GUNA.

Grupo 2 ou lesões menos comumente associadas com a doença do HIV: Infecção bacteriana (*Mycobacterium avium intracelular*, *Actinomyces*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, periodontite apical, sinusite e celulite submandibular), hiperpigmentação melânica associada a medicação ou síndrome de Addison, estomatite úlcernecrosante, doença de glândula salivar (parotidite, aumento inespecífico de glandular salivar e xerostomia), púrpura trombocitopênica, úlceras não específicas, infecção viral (herpes simples, herpes zoster, úlcera por citomegalovírus (CMV), leucoplasia pilosa e papiloma).

Grupo 3 ou lesões pouco relacionadas a doença do HIV: Infecções bacterianas (não relacionadas nos grupos 1 e 2), reações à drogas, infecções fúngicas não relacionadas a *Candida*, distúrbios neurológicos (neuropatia do trigêmio e parestesia), aftas recorrentes, infecções virais (não relacionadas nos grupos 1 e 2) e molusco contagioso.

Os critérios de diagnóstico das demais lesões foram adaptados de AXELL (1976), PINDBORG (1993) e AXELL et al. (1993). Lesões associadas a *Candida* foram classificadas conforme preconizado por HOLMSTRUP & AXELL (1990) e FOTOS et al. (1992).

Avaliação da xerostomia por medida do fluxo salivar total:

Saliva total não estimulada foi coletada por 5 minutos, em coletores descartáveis estéreis. As coletas foram realizadas a cada consulta, no período da manhã, no mínimo 2

horas após a última refeição. Era solicitado ao paciente que não fizesse uso de qualquer colutório ou enxágüe bucal, chicletes ou alimentos sólidos ou líquidos. Em ambiente tranquilo, o paciente era orientado a remover as próteses totais ou parciais que eventualmente pudesse estar utilizando, engolir toda a saliva presente na boca e, a partir daí, cuspir aproximadamente a cada 30 segundos até completar o tempo de 5 minutos. O volume de cada coleta era medido e ajustado para fluxo em ml/min. O fluxo foi considerado normal quando maior que 0,2ml/minuto e xerostômico quando menor ou igual a 0,2ml/minuto. O volume salivar foi medido utilizando pipetador automático (pipetaid). As amostras salivares eram mantidas sob refrigeração, em caixa térmica com gelo, até o processamento que ocorreu geralmente após duas ou três horas, no laboratório de Imunoparasitologia do Gastrocentro da UNICAMP em Campinas - SP.

Avaliação da xerostomia por exame clínico:

A determinação clínica de redução do fluxo salivar foi realizada durante o exame clínico, e teve como base os seguintes critérios:

- ausência de acúmulo de saliva no soalho bucal ("lago salivar"),
- presença de saliva "espumosa" e/ou viscosa,
- aderência da espátula de madeira à mucosa jugal, língua ou lábios,
- avermelhamento generalizado da mucosa.

Presença de um ou mais destes fatores, determinou a inclusão do paciente no grupo com "redução do fluxo salivar", e a presença de todos simultaneamente determinou a classificação no grupo com "redução acentuada do fluxo salivar".

Avaliação da xerostomia pela sintomatologia relacionada ao fluxo salivar:

As perguntas para avaliação dos sintomas de xerostomia foram respondidas em sistema de "sim, não ou não sei" e as questões utilizadas foram adaptadas do trabalho de FOX et al. (1987) e estão abaixo listadas:

Sente a boca seca durante a noite ou ao despertar?

Sente a boca seca durante o dia?

Costuma deixar um copo d'água ao lado da cama ao dormir?

Costuma tomar líquidos para ajudar a engolir a comida?

Sente a boca seca durante as refeições?

Sente dificuldade para engolir comida?

Masca chicletes e/ou chupa balas para aliviar boca seca?

Acha que tem pouca saliva?

Acha que tem muita saliva?

Marcadores laboratoriais:

Todos os exames laboratoriais utilizados faziam parte do protocolo MK-639 e foram realizados a cada dois meses pelo laboratório Fleury de São Paulo – SP, de acordo com este mesmo protocolo. Os resultados eram periodicamente copiados das pastas clínicas dos pacientes no GPD da UNICAMP. Foram avaliados os seguintes marcadores e dados laboratoriais associados a infecção pelo HIV: Contagem e percentual de CD4 periférico, contagem de glóbulos brancos (GB), contagem plaquetária, tempo de protrombina e tromboplastina parcial, hemoglobina (Hc), velocidade de hemossedimentação (VHS), dosagem de transaminase oxalacética (TGO), dosagem de transaminase pirúvica (TGP) e carga viral como pode ser visto no ANEXO 6, página 65.

Isolamento e contagem de *Candida*:

A análise microbiológica para *Candida* foi realizada a partir das amostras de saliva coletadas para análise do fluxo e semeadas em meio Ágar Sabouraud-Glicose com cloranfenicol. Os procedimentos técnicos do isolamento e contagem estão no Anexo 3, página 60.

Identificação das espécies de *Candida*:

A identificação foi realizada de acordo com SANDVÉN (1990) e SAMARANAYAKE & MacFARLANE (1990), assim como foram utilizados kits de identificação e meio cromogênico como pode ser visto no Anexo 4, página 61.

Análise dos resultados:

Com finalidade estatística, as contagens de UFC/ml de saliva foram consideradas

em 3 situações; contagem numérica, categorização em positivo ($n > 500$ UFC/ml), portador ($1 < n < 499$ UFC/ml) e negativo ($n = \text{zero}$) e categorizada em positivo ($n > \text{zero}$) e negativo ($n = \text{zero}$). As informações obtidas foram digitadas em banco de dados construído a partir do EPI-INFO® 6.04b do CDC-OMS e analisadas no próprio EPI-INFO e no SAS®.

ISOLAMENTO E CONTAGEM DE *Candida* NA AVALIAÇÃO TRANSVERSAL:

Foram avaliadas as contagens de UFC (categorizada em + ou -) e a contagem UFC categorizada em negativo, portador ($1 < n < 499$ UFC) ou positivo ($n > 500$ UFC) na primeira visita, para as variáveis indicadas abaixo:

Características gerais: idade, gênero, cor da pele, instrução, estado civil, classificação do CDC, categoria de exposição,

Antecedentes médicos e odontológicos: história de candidose bucal, tabagismo, ex-fumante, etilismo, ex-etilista, uso de prótese total, queixa de boca seca durante o dia, queixa de boca seca durante à noite.

Uso de medicamentos: AZT, 3TC, indinavir, outros anti-retrovirais, trimetoprima-sulfametoxazol (bactrim®), dapsona, propanolol, pentamidina, anti-fúngico.

Doenças oportunistas: herpes zoster, criptosporidíase, pneumocistose, isosporíase, toxoplasmose, citomegalovirose, tuberculose pulmonar, tuberculose ganglionar, micobacteriose.

Presença de lesões na mucosa bucal: candidose eritematosa, candidose pseudomembranosa, despapilação lingual acentuada, despapilação lingual localizada, mucosite por prótese, glossite romboidal mediana, leucoplasia pilosa, língua saburrosa, queilite angular e xerostomia.

Marcadores laboratoriais: contagem de linfócitos T4 e T8, carga viral, glicemia, contagem de glóbulos brancos, taxa de hematócrito, contagem de plaquetas, dosagem de TGO, dosagem de TGP e fluxo salivar. As mesmas variáveis foram utilizadas na análise longitudinal.

Para verificar a associação entre a contagem UFC e as variáveis categóricas, na primeira visita, utilizou-se o teste qui-quadrado. Quando os valores esperados foram menores que 5, utilizou-se o teste exato de Fisher, considerando associação significativa

quando o valor de p foi menor que 0,05.

Para as variáveis numéricas, utilizou-se o teste de Wilcoxon para verificar se havia diferença significativa entre as categorias positiva e negativa grupos.

ISOLAMENTO E CONTAGEM DE *Candida* NA AVALIAÇÃO LONGITUDINAL:

Para o isolamento e contagem de *Candida* na análise longitudinal foram consideradas 8 visitas.

Na análise longitudinal utilizou-se a contagem UFC classificada em 0 (UFC/ml=0) e 1 (UFC/ml ≥ 1), verificando-se quais variáveis influenciavam esta resposta ao longo do tempo.

O teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar os grupos UFC negativo, UFC portador e UFC positivo para as variáveis numéricas. Quando o teste de Kruskal-Wallis foi significativo utilizou-se o teste de Wilcoxon para verificar entre quais grupos houve diferença.

Para analisar a influência das variáveis na contagem UFC foi utilizado o método das Equações de Estimção Generalizadas (EEG) como proposto por Liang & Zeger (1986) e Zeger & Liang (1986). Excluíram-se todos os casos de candidose eritematosa em cada visita, pois ficou evidenciado pelas análises anteriores que esta manifestação bucal estava diretamente associada com a contagem da UFC/ml. Os cálculos foram realizados pelo programa SAS®, considerando 5% como estatisticamente significativo.

IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *CANDIDA*

Todas as variáveis categorizadas obtidas na avaliação dos pacientes foram comparadas aos grupos de espécies (*C.albicans*, *C.tropicalis*, *Candida sp.* e outros eventuais grupos) por meio do teste do QQ. Variáveis numéricas de medida discreta como por exemplo a idade, UFC/ml e contagem de CD4, foram comparadas aos mesmos grupos de espécies por meio de ANOVA e K-W. O teste de Bartlett foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição dos dados. Os cálculos foram realizados pelo programa EPI-INFO® 6.04b, considerando-se 5% como estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Características gerais da amostra

O paciente médio da pesquisa tinha $35,2 \pm 8,2$ anos, era do gênero masculino (64,9%), leucoderma (82,4%), tinha instrução primária (51,6%), era casado (43,6%) ou solteiro (37,2%). Segundo a classificação do CDC o grupo C3 (36,7%) foi o mais freqüente seguido do grupo B2 (28,2%), em relação a categoria de exposição para o gênero masculino predominaram o homossexualismo (37,7%) e o uso de drogas injetáveis (35,2%) e para o feminino (98,5%) o heterossexualismo como pode ser observado na Tabela 1. Houveram 4 (2,1%) de casos de óbitos de pacientes durante o período da pesquisa.

Tabela 1: Distribuição dos 188 pacientes avaliados de acordo com as características gerais.

Pacientes analisados transversalmente	188
Pacientes analisados longitudinalmente	93
Tempo médio do acompanhamento longitudinal	17 meses
Total de visitas avaliadas	1315
Gênero	
Masculino	122 (64,9%)
Feminino	66 (35,1%)
Idade (média $\pm$ desvio-padrão em anos)	35,2 $\pm$ 8,25
Cor da Pele	
Leucoderma	155 (82,4%)
Melanoderma	13 (6,9%)
Feoderma	20 (10,6%)
Nível de Instrução	
Sem instrução	1 (0,5%)
Primário	97 (51,6%)
Secundário	51 (27,1%)
Universitário	39 (20,7%)
Estado Civil	
Casado	82 (43,6%)
Solteiro	70 (37,2%)
Viúvo	20 (10,6%)
Outros	16 (8,5%)
Classificação do CDC	
A2	28 (14,9%)
B2	53 (28,2%)
B3	38 (20,2%)
C3	69 (36,7%)
Categoria de exposição (Masculino)	122
Heterossexual	28 (23,0%)
Homossexual	46 (37,7%)
Bissexual	2 (1,6%)
Drogadito	43 (35,2%)
Hemofílico	2 (1,6%)
Categoria de exposição (Feminino)	66
Heterossexual	65 (98,5%)
Drogadito	1 (1,5%)

A distribuição das contagens de UFC nas categorizações propostas; categorias de UFC negativo e UFC positivo e categorias de portador ($1 < n < 499$ UFC/ml) e positivo (> 500 UFC/ml), na primeira visita, está exposta na tabela 2 abaixo.

Tabela 2: Distribuição dos pacientes de acordo com a frequência de contagem de UFC/ml em ambas as categorizações na primeira visita.

UFC	n (%)	Média ± DP	Mediana
Negativo	27(14,4)	0,0 ± 0,0	0,0
Positivo	161(85,6)	633,7 ± 1259,0	140,0
Portador	103(54,7)	95,4 ± 101,2	54,0
Positivo	58(30,9)	1589,6 ± 1725,0	765,7

A análise da correlação entre as características gerais dos pacientes e a contagem de UFC/ml de saliva total não estimulada na primeira visita mostrou que apenas o estadiamento segundo o CDC apresentou resultado significativo para o grupo A2 ($p=0,001$) como pode ser visto na tabela 3 e no gráfico 1 a seguir.

Tabela 3: Distribuição dos pacientes de acordo com as características gerais e contagem média de UFC/ml de saliva total não estimulada com $n=188$.

	n	Média ± DP	Mediana	(p)
Gênero				0,33
Masculino	111	637,7 ± 1331,2	180,0	
Feminino	50	624,6 ± 1094,5	111,5	
Cor da Pele				0,50
Leucoderma	134	593,5 ± 1024,5	150,5	
Melanoderma	10	923,8 ± 1254,7	292,5	
Feoderma	17	784,2 ± 2480,0	75,0	
Nível de Instrução				0,12
Sem instrução	5	10,8 ± 12,6	11,5	
Nível primário	84	706,2 ± 1494,6	215,0	
Nível secundário	41	398,3 ± 829,3	90,0	
Nível universitário	35	752,6 ± 752,6	210,0	
Estado Civil				0,53
Casado	84	685,5 ± 1505,6	108,0	
Solteiro	63	577,6 ± 905,4	215,0	
Viúvo	14	581,6 ± 1045,5	201,0	
Classificação do CDC				0,001*
A2	28	566,0 ± 1493,8	80,0	
B2	52	810,0 ± 1015,0	410,9	
B3	38	748,4 ± 1009,1	401,5	
C3	69	638,2 ± 1123,0	145,0	
Categoria de Exposição				0,26
Heterossexual	43	693,2 ± 975,2	250,0	
Homossexual	75	699,5 ± 1600,2	128,0	
Drogadito	42	471,5 ± 736,5	180,0	

* teste de Kruskal-Wallis. Nas demais variáveis utilizou-se o teste de Wilcoxon

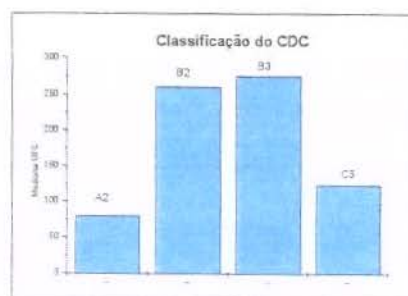


Gráfico 1: Correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada e classificação do CDC

A avaliação das informações obtidas pela entrevista do paciente mostrou que apenas a história pregressa de candidose e o relato de sensação de xerostomia durante o dia na primeira visita mostraram influência estatisticamente significativa sobre as contagens de UFC/ml como pode ser observado na tabela 4.

Tabela 4: Contagem de UFC/ml de saliva total não estimulada e variáveis obtidas na entrevista dos pacientes. Avaliação pelo teste de Wilcoxon e $n=161$.

	n	Média $\pm$ DP	Mediana	p
História de candidose				0,0009
Sim	66	999,0 $\pm$ 1720,0	350,0	
Não	95	379,5 $\pm$ 702,4	80,0	
Sente a boca seca durante o dia				0,04
Sim	36	735,9 $\pm$ 978,0	410	
Não	125	604,2 $\pm$ 1330,6	123	

Na tabela 5 e gráfico 2 abaixo, está a distribuição das contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada na primeira visita em relação às lesões e variações da normalidade da mucosa bucal que tiveram influência estatisticamente comprovada, como a candidose eritematosa, candidose pseudomembranosa, despilação lingual acentuada, língua saburrosa e queilite angular. As demais lesões e características bucais não mostraram influência estatística sobre as contagens.

Tabela 5: Contagem de UFC/ml de saliva total não estimulada e lesões e variações da normalidade da mucosa bucal dos pacientes. Avaliação pelo teste de Wilcoxon e n=161.

	n	Média ± DP	Mediana	(p)
Candidose eritematosa				0,0001
Sim	50	1644,5 ± 1835,8	840,0	
Não	111	178,3 ± 361,6	61,0	
Candidose pseudomembranosa				0,0001
Sim	9	2322,0 ± 1854,7	2400,0	
Não	152	533,0 ± 1147,8	129,0	
Despilação lingual acentuada				0,0035
Sim	10	1899,0 ± 1936,5	1465,0	
Não	151	549,9 ± 1163,5	130,0	
Língua saburrosa				0,02
Sim	14	903,0 ± 1135,5	495,0	
Não	147	607,5 ± 1270,0	130,0	
Queilite angular				0,001
Sim	10	1471,0 ± 1274,6	696,0	
Não	151	578,2 ± 1242,4	130,0	

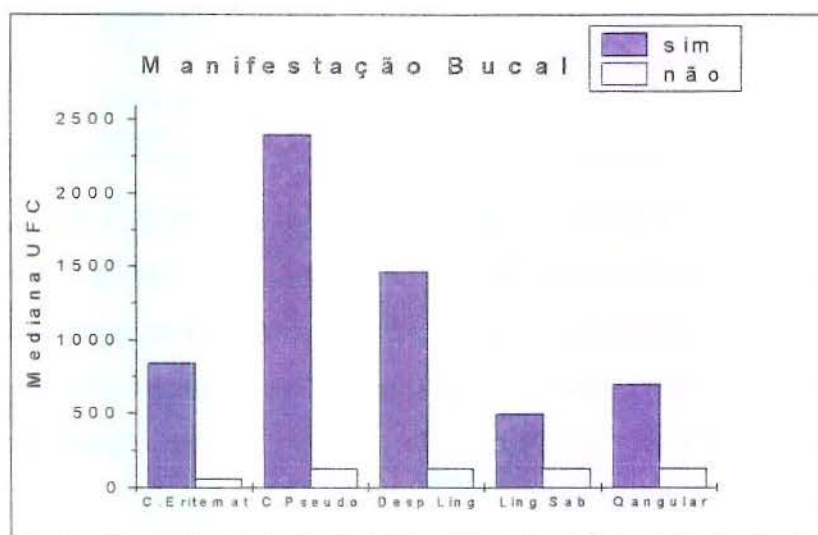


Gráfico 2: Correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada na primeira visita e as principais lesões bucais.

A avaliação das informações laboratoriais, correlacionadas as contagens categorizadas da UFC/ml mostraram que os valores de hematócrito, TGO e TGP apresentaram significância estatística, tanto na análise transversal como na longitudinal, como pode ser visto na tabela 6 e gráfico 3.

Tabela 6: Correlação entre contagem de UFC/ml e variáveis numéricas em 188 pacientes.

	n	Média ± DP	Mediana	(p)
Taxa de Hematócrito				
UFC positivo	93	41,1 ± 4,9	41,0	0,05
UFC negativo	17	38,3 ± 4,9	39,0	
Contagem de TGO*				
UFC positivo	91	36,6 ± 24,5	28,0	0,01
UFC negativo	17	24,7 ± 9,40	21,0	
Portador	56	32,6 ± 17,8	27,0	
Positivo	35	43,0 ± 31,8	31,0	
Contagem de TGP***				
UFC positivo	90	42,6 ± 35,1	31,0	0,01
UFC negativo	17	25,6 ± 15,2	20,0	
Portador	55	38,8 ± 30,2	30,0	
Positivo	35	48,6 ± 41,4	33,0	

*Dosagem de Transaminase glutâmico oxalacética

**Dosagem de Transaminase glutâmico pirúvica

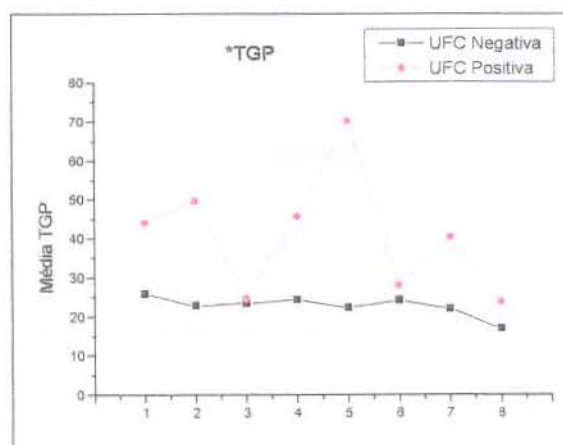
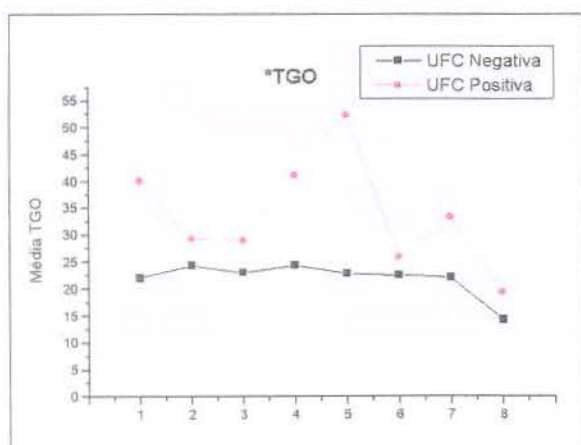


Gráfico 3: Visualização da correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada e TGO e TGP nas 8 visitas de 93 pacientes acompanhados longitudinalmente.

A análise da correlação das características gerais idade, gênero, cor da pele, nível de instrução, estado civil, classificação do CDC e categoria de exposição com a contagem categorizada de UFC/ml de saliva total não estimulada não mostrou significância estatística. A distribuição dos dados pode ser vista no Anexo 7, página 66.

A análise da correlação das informações obtidas pela entrevista dos pacientes com as contagens categorizadas de UFC/ml, na primeira visita, mostrou diferença estatística significativa para o uso de próteses totais, mas apenas para a categoria de portador (UFC/ml entre 1 e 499). Por outro lado, a análise da correlação entre a contagem categorizada de UFC/ml e o uso de medicamentos, mostrou resultados estatisticamente significativos apenas para o uso indinavir, dentro do grupo categorizado em positivo, como podemos observar na tabela 7, gráficos 4 e 5.

Tabela 7: Correlação entre a contagem categorizada de UFC/ml na primeira visita e o uso de prótese total e a utilização de Indinavir como avaliada pelo teste de Wilcoxon.

	n	Média ± DP	Mediana	(p)
Uso de prótese total				
Portador de <i>Candida</i>				0,01
Sim	20	59,8 ± 81,8	30,0	
Não	83	104,0 ± 103,7	55,0	
Positivo para <i>Candida</i>				0,56
Sim	14	2367,7 ± 2874,0	822,2	
Não	44	1342,0 ± 1091,2	765,0	
Uso de Indinavir				
Portador de <i>Candida</i>				0,66
Sim	93	97,4 ± 102,3	55,0	
Não	10	76,8 ± 90,5	36,0	
Positivo para <i>Candida</i>				0,02
Sim	53	1505,8 ± 1770,5	735,0	
Não	5	2478,0 ± 797,0	2530,0	

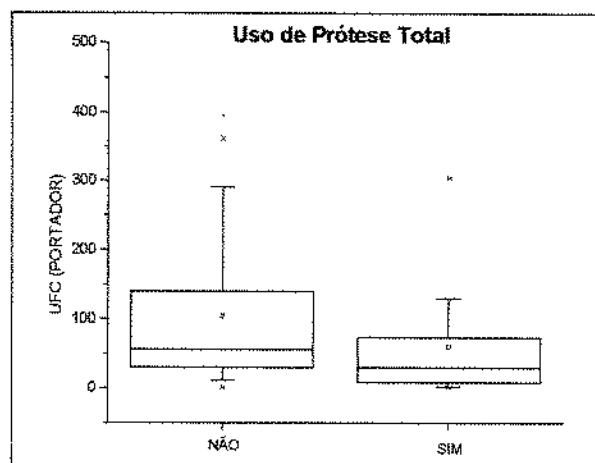
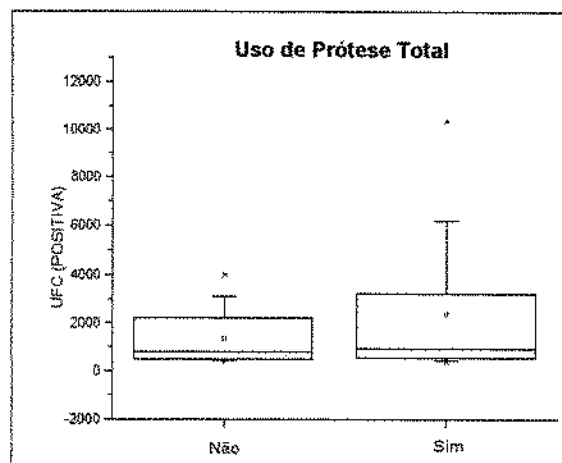


Gráfico 4: Visualização da análise da correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada e o uso de prótese total. Parte A: Categoria de contagem de UFC/ml positiva. Parte B: Categoria de contagem de UFC/ml portador.

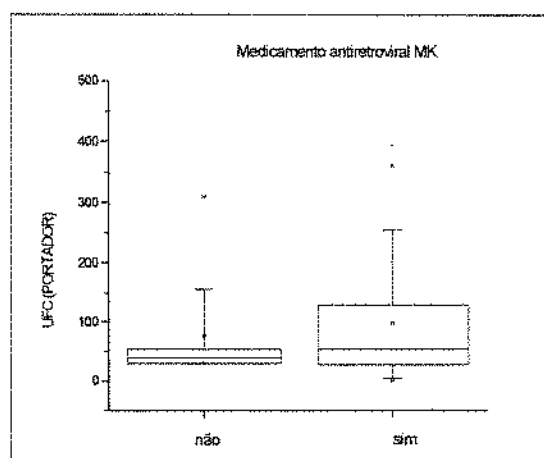
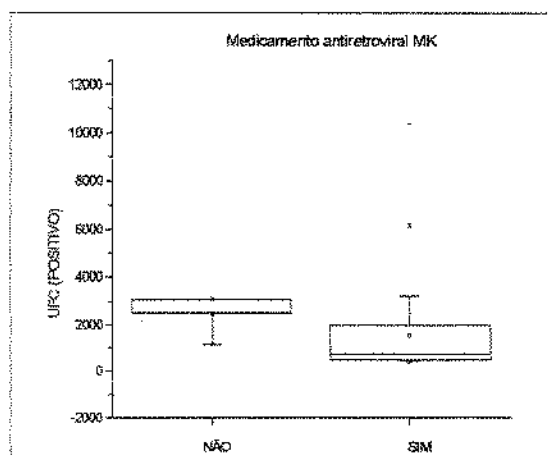


Gráfico 5: Visualização da análise da correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada e o uso do antiretroviral Indinavir. Parte A: Categoria de contagem de UFC/ml positiva. Parte B: Categoria de contagem de UFC/ml portador.

A avaliação das doenças oportunistas associadas ao HIV e das alterações da mucosa bucal que influenciaram as contagens categorizadas de UFC/ml na primeira visita mostrou significância estatística para o herpes zoster e leucoplasia pilosa, na categoria dos portadores de *Candida* e da candidose eritematosa como pode ser visto na tabela 8 e gráficos 6, 7 e 8.

Tabela 8: Correlação entre contagem categorizada de UFC/ml e a história de doenças oportunistas como avaliado pelo teste de Wilcoxon.

	n	Média $\pm$ DP	Mediana	(p)
Herpes zoster				
Portador				0,009
Sim	19	41,6 $\pm$ 36,0	30,0	
Não	84	107,6 $\pm$ 107,0	63,5	
Positivo				0,976
Sim	11	1452,0 $\pm$ 1163,5	900,0	
Não	47	1621,0 $\pm$ 1841,4	750,0	
Candidose eritematosa				
Portador				0,03
Sim	6	218,6 $\pm$ 137,3	271,0	
Não	97	87,6 $\pm$ 94,1	52,0	
Positivo				0,006
Sim	44	1839,0 $\pm$ 1875,1	982,5	
Não	14	805,7 $\pm$ 745,7	500,0	
Leucoplasia pilosa				
Portador				0,02
Sim	20	136,6 $\pm$ 117,5	79,0	
Não	83	85,5 $\pm$ 94,9	50,0	
Positivo				0,74
Sim	12	1183,6 $\pm$ 777,7	982,5	
Não	46	1695,5 $\pm$ 1889,2	750,0	

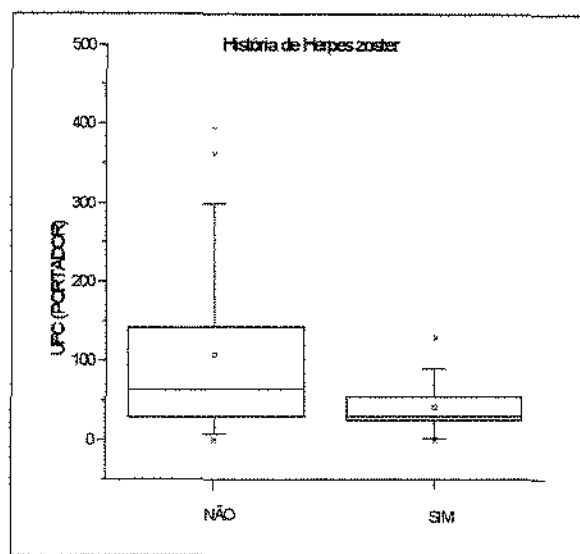
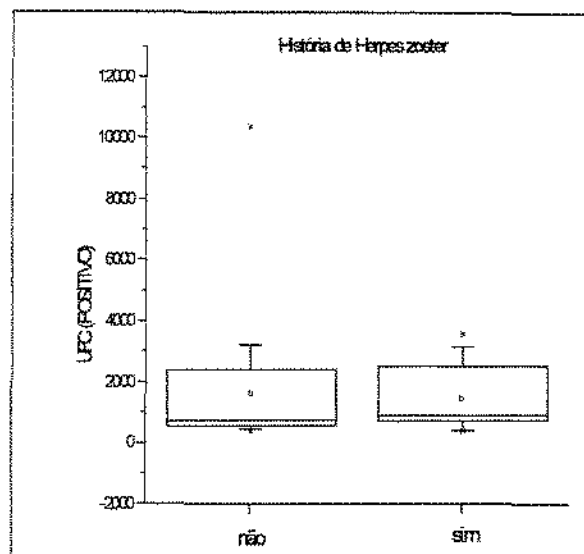


Gráfico 6: Visualização da análise de correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada e a história de herpes zoster. Parte A: Categoria de contagem de UFC/ml positiva. Parte B: Categoria de contagem de UFC/ml portador.

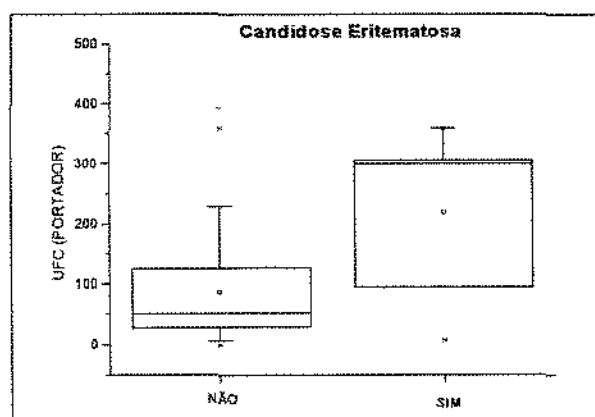
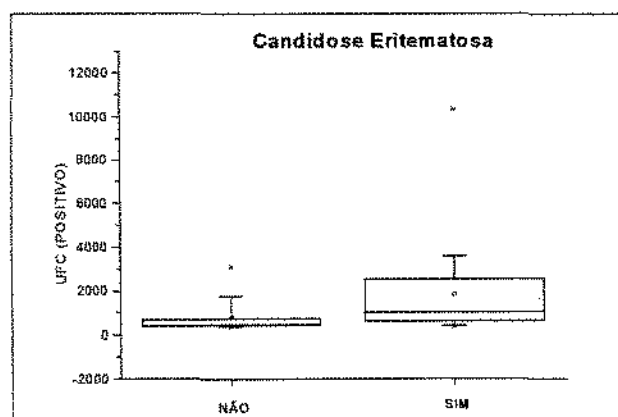


Gráfico 7: Visualização da análise de correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada e presença de candidose eritematosa. Parte A: Categoria de contagem de UFC/ml positiva. Parte B: Categoria de contagem de UFC/ml portador.

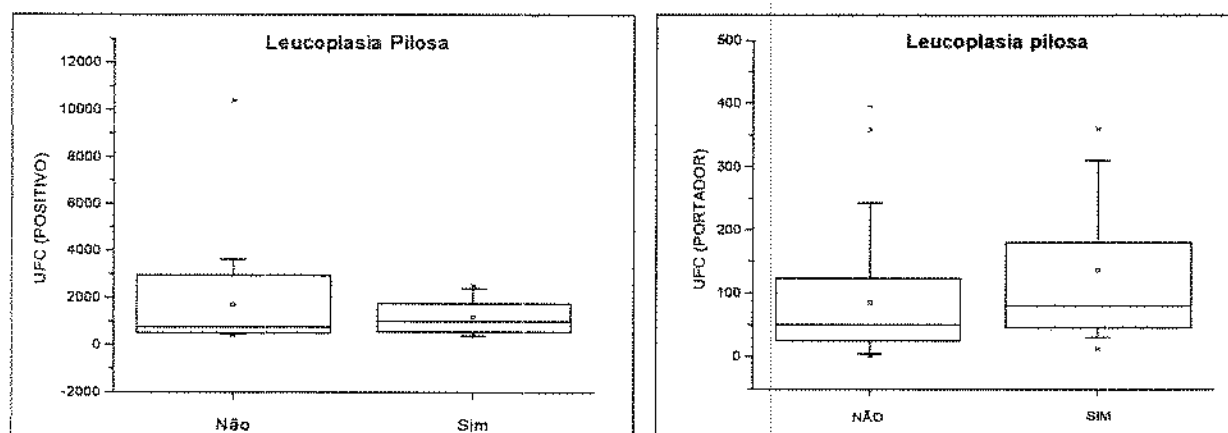


Gráfico 8: Visualização da análise de correlação entre as contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada e presença de leucoplasia pilosa. Parte A: Categoria de contagem de UFC/ml positiva. Parte B: Categoria de contagem de UFC/ml portador.

A distribuição das espécies de leveduras identificadas, categorizadas em *C.albicans* e não-*albicans*, nos 157 pacientes positivos para leveduras na primeira visita, mostrou que 119 (75,8%) dos mesmos possuíam *C.albicans* e 38 (24,2%) outras espécies como pode ser visto na tabela 9.

Tabela 9: Distribuição das espécies de leveduras identificadas na primeira visita dos 157 pacientes positivos para *Candida* de acordo com algumas das variáveis avaliadas.

	<i>C.albicans</i> n (%)	Não <i>albicans</i> n (%)
Classificação do CDC		
A2	15 (12,6)	5 (13,1)
B2	36 (30,3)	9 (23,6)
B3	29 (24,4)	4 (10,5)
C3	39 (32,8)	20 (52,6)
Usa prótese total		
Sim	14 (11,8)	10 (32,3)
Não	105 (88,2)	21 (67,7)
Historia de candidose		
Sim	52 (43,7)	7 (22,6)
Não	67 (56,3)	24 (77,4)
Sente a boca seca durante o dia		
Sim	30 (25,2)	9 (29,0)
Não	89 (74,8)	22 (71,0)
Herpes zoster (infecção oportunista)		
Sim	18 (15,1)	9 (29,0)
Não	101 (84,9)	22 (71,0)

Tabela 9 (continuação): Distribuição das espécies de leveduras identificadas na primeira visita dos 157 pacientes positivos para *Candida* de acordo com algumas das variáveis avaliadas.

	<i>C.albicans</i> n (%)	Não <i>albicans</i> n (%)
Despilação lingual acentuada		
Sim	5 (4,2)	4 (12,9)
Não	114 (95,8)	27 (87,1)
Candidose eritematosa		
Sim	3 (27,7)	11 (35,5)
Não	86 (72,3)	20 (64,5)
Candidose pseudomembranosa		
Sim	6 (5,0)	2 (6,5)
Não	113 (95,0)	29 (93,5)
Língua saburrosa		
Sim	11 (9,2)	2 (6,5)
Não	108 (90,8)	29 (93,5)
Uso de prótese total		
Sim	14 (11,8)	10 (32,3)
Não	105 (88,2)	21 (67,7)
Uso de indinavir (antiretroviral)		
Sim	107 (89,9)	28 (90,3)
Não	12 (10,1)	3 (9,7)

A tabela 10 mostra os valores da análise de correlação entre as variáveis numéricas e as contagens de UFC/ml de *C.albicans* na primeira visita dos pacientes, de acordo com a regressão linear. Os valores não foram significativos.

Tabela 10: Análise da correlação das contagens de UFC/ml da espécie *C.albicans* e as variáveis numéricas na primeira visita. Foi realizado o teste de Regressão Linear Simples.

	n	Média	LC 95%	r ²	r
Fluxo salivar	157	0,5	- 0,15 < r < 0,21	0,60	0,03
Linfócitos T4	68	327,7	- 0,42 < r < 0,04	0,04	- 0,20
Linfócitos T8	66	1068,7	-0,15 < r < 0,32	0,01	0,09
Carga viral	30	1.800	- 0,48 < r < 0,22	0,02	- 0,15
Glicose	60	85,5	- 0,32 < r < 0,18	0,01	- 0,07
Glóbulos brancos	68	5651,5	- 0,13 < r < 0,34	0,01	0,11
Hematócrito	67	40,8	- 0,16 < r < 0,31	0,01	0,08
Plaquetas	69	2.100	-,0,18 < r < 0,29	0,00	0,06
TGO*	65	36,2	- 0,22 < r < 0,26	0,00	0,02
TGP**	65	42,4	- 0,26 < r < 0,22	0,00	- 0,02

*Dosagem de Transaminase glutâmico oxalacética - **Dosagem de Transaminase glutâmico pirúvica

A análise da distribuição das médias de contagens de UFC/ml de saliva total, de acordo com a espécie identificada nos 157 pacientes que possuíam leveduras, está abaixo apresentada na tabela 11. Além dessas, foram identificadas *Candida sp.* (5 amostras), *Rhodotorula rubra* (uma amostra), *Rhodotorula minuta* (uma amostra). As contagens foram significativamente maiores para *C.albicans* ($p=0,002$).

Tabela 11: Distribuição dos pacientes de acordo com espécies de leveduras identificadas e contagem de UFC/ml, na primeira visita. Foi realizado o teste de Kruskal-Wallis.

	n	Média $\pm$ DP	Mediana	(p)
<i>C.albicans</i>				0,002
Sim	119	671,6 $\pm$ 1366,3	144,0	
Não	38	443,6 $\pm$ 905,2	31,0	
<i>C.tropicalis</i>				0,58
Sim	11	448,4 $\pm$ 777,2	95,0	
Não	146	637,7 $\pm$ 1322,6	127,5	
<i>C.kefyr</i>				0,27
Sim	6	448,0 $\pm$ 421,4	375,0	
Não	151	623,5 $\pm$ 1289,3	125,0	
<i>C.glabrata</i>				0,33
Sim	6	1811,7 $\pm$ 3392,2	130,0	
Não	151	544,1 $\pm$ 994,5	127,0	
<i>C.parapsilosis</i>				0,97
Sim	5	665,3 $\pm$ 1752,5	116,5	
Não	152	621,3 $\pm$ 1227,0	129,0	
<i>C.krusei</i>				0,90
Sim	6	199,8 $\pm$ 217,0	112,0	
Não	151	634,3 $\pm$ 1292,8	127,0	
<i>C.lusitaniae</i>				0,38
Sim	1	30,0 $\pm$ 0,0	-	
Não	156	798,0 $\pm$ 1588,0	-	
<i>C.guilliermondii</i>				0,55
Sim	3	325,0 $\pm$ 525,7	30,0	
Não	154	807,2 $\pm$ 1606,8	180,0	

A avaliação da presença concomitante de leveduras mostrou o seguinte quadro *C.albicans* + *C.tropicalis* (6 pacientes), *C.albicans* + *C.kefyr* (6 pacientes), *C.albicans* + *R.rubra* (1 paciente) *C. albicans* + *R.minuta* (1 paciente), *C.krusei* + *Candida sp* (3 pacientes), *C.tropicalis* + *C.glabrata* (2 pacientes).

A análise da distribuição dos pacientes avaliados longitudinalmente nesta pesquisa, segundo a carga viral e contagem de linfócitos T4, mostrou que estes concentravam-se num perfil com contagens de linfócitos T4 acima de 400 células/ml e carga viral abaixo de 5000 cópias virais como pode ser visto na tabela 12.

Tabela 12: Distribuição de 83 pacientes segundo a carga viral (cópias de vírus detectáveis) e contagem de linfócitos T4 (cels/ml). Os dados referem-se a pacientes acompanhados longitudinalmente e com valores laboratoriais disponíveis.

	Linfócitos T4 - n (%)			
	0 - 100	101 - 200	201 - 400	Linf. T4 > 400
Carga Viral				
500 – 5000	0 (0,0 %)	7 (8,4%)	32 (38,5%)	22 (26,5%)
5001 - 30 000	0 (0,0 %)	3 (3,6%)	9 (10,8%)	3 (3,6%)
30 0001 - 500 000	2 (2,4%)	2 (2,4%)	3 (3,6%)	0 (0,0 %)

Teste de Fisher significativo $p=0,0005$

Na avaliação das contagens de UFC/ml de saliva total, em função de carga viral e das contagens de linfócitos T4 nas 8 visitas, não houve diferença significativa do ponto de vista estatístico (teste de Kruskal-Wallis $p=0,15$). Porém os resultados sugerem tendência a contagens de UFC/ml elevadas em presença de carga viral aumentada e a medida que a contagem de linfócitos T4 diminui, como pode ser visto nas tabelas 13 e 14 abaixo.

Tabela 13: Análise da correlação entre contagem de UFC/ml, carga viral (cópias de vírus detectáveis) e contagem de linfócitos T4 (cels/ml) em 83 pacientes acompanhados longitudinalmente e com os valores laboratoriais disponíveis.

	UFC (Média±DP)			
	Linfócitos T4			
	0 - 100	101 - 200	201 - 400	Linf. T4 > 400
Carga Viral				
500 – 5000	-	477,1 ± 565,6	695,3 ± 1318,6	486,0 ± 934,2
5001 - 30 000	-	1321,3 ± 631,3	316,7 ± 315,4	1122,8±1083,3
30 001 – 500 000	1840,2±2194,0	973,1 ± 929,2	546,2 ± 661,2	-

Tabela 14: Análise da correlação entre contagem de UFC/ml e contagem categorizada de linfócitos T4 (cels/ml) nos pacientes acompanhados longitudinalmente (n=93). Foi realizado o teste de K-W.

	UFC (Média±DP)			
	n	MD±DP	Mediana	p
Linfócito T4				
0-200	18	802,8 ± 894,6	344	0,06
201-400	47	577,0 ± 1116,2	242	0,13
>400	28	617,0 ± 971,1	190	0,93

A avaliação longitudinal por meio da análise univariada, realizada com todas as variáveis anteriormente citadas, mostrou correlação estatisticamente significativa para o estado civil viúvo e casado ($p=0,0001$ e $p=0,036$), uso do medicamento bactrim® ($p=0,000$), contagem de glóbulos brancos ($p=0,009$), e dosagem de TGO e TGP ($p=0,017$ e $p=0,0068$ respectivamente). As demais variáveis não mostraram correlação estatisticamente significativa com as contagens de UFC/ml, como pode ser visto na tabela 15 abaixo.

Tabela 15: Resultados significativos da análise univariada utilizando o método das EEG e modelando para a ausência de leveduras (n=41).

Variável	p
Instrução primária	0.0806
Estado civil casado	0.0366
Estado civil viúvo	0.0001
Estadiamento CDC A2	0.0152
Uso de BACTRIM®	0.0000
Leucoplasia pilosa	0.0081
Contagem de glóbulos brancos	0.0099
Nível de dosagem de TGO	0.0174
Nível de dosagem de TGP	0.0068

Após a análise longitudinal multivariada das variáveis que mostraram influenciar a contagem de UFC/ml na análise univariada, apenas a contagem de glóbulos brancos apresentou relação inversa e o nível de TGP apresentou correlação direta com a UFC/ml de saliva total não estimulada como pode ser visto na tabela 16. Algumas variáveis não puderam ser utilizadas para compor o modelo, pois não apresentaram frequência em todos os níveis da variável resposta. Foram elas a história de etilismo, o uso de indinavir, o propranolol, pentamidina, antifúngicos, a presença de candidose pseudomembranosa, despilação lingual acentuada, glossite romboidal mediana e queilite angular.

Tabela 16: Parâmetros estimados no modelo final pelo método das EEG modelando para ausência de leveduras (n=41).

Parâmetro	estimativa	p - valor
Contagem de glóbulos brancos	-0.0004	0.0119
Nível de dosagem de TGP	0.0299	0.0269

Obs.: As demais variáveis não foram significativas.

A tabela 17 mostra, de forma bastante clara, que houve associação entre o número de lesões bucais detectado clinicamente e a contagem de UFC/ml. O maior número de lesões correspondeu a maiores contagens de UFC/ml na saliva total não estimulada. A candidose eritematosa isoladamente também estava associada a maiores contagens de UFC/ml de saliva, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 17: Distribuição medianas de contagem de UFC/ml em função do número de manifestações bucais, por visita, onde n = número de pacientes, nenhuma¹ = não apresenta nenhuma doença, outras² = apresenta outra manifestação bucal com exceção de candidose eritematosa, canderi.³ = apresenta apenas candidose eritematosa, canderi+Outras⁴ = apresenta associação de candidose eritematosa e de outras manifestações bucais.

Visita	nenhuma ¹		outras ²		Canderi ³		Canderi+Outras ⁴	
	n	mediana	n	mediana	n	mediana	n	mediana
1	40	24,5	26	49,0	8	765,5	19	1948,0
2	46	16,5	15	154,0	10	895,0	22	1390,0
3	41	15,0	26	74,5	4	837,5	22	1517,0
4	47	5,0	25	146,0	4	740,0	17	945,0
5	51	16,0	22	68,0	5	670,0	15	1150,0
6	48	28,0	23	77,0	9	495,0	13	720,0
7	52	37,0	24	97,5	5	462,0	12	1623,5
8	50	30,0	26	91,0	6	480,0	11	967,0

Teste de Kruskal-Wallis: significativo para todas as visitas p=0,0001

Na análise longitudinal, a variável estado civil e o uso de bactrim® apresentaram correlação significativa com contagens de UFC/ml. Pacientes solteiros ou usando bactrim® mostraram contagens superiores quando comparadas aos demais (Gráficos 9 e 10).

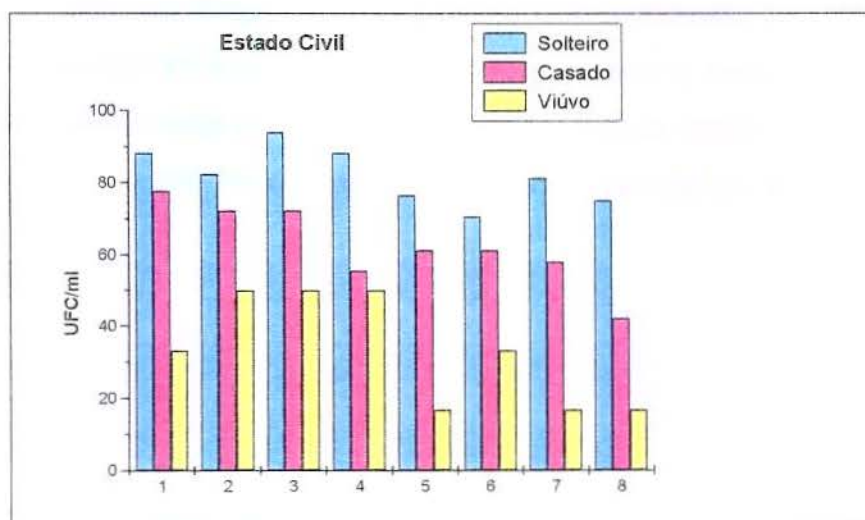


Gráfico 9: Distribuição das contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada ao longo das 8 visitas segundo estado civil.

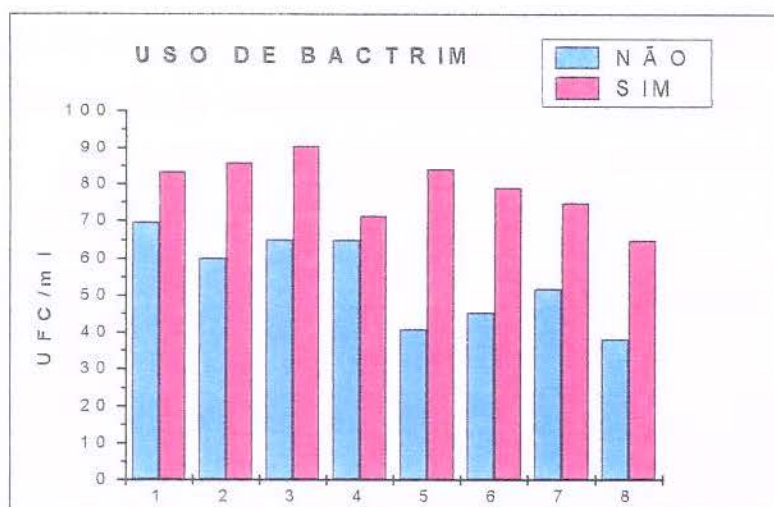


Gráfico 10: Distribuição das contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada ao longo das 8 visitas segundo o uso ou não de bactrim®.

Na análise longitudinal, a presença da leucoplasia pilosa apresentou correlação significativa e positiva com as contagens de UFC/ml. (Gráfico 11).

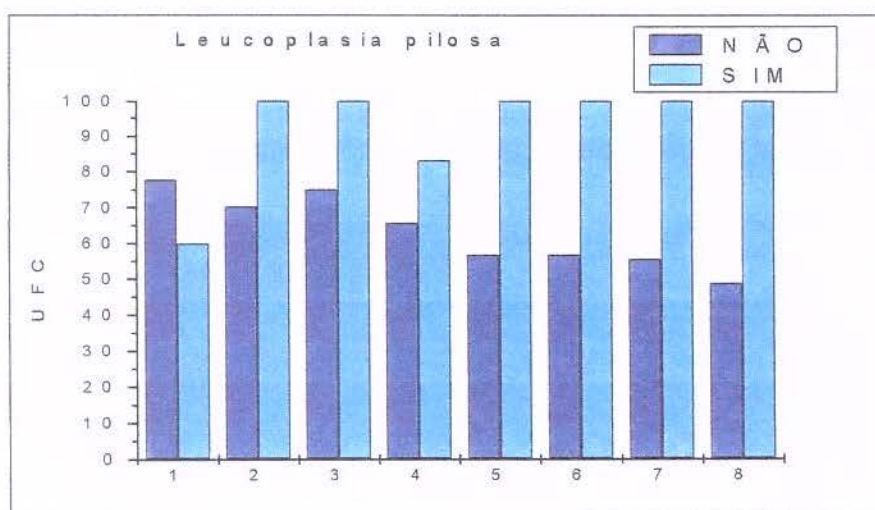


Gráfico 11: Distribuição das contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada ao longo do tempo nas 8 visitas segundo a presença ou não de leucoplasia pilosa

Na análise longitudinal, a presença de candidose eritematosa bucal e da leucoplasia

pilosa apresentaram correlação significativa com contagens de UFC/ml de saliva total. Pacientes com estas lesões mostraram contagens significativamente maiores que os demais, mas reduzindo-se com o passar das visitas (gráfico 12).

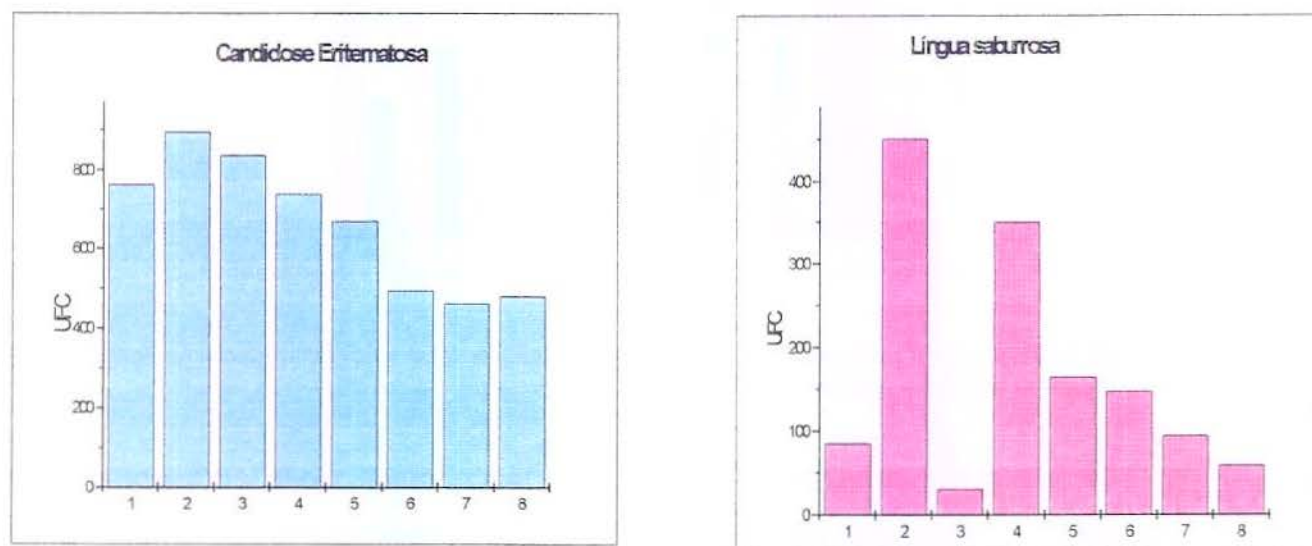


Gráfico 12: Distribuição das contagens de UFC/ml de saliva total não estimulada ao longo do tempo nas 8 visitas segundo a presença ou não de candidose eritematosa e de língua saburrosa.

Na análise longitudinal, a contagem de glóbulos brancos apresentou correlação significativa e negativa a positividade para *Candida*, como pode ser visto no gráfico 13.

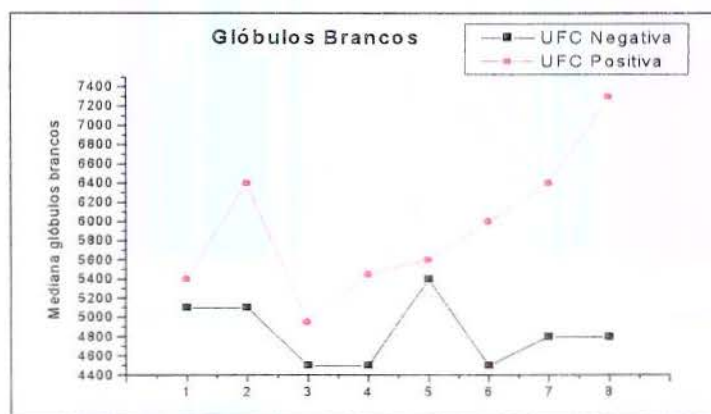


Gráfico 13: Positividade ou negatividade para *Candida* na saliva total não estimulada ao longo das 8 visitas, segundo contagem de glóbulos brancos.

Na análise longitudinal, as dosagens de TGO e TGP apresentaram correlação significativa com a presença de *Candida*, como pode ser visualizado abaixo no gráfico 14.

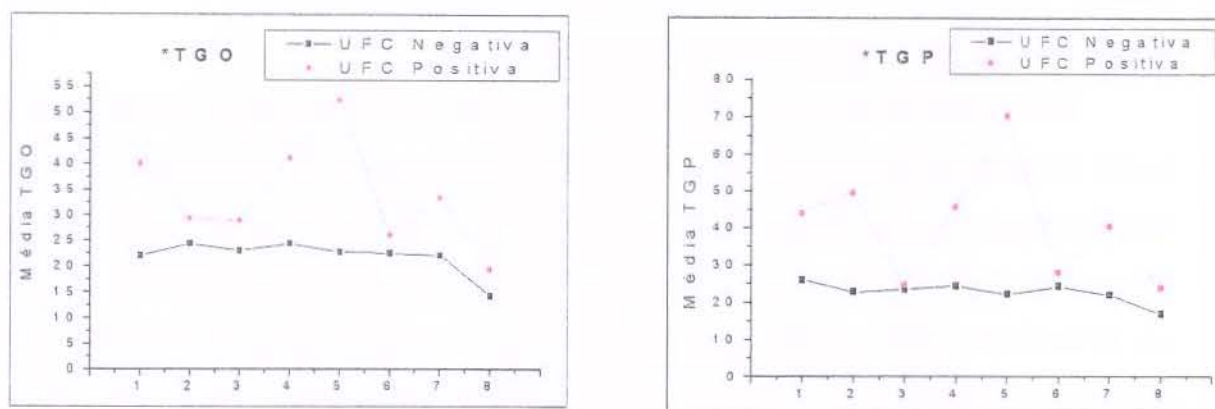


Gráfico 14: Positividade ou negatividade para *Candida* na saliva total não estimulada ao longo do tempo nas 8 visitas segundo os níveis de TGO e TGP.

DISCUSSÃO

O relato da prevalência de lesões bucais em pacientes HIV positivo é muito variado na literatura, dependendo do estágio clínico do paciente, do comportamento de risco que ele apresenta e outros fatores tais como educação, raça, classe social e econômica e acesso aos cuidados de saúde, como apontado por CELLABOS et al. (1996).

A colonização por leveduras na cavidade bucal dos pacientes foi de 85,6% sendo elevada quando comparada com a população normal ou com pacientes hospitalizados não soropositivos para o HIV, variando usualmente entre 40% e 60%, valores descritos por SANGEORZAN et al. (1994) que encontrou 84% de colonização em sua casuística.

Durante a evolução natural da infecção pelo HIV ocorre uma progressiva imunodeficiência com várias infecções associadas e as manifestações clínicas tornam-se mais complexas e atípicas a medida que progride a doença. O grupo A2 da classificação do CDC, no presente estudo, mostrou contagens menores de UFC/ml quando comparada aos demais grupos, o que também foi referido por GREENSPAN (1990).

A candidose bucal foi encontrada em 32% dos pacientes, prevalência semelhante aos resultados encontrados por PORTER et al. em 1989 (36,3%), MONIACI et al. em 1990 (23,7%) e BARONE et al. em 1990 (31,3%). Já CELLABOS et al. em 1996 (65,7%),

LASKARIS et al. em 1992 (61%) e TUKUTUKU et al. em 1990 (94%) encontraram valores mais elevados. Estes resultados conflitantes refletem as diferenças da população em estudo, dos fatores de risco envolvidos, contagem de carga viral, de linfócitos CD4 e condições salivares, dificultando comparações.

Os níveis elevados de UFC/ml nos pacientes com história pregressa de candidose bucal indicam uma possível predisposição destes pacientes ao desenvolvimento desta manifestação bucal. História pregressa de candidose pode estar evidenciando imunodepressão grave ou outro fator que esteja influenciando as contagens de *Candida sp.* A história pregressa de candidose fortalece a hipótese de candidose eritematosa no diagnóstico diferencial de áreas avermelhadas da mucosa bucal em pacientes HIV positivo.

Os pacientes com relato de sensação de xerostomia e uso de prótese total apresentaram valores significativamente elevados de contagens de UFC/ml, respectivamente $p=0,001$ e $p=0,04$. Estes dados estão de acordo com CHALLOMBE et al. (1997), BERNARDIS et al. (1998) e PIETRELLA et al. (1998) que sugerem que pacientes portadores do HIV apresentam comprometimento do fluxo salivar e da imunidade local, havendo alterações dos fatores locais relacionados a saliva e nichos de aderência importantes para colonização e proliferação por *Candida*.

Na avaliação transversal deste estudo, a contagem de UFC/ml na saliva dos pacientes que apresentavam candidose eritematosa ($1644,5 \pm 1835,8$ UFC/ml), foi significativamente maior ($p=0,0001$) do que naqueles que não apresentaram esta manifestação oral ($178,3 \pm 361,6$ UFC/ml), o que também foi comprovado no estudo realizado por TEANPAISAN et al. (1998) e por POWDERLY et al. (1992). Ambos apontaram a candidose eritematosa como importante preditor da progressão da infecção pelo HIV, refletindo a deterioração do sistema imune. Também foram obtidas evidências estatísticas da correlação entre a contagem de UFC/ml e outras manifestações bucais como a candidose pseudomembranosa ($p=0,0001$), despapilação lingual acentuada ($p=0,003$), língua saburrosa ($p=0,02$) e queilite angular ($p=0,001$).

A utilização de inibidores de protease HIV esteve associada à redução das

contagens de UFC/ml. Pacientes que não estavam utilizando o medicamento, apresentaram contagens de $2478,0 \pm 797,0$ UFC/ml, enquanto pacientes usuários do indinavir apresentaram contagens de $1505,8 \pm 1770,5$ ($p = 0,02$). Um importante fator de virulência da *Candida albicans* é a secreção da protease aspartática, que é da mesma classe de proteases da protease – HIV, talvez explicando o efeito do indinavir na inibição direta da secreção das proteases das leveduras como descrito por RAO et al. (1998).

Dentre as informações da história pregressa de doenças oportunistas, o relato de herpes zoster estava associado a níveis elevados de contagem UFC/ml ($1452,0 \pm 1163,0$) para o grupo categorizado em positivo, sugerindo que a história médica do paciente pode auxiliar na determinação do estágio e curso da doença o que também foi descrito por SHEARER et al. (1995).

A correlação estatisticamente significativa, demonstrada entre as contagens de UFC/ml e as taxas de hematócrito, indica que alterações hematológicas deste nível provavelmente estão associadas a co-fatores de imunidade, variações individuais e efeitos de medicamentos, todos incluídos num quadro sistêmico complexo (SHEARER et al. 1995).

Foi notada correlação significativa entre as dosagens de TGO e TGP e a contagem de UFC/ml, tanto na análise transversal como na longitudinal. Talvez essa correlação seja devida a provável ligação entre os efeitos de medicamentos que afetam as funções hepáticas com a elevação das contagens UFC/ml ou outros mecanismos ainda não esclarecidos, mas que merecem estudos específicos.

Neste estudo, a densidade de colonização por *Candida* não apresentou correlação com os principais marcadores de imunidade como linfócitos CD4, linfócitos CD8 e carga viral, de forma similar ao encontrado por BERGBRANT et al. (1997). TYLENDÁ et al. (1989) também não encontram correlação significativa entre densidade de leveduras e contagem de linfócitos CD4 e CD8. DRONDA et al. (1992) obteve resultados opostos, possivelmente por incluir pacientes com diferentes níveis de contagens das células de defesa. O estado imunológico relativamente preservado dos pacientes desse estudo explica, ao menos em parte, a divergência com parte da literatura.

Na análise longitudinal, os pacientes solteiros apresentaram contagens significativamente maiores que os demais, o que talvez possa ser explicado pelo aumento da possibilidade de transmissão de leveduras via contato íntimo com maior número de parceiros como relatado por MIYASAKI et al. (1992).

O uso de antimicrobianos é descrito em numerosos trabalhos como fator predisponente na colonização por *Candida* (FOTOS et al. 1992). Na casuística estudada, o uso do bactrim® foi uma das principais e mais freqüentes condutas terapêuticas profiláticas para pneumocistose na infecção pelo HIV. Foi possível observar, ao longo do acompanhamento longitudinal, a presença de contagens de UFC/ml superiores no grupo que faz uso do medicamento, embora as contagens não apresentassem valores elevados.

As manifestações bucais apresentadas pelos pacientes HIV positivo ao longo desta epidemia mostraram comportamentos variados por influências multifatoriais que incluem fatores associados a etiopatogenia da doença, resposta imune do hospedeiro, intervenções antiretrovirais, ações profiláticas e inúmeros co-fatores de difícil avaliação. Os resultados da análise longitudinal mostraram relação direta e significativa da candidose eritematosa com as contagens UFC/ml, havendo tendência a redução das contagens de UFC/ml com o passar do tempo, o que pode ter sido causado por fatores como o aumento da higiene oral durante o período de acompanhamento ou pelo maior tempo de uso de antiretroviral e conseqüente melhoria da imunidade.

Outras manifestações bucais mostraram influência estatisticamente significativa, como a despapilação lingual acentuada ($p=0,003$) e a língua saburrosa ($p=0,02$). Quando foi analisada a associação de candidose eritematosa ($p=0,0001$) e as demais manifestações bucais ficou evidente a elevação das contagens quando mais de uma lesão da mucosa bucal estava presente.

Para os parâmetros de imunidade não foi observado resultado significativo provavelmente pela casuística estudada apresentar predominância dos grupos com contagem de linfócito T4 de 200-400 e >400 cels/ml e carga viral entre 500 e 5000 cópias detectadas, embora tenha havido uma tendência a elevação das contagens de UFC/ml com o comprometimento dos parâmetros de imunidade. HAMILTON et al. (1992) não

observaram correlação entre manifestação bucal de candidose e contagem de linfócitos CD4, de forma similar aos resultados encontrados neste estudo. Além disso, as contagens de glóbulos brancos apresentaram correlação negativa e significativa ($p=0,000,4$) com as contagens de UFC/ml.

A distribuição das espécies de leveduras identificadas foi similar ao encontrado em estudo recente, onde houve prevalência de 64% de *C.albicans*, 16% de *C.glabrata* e 8% de *C.krusei* (TYLENDÁ et al. 1989). STENDERUP (1990) descreveu em seu trabalho prevalência elevadas para *C.albicans* (69,6%), *C.tropicalis* (6,9%) e *C.glabrata* (6,6%). No presente trabalho, *C.albicans* foi isolada em 75,8% dos pacientes avaliados e 24,2% apresentaram outras espécies de *Candida*. Dentre estas, a presença de *C.tropicalis* (7,0%), *C.kefyr* (3,8%), *C.glabrata* (3,8%) e *C.krusei* (3,8%), estavam de acordo com os trabalhos anteriores na literatura. A presença simultânea de duas espécies de levedura foi observada nos pacientes, em geral associando uma amostra de *C.albicans* com outra espécie, como por exemplo nas combinações abaixo, as mais comuns: *C.albicans* + *C.tropicalis* (6 casos), *C.albicans* + *C.kefyr* (6 casos) e *C.krusei* + *Candida sp* (6 casos).

Até recentemente, algumas espécies como *C.glabrata* e *C.kefyr* eram consideradas fungos comensais relativamente inofensivos ao ser humano. Entretanto com o uso de agentes imunossupressores e com a epidemia de AIDS, a infecção sistêmica ou da cavidade bucal por estas espécies tornou-se possível e, às vezes, comum. Especialmente em populações infectadas pelo HIV, houve aumento do número de pacientes infectados por *Candida* de espécies não *albicans*. As amostras analisadas neste estudo sugerem uma possível participação de espécies de *Candida* diferentes da *albicans* na etiopatogenia das candidoses bucais. Apesar de apresentarem contagens médias abaixo das contagens de *C.albicans*, em alguns casos como a *C.glabrata*, apresentaram contagens de UFC/ml elevadas. FIDEL et al. (1999) também consideraram esta possibilidade e DONDRA et al. (1996) observaram menor sensibilidade a agentes antifúngicos por parte dessas espécies pouco comuns. SWEET et al. (1997) sugerem que em fases iniciais do curso da infecção pelo HIV, ocorre uma possível seleção de cepas de *C.albicans* com propriedades de aderência alterada, antes mesmo que os sintomas da

imunodeficiência sejam evidentes e antes que ocorram seqüelas por infecções oportunistas e em consequência dos regimes de tratamento.

Particularmente o parâmetro de quantificação de UFC/ml para *Candida* mostrou correlação com alguns parâmetros sistêmicos e locais, sugerindo portanto que o acompanhamento das condições orais e sistêmicas deve ser iniciado nos primeiros momentos da infecção pelo HIV.

CONCLUSÕES

- 1- Foi evidenciada correlação ($p=0,06$) entre as contagens de UFC/ml de *Candida* na saliva total e os parâmetros imunológicos de Linfócitos T4 analisados neste estudo.
- 2- Houve correlação estatisticamente significativa entre a contagem de UFC/ml de *Candida* na saliva total e o uso de Trimetoprima-Sulfametoxazol, com o uso do antiretroviral Indinavir, com a contagem de glóbulos brancos e com as dosagens de TGO e TGP.
- 3- O número aumentado de lesões presentes ao exame bucal, quando considerado em grupo ou em combinações específicas com a candidose eritematosa, mostrou correlação estatisticamente positiva e significativa com a contagem de UFC/ml de *Candida* na saliva total.
- 4- As contagens de UFC/ml para *C. albicans* foram significativamente maiores que as contagens de outras espécies de *Candida*, embora as contagens médias de UFC/ml destas não tenham sido elevadas.
- 5- A análise longitudinal permitiu avaliar a influência das variáveis em questão de forma mais criteriosa que a análise transversal, sugerindo que esta abordagem possa ser adotada futuramente para refinar o entendimento da ecologia das leveduras bucais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ALCABES P, SELWYN PA, DAVENNY K et al. Laboratory markers and the risk of development HIV-1 disease among injecting drug users. *AIDS* 1994; 8:107-115.
- ALLEN CM. Diagnosing and managing oral candidiasis. *J Am Dent Assoc* 1992; 123:77-82.
- ARENDORF TM, WALKER DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil* 1987; 14:217-27.
- ARENDORF TM, WALKER DM. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* 1980; 25:1-10.
- ARENDORF TM, WALKER DM. Tobacco smoking and denture wearing as aetiological factors in median rhomboid glossitis. *Int J Oral Surg* 1984; 13:411-5.
- ASHMAN RB, PAPADIMITRIOU JM. What's new in the mechanism of host resistance to *Candida albicans* infection?. *Pathol Res Pract* 1990; 186:527-34.
- AXÉLL T. Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. *J Oral Pathol Med* 1993; 22:289-91.
- AXÉLL T. A prevalence study of oral mucosal lesions in an adult Swedish population. *Odont Revy* 1976; 27(suppl):1-103.
- BÁNÓCZY J, RIGÓ O, ALBRECHT M. Prevalence study of tongue lesions in a Hungarian population sample. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993; 21:224-6.
- BARONE R et al. Prevalence of oral lesions among HIV-infected intravenous group abusers and other risk groups. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69:169-73.
- BASTIAAN RJ, READE PC. The prevalence of *Candida albicans* in the mouths of tobacco smokers with and without oral mucous membrane keratoses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53:148-51.
- BAUGARTNER C, FREYDIERE AN and GILLE Y. Direct identification and recognition of Yeast species from clinical material by using Albicans ID and CHROMagar Candida plates. *J Clin Microbiol*. 1996; 34:454-456.
- BEGG MD, PANAGEAS KS. Oral lesions as makers of severe immunosuppression in HIV-infected homosexual men and injection drug users. *Oral Surg Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82:276-83.
- BEIGHTON D et al. Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeast's from dental samples. *J Clin Microbiol*. 1995;33:3025-27.
- BERGBRANT IM, FAERGEMANN J et al. Quantitative cultures of *Candida* from mouthwash fluid in HIV-infected patients: a longitudinal study. *Mycoses* 1997; 40 (9-10):377-80.
- BERNARDIS F, CASSONE A, FONZI W. The pH of the host niche controls gene expression in and virulence of *Candida albicans*. *Infection and Immunity* 1998; 66 (7):3317-25.
- BUDTZ-JØRGENSEN E, KNUDSEN AM. Chlorhexidine gel and Steradent® employed in cleaning dentures. *Acta Odontol Scand* 1978; 36:83-7.
- BUDTZ-JØRGENSEN E, LÖE H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. *Scand J Dent Res* 1972; 80:457-64.
- BUDTZ-JØRGENSEN E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990b; 48:61-9.

- BUDTZ-JÖRGENSEN E. Histopathology, Immunology, and serology of oral yeast infections. Diagnosis of oral candidosis. *Acta Odontol Scand* 1990a; 48:37-43.
- CANNON RD, HOLMES AR, MASON AB, MONK BC. Oral *Candida*: Clearance, colonization, or candidiasis? *J Dent Res* 1995; 74:1152-61.
- CELLABOS A, AGUIRRE JM et al. Oral Manifestations associated with HIV infections in a Spanish population. *J Oral Pathol Med* 1996; 25:523-6.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR* 1993; 41:1-19.
- CHALLOMBE SJ, SWEET SP. Salivary and mucosal immune responses to HIV and its co-pathogens. *Oral Dis* 1997; 3(suply 1):579-84.
- COLEMAN DC, BENNETT DE, SULLIVAN DJ et al. Oral *Candida sp* in HIV infection and AIDS: new perspectives new approaches. *Crit Rev Microbiol*. 1993;19:61-82.
- DRONDA F, ALONSO-SANZ M, LAGUNA F et al. Mixed oropharyngeal candidiasis due to *C.albicans* and non *albicans* strains in HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15(6):446-52.
- EPSTEIN JB. Antifungal therapy in oropharyngeal mycotic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69:32-41.
- FELIX DH, WRAY D. The prevalence of oral candidiasis in HIV-infected individuals and dental attenders in Eddinburg. *J Oral Pathol Med* 1993; 22:418-20.
- FETTER A, PARTISANI M, KOENIG H, KREMER M, LANG JM. Assyntomatic oral *Candida albicans* carriage in HIV-infection: Frequency and predisposing factors. *J Oral Pathol Med* 1993; 22:57-9.
- FIDEL PL, VAZQUEZ JA, SOBEL JD. *C.glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clinical Microbiol Ver* 1999, 12(1):80-96.
- FOTOS PG, HELLSTEIN JW, VINCENT SD. Oral candidosis revisited. *Gen Dent* 1991; 39:422-30.
- FOTOS PG, VINCENT SD, HELLSTEIN JW. Oral candidosis. Clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74:41-9.
- FOX PC, BUSCH KA, BAUM BJ. Subjective reports of xerostomia and objective measures of salivary gland performance. *J Am Dent Assoc* 1987; 115; 581-4.
- FRANKER CK, LUCARTORTO FM, JOHNSON BS, JACOBSON JJ. Characterization of the microflora from oral mucosal surfaces of some HIV-infected patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69:683-7.
- GILLESPIE G, MARIÑO R. Oral manifestations of the human immunodeficiency virus infection: a Panamerican perspective. *J Oral Pathol Med* 1993; 22:2-7.
- GREENSPAN D. Treatment of oral candidiasis in HIV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78:211-5.
- HAMILTON JN, THOMPSON SH. Correlation of subclinical candidal colonization of the dorsal tongue surface with the Walter Reed staging scheme for patients infected with HIV-1. *Oral Surg Oral Pathol* 1992; 73(1): 47-51.
- HOLMSTRUP P, AXÉLL T. Classification and clinical manifestations of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990; 48:57-9.

- HOLMSTRUP P, BESSERMANN M. Clinical, therapeutic, and pathogenic aspects of chronic oral multifocal candidiasis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 56:388-95.
- JORGE AOC, TOTTI MAG, ALMEIDA OP, SCULLY C. Oral candidiasis established in the sialoadenectomised rat. *J Oral Pathol Med* 1993; 54-6.
- KOLNICK JR. Oral candidosis. Report of case implication *Candida parapsilosis* as a pathogen. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 50:411-5.
- KÖNSBERG R, AXÉLL T. Treatment of *Candida*-infected denture stomatitis with a miconazole lacquers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78:306-11.
- KROGH P. The role of yeast's in oral cancer by means of endogenous nitrosation. *Acta Odontol Scand* 1990; 48:85-8.
- LASKARIS G et al. Oral signs and symptoms in 160 Greek HIV infected patients. *J Oral Pathol Med* 1992;21:120-31.
- LIANG K, ZEGER SL. Longitudinal data analysis generalized linear models. Biometrika (73), 1986. p. 13-22.
- LIFSON AR, HILTON JR, WESTENHOUSE JL et al. Time from HIV seroconversion to oral candidiasis or hairy leukoplakia among homosexual and bisexual men enrolled in three prospective cohorts. *AIDS* 1994; 8:73-9.
- MacFARLANE TW, HELNARSKA SJ. The microbiology of angular cheilitis. *Br Dent J* 1976; 140:403-6.
- MacFARLANE TW, SAMARANAYAKE LP. *Clinical oral microbiology*. London: Wrigth 1989.
- MIYASAKI SH, HICKS JB et al. The identification and tracking of *Candida albicans* isolates from oral lesions in HIV-seropositive individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1992 5(10):1039-46.
- MONIACI D et al. Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. *J Oral Pathol Med* 1990; 19:477-81.
- MONIACI D, GRECO D, FLECCHIA G. Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. *J Oral Pathol Med* 1990; 19:477-81.
- NÄRHI TO, AINAMO A, MEURMAN JH. Salivary yeast, saliva, and oral mucosa in the elderly. *J Dent Res* 1993; 72:1009-14.
- NÄRHI TO, TENOVUO J, AINAMO A, VILJA P. Antimicrobial factors, sialic acid, and protein concentration in whole saliva of the elderly. *Scan J Dent Res* 1994; 102:120-5.
- ODDEN K, SHECK K, KOPPANG HS, HURLEN B. Candidal Infection of the gingiva in HIV-infected persons. *J Oral Pathol Med* 1994; 23:178-183.
- ODDS FC. Ecology and epidemiology of *Candida* species. *Zbl Bakt Hyg A* 1984; 257:207-12.
- ODDS, FC and BERNAERTS R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* sp. *J Clin Microbiol*. 1994; 32:1923-1929.
- ÖHMAN S-C, JONTELL M. Treatment of angular cheilitis. *Acta Odontol Scand* . 1988; 46:267-72.
- OKSALA E. Factors predisposing to oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990;

- 48:71-4.
- OLSEN I, STENDERUP A. Clinical-mycological diagnosis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990; 48:11-8.
- PARVINEN T, LARMAS M. The relation of stimulated salivary flow rate and pH to lactobacillus and yeast concentrations in saliva. *J Dent Res* 1981; 60:1929-35.
- PFALLER MA et al. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* and *C. glabrata*. *J Clin Microbiol*. 1996; 34:58-61.
- PHILIP CF. Saliva and salivary gland alterations in HIV infection. *JADA* 1991; 122:46-8.
- PIETRELLA D, MONARI D, RETINI C et al. HIV-type I envelope protein gp 120 impairs intracellular antifungal mechanisms in human monocytes. *J Infect Dis* 1998; 177(2):347-54.
- PINDBORG JJ. *Atlas of diseases of the oral mucosa*. Copenhagen: Munksgaard, 1993, 397.
- PORTER SR, LUKER J, SCULLY C et al. Orofacial Manifestation of a group of British patients infected with HIV-1. *Oral Pathol Med* 1989; 18:47-8.
- POWDERLY WG, KEATH EJ et al. Molecular typing of *C. albicans* isolated from oral lesions of HIV-infected individuals. *AIDS* 1992; 6: 81-84.
- POWDERLY WG, ROBINSON K, KEATH EJ. Molecular epidemiology of recurrent oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive patients: Evidence of patterns of recurrence. *J Infect Dis* 1993; 168:463-6.
- RAMÍREZ-AMADOR VA, ESQUIVEL-PEDRAZA L. Prognostic value of oral candidosis and hairy leukoplakia in 111 Mexican HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med* 1996; 25:206-11.
- RAO et al. Molecular and Biotechnological Biology Aspects of Microbial Proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1998, 62(3):597-605.
- REICHL RB. Oral candidiasis: An old disease of growing concern. *Gen Dent* 1990; 38:114-20.
- ROTROSEN D, CALDERONE RA, EDWARDS JF. Adherence of *Candida* species to host tissues and plastic surfaces. *Reviews of Infect Diseases* 1986; 8:73-83.
- RUSSELL C, LAY KM. Natural history of *Candida* species and yeast's in the oral cavities of infants. *Arch Oral Biol* 1973; 18:957-62.
- SAMARANAYAKE LP, HOLMSTRUP P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. *J Oral Pathol Med* 1989; 18:554-64.
- SAMARANAYAKE LP, HUGHES A, WEETMAN DA, MacFARLANE TW. Growth and acid production of *Candida* species in human saliva supplemented with glucose. *J Oral Pathol* 1986; 15:251-4.
- SAMARANAYAKE LP, MacFARLANE TW. *Oral candidosis*. Cambridge: Wright, 1990; 265.
- SAMARANAYAKE LP. Nutritional factors and oral candidosis. *J Oral Pathol* 1986; 15:61-5.
- SANDVÉN P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. *Acta Odontol Scand* 1990; 48:27-36.
- SANGEORZAN JA, BRADDLEY SF, HE Y, ZARINS LT. Epidemiology of Oral Candidiasis

- in HIV-Infected Patients: Colonization, Infection, Treatment and Emergence of Fluconazole Resistance. *Am J Med* 1994; 97:339-46.
- SAS Institute Inc. SAS/STAT - Software Changes and Enhancements. Release 6.11, 1986.
- SCHEININ A, PIENIHÄKKINEN K, TIEKSO, HOLMBERG S. Multifactorial modeling for root caries prediction. *Community Dent Oral Epidemiol* 1992; 20:35-7.
- SHEARER BG, RUBIN MS. Dental management of the HIV-infected patient. *JADA* 1995; 126(12):10-19.
- SHEPHERD MG. The pathogenesis and host defense mechanisms of oral candidosis. *N Z Dent J* 1986; 82:78-81.
- SILVERMAN S, KAUGARS GE, GALLO JW. Clinical characteristics and management responses in 85 HIV-infected patients with oral candidiasis. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82:402-7.
- SCHUFFENECKER I, FREYDIERE AM et al. Evaluation of four commercial systems for identification of medically important yeasts. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1993;12:255-260.
- SKOGLUND A, SUNZEL B, LERNER UH. Comparison of three test methods used for the diagnosis of candidiasis. *Scand J Dent Res* 1994; 102:295-8.
- SLUTSKY B, BUFFO J, SOLL DR. High-frequency switching of colony morphology in *Candida albicans*. *Science* 1985; 230:666-9.
- STENDERUP A. Oral mycology *Acta Odontol Scand* 1990; 48:3-10.
- SWEET SP et al. Selection and pathogenicity of *C. albicans* in HIV infection. *Oral Dis* 1997 (3) Suppl I : S88-95.
- TEANPAISAN R, NITTAYANANTA W et al. Prevalence of *Candida sp* in Aids patients and HIV-free subjects in Thailand. *J Oral Pathol Med* 1998 ; 27 (1):4-7.
- TUKUTUKU K et al. Prevalence of dental caries, gingivitis and oral hygiene in hospitalized AIDS cases in Kinshasa, Zaire. *J Oral Pathol Med* 1990; 19:271-2.
- TYLEND CA, LARSEN J, YEY CK, LANE HC, FOX PC. High levels of oral yeasts in early HIV-1 infection. *J Oral Pathol Med* 1989; 18:520-24.
- UETA E, OSAKI T, YONEDA K, YAMAMOTO T. Prevalence of diabetes mellitus in odontogenic infections and oral candidiasis: an analysis of neutrophil suppression. *J Oral Pathol Med* 1993; 22:168-74.
- WILLIAMSON JJ. A study of extent of variation in daily counts of *Candida albicans* in saliva. *Austr Dent J* 1972a; 17:106-9.
- WILLIAMSON JJ. Diurnal variation of *Candida albicans* counts in saliva. *Austr Dent J* 1972b; 17:54-60.
- WRAY D, FELIX DH, AIMMING CG. Alteration of humoral responses to *Candida* in HIV infection. *Br Dent J* 1990; 168:326-9.
- ZEGARELLI DJ. Fungal infections of the oral cavity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26:1069-89.
- ZEGER SL, LIANG K. Longitudinal data analysis generalized linear models. *Biometrics*. (42), 1986. p. 121-130.

ANEXO 1

TERMO DE INFORMAÇÃO E CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA CLÍNICA

TÍTULO: Quantificação e Identificação de *Candida sp* em saliva total de pacientes HIV positivos.

PESQUISADORES: Nadja Rodrigues de Melo e Jacks Jorge Jr. - Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP) - UNICAMP

LOCAL: FOP e Grupo de Pesquisa em DST (GPD) - UNICAMP

1. INTRODUÇÃO: As informações a seguir descreverão esta pesquisa e o papel que você terá como participante. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo responderão a quaisquer perguntas que você possa ter sobre este termo e sobre o estudo. Por favor, leia-o cuidadosamente, e não hesite em perguntar qualquer coisa sobre as informações abaixo.

2. PROPÓSITO: Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica cujo objetivo é determinar os fatores locais e sistêmicos em pacientes HIV+, associados a presença de diferentes espécies de *Candida* na saliva, assim como a quantidade, permitindo uma provável identificação dos pacientes mais predispostos ao desenvolvimento de candidose, facilitando a prevenção e tratamento desta freqüente infecção. Para você decidir se deseja ou não participar deste estudo de pesquisa, você deve entender o suficiente para fazer uma decisão consciente. Este processo é conhecido como consentimento informado.

3. RETROSPECTIVA: Candidose bucal e faríngea é a infecção oportunista mais comum em pacientes HIV+. Embora a candidose bucal não seja uma condição que *per se* defina o estado do paciente HIV+, ela reflete uma queda do sistema imune e o agravamento da doença. Candidose pode apresentar-se como uma lesão vermelha ou branca evidente e pode causar importante desconforto bucal. O portador assintomático do HIV pode ser cultura positiva para *Candida*, ainda que não apresente sinais clínicos e sintomas da infecção. Em indivíduos imunocomprometidos a candidose bucal pode conduzir a envolvimento extensivo e infecção sistêmica resultando até em morte. Devido a importância e prevalência da candidose, o diagnóstico e o controle da infecção são essenciais.

4. DESCRIÇÃO DO ESTUDO: Irão participar deste estudo, aproximadamente 100 pacientes, que estão sendo acompanhados pelo Grupo de Pesquisa em DST (GPD) da UNICAMP. Os pacientes que concordarem participar da pesquisa foram examinados clinicamente, entrevistados e foram coletadas amostras de saliva total. As coletas e exames foram realizados mensalmente, por um ano, durante as visitas de rotina ao GPD, não interferindo nos atendimentos médicos e não exigindo visitas adicionais. Cada coleta de saliva total durará cerca de 5 minutos e o método de coleta utilizado não é invasivo e nem acarreta qualquer dor, risco, custo ou dano imediato ou tardio ao paciente. Outros métodos de coleta possíveis de saliva são mais desconfortáveis e demorados. Não foram realizadas intervenções terapêuticas durante o período de estudo, exceto as realizadas pela equipe médica.

5. DESCONFORTO, RISCOS E BENEFÍCIOS ESPERADOS: O método de coleta salivar utilizado e o exame clínico aos quais os participantes da pesquisa serão submetidos são atraumáticos, não invasivos e não acarretam qualquer dor, risco, custo ou dano imediato ou potencial ao participante. Por outro lado oferecem elevada possibilidade de gerar conhecimento para compreensão, diagnóstico, prevenção ou alívio desta infecção fúngica, que afeta o bem-estar e a sobrevivência dos participantes desta pesquisa e de outros indivíduos. Uma identificação precoce de pacientes predispostos ao desenvolvimento de candidose, através da correlação entre quantificação, identificação das espécies, manifestação oral e marcadores laboratoriais associados ao HIV, poderá permitir o diagnóstico em fases iniciais, possibilitando o tratamento e até mesmo a prevenção desta frequente infecção, resultando em benefício na qualidade de vida e sobrevivência dos participantes da pesquisa e de outros pacientes com perfil imunológico similar.

6. ALTERNATIVAS: Outros métodos possíveis de coleta salivar não permitiriam ou dificultariam sobremaneira a determinação do fluxo salivar, como por exemplo o uso do lavado bucal ou swab (cotonete), ou seriam mais desconfortáveis e dispendiosos, como por exemplo a coleta com aparelhos especialmente desenvolvidos para coletas de parótida ou pipetas.

7. EXCLUSÕES: Não há critérios de exclusão no grupo desta pesquisa. Eventuais exclusões foram realizadas pelo GPD, por razões relacionadas com o próprio protocolo de pesquisa MK-639.

8. COMPENSAÇÃO: Não existem danos imediatos ou futuros previsíveis decorrentes da pesquisa, e portanto a mesma não inclui a possibilidade de indenização, sendo esta prevista apenas no protocolo MK-639 e por razões exclusivas do mesmo, como já foi referido no item anterior.

9. CONFIDENCIALIDADE DOS REGISTROS: Você tem direito a privacidade e toda informação que for obtida em relação a este estudo permanecerá confidencial nos âmbitos possíveis da lei, assegurando proteção de sua imagem, sigilo e respeitando valores culturais, sociais, morais, religiosos e éticos. A menos que a revelação seja exigida por ação legal ou regulatória, todos os esforços foram feitos para protegê-lo de ser identificado pessoalmente. Como condição de sua participação nesta pesquisa, você permite acesso aos dados obtidos durante o estudo, aos pesquisadores envolvidos neste estudo, aos membros da Comissão de Ética responsáveis pela análise do projeto e a agência financiadora. Os resultados deste projeto de pesquisa poderão ser apresentados em congressos ou em publicações, porém sua identidade não foi divulgada nessas apresentações.

10. DIREITO em PARTICIPAR, RECUSAR ou SAIR: Ao participar, você concorda em cooperar com os procedimentos que foram executados e que foram descritos acima, não abrindo mão de seus direitos legais ao assinar o termo de consentimento informado. Sua participação neste estudo é voluntária e você poderá recusar-se a participar ou poderá interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda dos benefícios aos quais de outra forma tenha direito. O pesquisador tem o direito de desligá-lo do estudo a qualquer momento que julgar necessário. Se você sair voluntariamente ou for retirado pelo pesquisador, poderá ser solicitado que volte para eventuais coletas de amostras de saliva.

11. CONTATOS: Se ainda houver qualquer dúvida sobre o estudo você poderá receber mais esclarecimentos falando o Prof. Jacks Jorge por telefone (019) 430.5313, por e-mail admfp@turing.unicamp.br ou por carta: caixa postal 52, CEP 13414-018, Piracicaba - SP. Você poderá também discutir seus direitos como paciente de pesquisa com o presidente da Comissão de Ética da FOP/UNICAMP, o Prof. Antônio Bento de Moraes, pelo telefone (019) 430.5275.

CONSENTIMENTO DO PACIENTE

Li a descrição do estudo de pesquisa clínica, que foi explicado dentro da minha compreensão e também conversei sobre este estudo com o pesquisador até minha completa satisfação. Compreendo que minha participação é voluntária e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejudicar ou influenciar os resultados. Confirmo também que recebi cópia deste termo de consentimento.

Autorizo a liberação dos dados obtidos neste estudo aos pesquisadores, aos membros da comissão de ética e à comissão científica da FAPESP, assim como a publicação em revistas científicas especializadas e apresentação em congressos e jornadas científicas.

*Não assine este termo se não tiver tido a oportunidade de fazer perguntas e tiver recebido respostas satisfatórias a todas elas.

Assinatura do Paciente - Data ____ / ____ / 1998

ANEXO 2: MODELO DE FICHA COMPLETA UTILIZADA NA PRIMEIRA CONSULTA

AL: _____	DATA: ____/____/____	Número de laboratório: _____
Nome: _____	GPD _____	
Natural: _____ ()	Data Naso: ____/____/____ Idade(____)	Sexo M ☐ F ☐ Cor: B ☐ N ☐ P ☐ O ☐
Instrução: Sem ☐ Pri ☐ Sec ☐ Uni ☐	Est.Civil: Ca ☐ So ☐ Vi ☐ Ou ☐	CDC: A2 ☐ B2 ☐ B3 ☐ C3 ☐ Des ☐

HISTORIA ODONTOLOGICA - PRIMEIRA CONSULTA

SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Algum problema na boca? (queixa odontológica)
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Já sofreu doença bucal? Qual? _____
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Fuma? Há ____ anos. O quê? Cigarro ☐ Fumo de rolo ☐ Cachimbo ☐ outros ☐ Quantos maços por dia _____
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Ex-fumante? Parou de fumar há ____ anos.
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Bebe? Cerveja ☐ Pinga ☐ Vinhos ☐ Outros ☐ Tudo ☐ Quanto? _____ litros/dia
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Ex-etilista? Parou de beber há ____ anos.
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Escova os dentes/próteses? Vezes/dia _____? Aprendeu com: Família ☐ Dentista ☐ Outros ☐
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Usa dentadura? Superior ☐ Inferior ☐ Ambas ☐ Há quanto tempo? ____ anos. Qual a idade da PT que esta usando? ____ anos.
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Usa o dia todo?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Usa a noite?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Vai regularmente ao dentista? Quantas vezes por ano? ____ Última visita foi a ____ meses. Qual foi o motivo? _____
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Sente boca seca a noite ou ao despertar?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Sente boca seca durante o dia?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Costuma deixar copo d'água ao lado da cama?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Toma líquidos para ajudar a engolir a comida?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Sente a boca seca durante as refeições?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Sente dificuldade para engolir a comida?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Masca chicletes/balas para aliviar boca seca?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Acha que tem muita saliva?
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Acha que tem pouca saliva?

MEDICAÇÃO UTILIZADA:

SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Faz uso de medicamentos
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Toma medicação com supervisão médica
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Toma medicação com supervisão de enfermagem
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Toma medicação por conta própria
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Compra medicação por conta própria
SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SEI ☐	Só toma medicação fornecida pela instituição

	dose total diária		Datas (Dia/Mês/Ano)	
	dose	unidade	A partir de	Até
Medicamento 1:				
Medicamento 2:				
Medicamento 3:				
Medicamento 4:				

AVALIAÇÃO DA MUCOSA BUCAL - variações da normalidade e lesões

Afta menor	
Amígdala lingual hipertrófica	
Anquiloglossia	
Aumento inespecífico de glândula salivar	
Candidose eritematosa	
Candidose hipertrófica	
Candidose pseudomembranosa	
Despapilação lingual acentuada	
Despapilação lingual localizada	
Eritema gengival linear	
Estomatite úlcero-necrosante	
Gengivite úlcero-necrosante	
Glossite romboidal mediana	
Herpes simples recorrente	
Herpes zoster	
Hiperplasia fibrosa não associada a PT(fibroma)	
Infecção bacteriana a esclarecer	
Infecções fúngicas (exceto <i>Candida</i>)	
Leucoedema	
Leucoplasia pilosa	
Linfoma não-Hodgkin	
Língua fissurada	
Língua geográfica	
Língua pilosa	
Língua saburrosa	
Líquen plano	
Molusco contagioso	
Neuropatia do trigêmio	
Papiloma	
Parestesia	
Parotidite recorrente	
Periodontite Úlcero Necrosante	
Pigmentação exógena na mucosa bucal	
Pigmentação melânica (Addison/medicamento)	
Pigmentação melânica idiopática	
Pigmentação melânica racial	
Púrpura trombocitopênica	
Queilite actínica	
Queilite angular	
Queratose de rebordo	
Queratose reacional (traumática)	
Reações a drogas (inespecífica)	
Sarcoma de Kaposi	
Sinusite	
Tatuagem por amálgama	
Toro mandibular	
Toro palatino	
Úlcera inespecífica	
Úlcera inespecífica do HIV	
Úlcera por CMV	
Úlcerização traumática	
Xerostomia	

Categoria de Exposição

Prática sexual:

01. - homossexual ☐
02. - bissexual ☐
03. - heterossexual ☐
 múltiplos parceiros ☐
 parceiro único ☐
 Há quanto tempo _____
04. - ignorada ☐
05. - nenhuma ☐

Parcerias

06. - parceria sexual com transfundido ☐
07. - parceria sexual com hemofílico ☐
08. - parceria sexual com usuário de drogas EV ☐
09. - parceria sexual com bissexual ☐
10. - parceria sexual com heterossexual de múltiplos parceiros ☐
11. - parceria sexual com parceiro sabidamente HIV+/AIDS ☐
12. - outras ☐ Quais?

Outras:

- 13 - uso de drogas EV ☒
14 - hemofilia ☐
15 - transfusão de sangue e/ou derivados ☐
16 - ignorada ☐

Situação sorológica

HIV+ :	ELISA I	/	/	ELISA II	/	/
--------	---------	---	---	----------	---	---

Confirmatório: WBO / / IFI

Linfócitos e carga viral

Data	/	/	Contagem T4: _____ mm ³	A2 ☐	B2 ☐	C3 ☐
			Contagem T8: _____ mm ³		B3 ☐	
Data	/	/	Carga viral: _____ cópias/ml			

Outros exames complementares (data / /)

Glicemia: _____ mg%

Glóbulos Brancos:

Hematócrito:

Plaquetas: mm³

Protrombina:

TGO:

TGP: _____

Trombonlastina:

VHS:

Doenças oportunistas:

PROTOZOÁRIOS		FUNGOS		VÍRUS		BACTÉRIAS		NEOPLASIAS	
Criptosporidíase ☐		Histoplasmose ☐		Citomegalovírus ☐		Tb pulmonar ☐		Sarcoma de Kaposi ☐	
Pneumonia P. carinii ☐		Criptococose ☐		Herpes simples ☐		Tb ganglionar ☐		Carcinoma ☐	
Isosporíase ☐		Candidose Oral ☐		Herpes zoster ☐		Tb SNC ☐		Linfoma ☐	
Toxoplasmose ☐		Cand. Esofagiana ☐		Leucoplasia pilosa ☐		Micobactérias ☐			
outros ☐						outros ☐			
Coleta de saliva:		data / /		Saliva coletada:		ml/min		Horário : hs.	
Diluições realizadas (número de placas)				Pura ☐ ()		10 ⁻¹ ☐ ()		10 ⁻² ☐ ()	
Diluição avalizada		Pura ☐		10 ⁻¹ ☐		10 ⁻² ☐		10 ⁻³ ☐ ()	
Contagens		Placa 1:		Placa 2:		Total:		Média:	
Resultado:		UFC's/ml de saliva							

MODELO DA FICHA SIMPLIFICADA UTILIZADA APÓS A PRIMEIRA CONSULTA

AL: _____	DATA: ____/____/____	Número de laboratório: _____
Nome: _____	GPD _____	
Natural: _____ ()	Data Nasc.: ____/____/____	Idade() Sexo M ☐ F ☐ Cor: B ☐ N ☐ P ☐ O ☐
Instrução: Sem ☐ Pri ☐ Sec ☐ Uni ☐	Est.Civil: Ca ☐ So ☐ Vi ☐ Ou ☐	CDC: I ☐ II ☐ III ☐ IV ☐ Des ☐

	dose total diária		Datas (Dia/Mês/Ano)	
	dose	unidade	A partir de	Até
Medicamento 1:				
Medicamento 2:				
Medicamento 3:				
Medicamento 4:				
Medicamento 5:				
Medicamento 6:				
Medicamento 7:				
Medicamento 8:				
Medicamento 9:				
Medicamento 10:				

Linfócitos e carga viral	Critério do CDC		
Data ____/____/____ Contagem T4: _____ mm ³	G1 ☐	G4 - A ☐	G4 - C2 ☐
Contagem T8: _____ mm ³	G2 ☐	G4 - B ☐	G4 - D ☐
Data ____/____/____ Carga viral: _____ cópias/ml	G3 ☐	G4 - C1 ☐	

Outros exames complementares (data ____/____/____)

Glicemia: _____ mg%

Glóbulos Brancos: _____

Hematócrito: _____

Plaquetas: _____ mm³

Protrombina: _____

TGO: _____

TGP: _____

Tromboplastina: _____

VHS: _____

Doenças oportunistas:

PROTOZOÁRIOS	FUNGOS	VÍRUS	BACTÉRIAS	NEOPLASIAS
Criptosporidiose ☐	Histoplasmose ☐	Citomegalovírus ☐	Tb pulmonar ☐	Sarcoma de Kaposi ☐
Pneumonia P.carinii ☐	Criptococose ☐	Herpes simples ☐	Tb ganglionar ☐	Carcinoma ☐
Isosporidiose ☐	Candidose Oral ☐	Herpes zoster ☐	Tb SNC ☐	Linfoma ☐
Toxoplasmose ☐	Cand. Esofagiana ☐	Leucoplasia pilosa ☐	Micobactérias ☐	
outros ☐			outros ☐	

Coleta de saliva: _____	data ____/____/____	Saliva coletada: _____ ml/min	Horário: _____ hs.
Diluições realizadas (número de placas)	Pura ☐ ()	10 ⁻¹ ☐ ()	10 ⁻² ☐ ()
Diluição avaliada	Pura ☐	10 ⁻¹ ☐	10 ⁻² ☐
Contagens	Placa 1: _____	Placa 2: _____	Total: _____ Média: _____
Resultado: _____	UFC's/ml de saliva		

AVALIAÇÃO DA MUCOSA BUCAL- variações da normalidade e lesões

Afta menor	
Amígdala lingual hipertrófica	
Anquiloglossia	
Aumento inespecífico de glândula salivar	
Candidose eritematosa	
Candidose hipertrófica	
Candidose pseudomembranosa	
Despapilação lingual acentuada	
Despapilação lingual localizada	
Eritema gengival linear	
Estomatite ulceronecrosante	
Gengivite ulceronecrosante	
Glossite romboidal mediana	
Herpes simples recorrente	
Herpes zoster	
Hiperplasia fibrosa não associada a PT(fibroma)	
Infecção bacteriana a esclarecer	
Infecções fúngicas (exceto <i>Candida</i>)	
Leucoedema	
Leucoplasia pilosa	
Linfoma não-Hodgkin	
Língua fissurada	
Língua geográfica	
Língua pilosa	
Língua saburrosa	
Líquen plano	
Molusco contagioso	
Neuropatia do trigêmeo	
Papiloma	
Parestesia	
Parotidite recorrente	
Periodontite Ulcero Necrosante	
Pigmentação exógena na mucosa bucal	
Pigmentação melânica (Addison/medicamento)	
Pigmentação melânica idiopática	
Pigmentação melânica racial	
Púrpura trombocitopênica	
Queilite actínica	
Queilite angular	
Queratose de rebordo	
Queratose reacional (traumática)	
Reações a drogas (inespecífica)	
Sarcoma de Kaposi	
Sinusite	
Tatuação por amálgama	
Toro mandibular	
Toro palatino	
Úlcera inespecífica	
Úlcera inespecífica do HIV	
Úlcera por CMV	
Ulceração traumática	
Xerostomia	

ANEXO 3**ISOLAMENTO E CONTAGEM DE CANDIDA**

A análise microbiológica foi realizada com a mesma saliva utilizada para medição do fluxo salivar. Após a coleta da saliva em coletores estéreis a mesma foi estocada em caixa térmica com gelo e transportada, no máximo em 3 horas, ao laboratório de microbiologia da Área de Patologia da FOP/UNICAMP, onde foi medida com pipetas automática de precisão de 0,1ml, sendo em seguida homogeneizada por 1 minuto com agitador. Foram realizadas diluições de até 10^{-3} para cada amostra. Aliquotas de 0,1ml de saliva pura foram acrescidas de 0,9ml de solução fisiológica e novamente homogeneizadas, gerando amostra de saliva 10^{-1} . O processo foi repetido com alíquota de 0,1ml da solução 10^{-1} , gerando diluição 10^{-2} e novamente para produzir diluição 10^{-3} . Amostras de 0,1ml de cada diluição e de saliva pura foram semeadas, em duplicata, em placas de cultura com Ágar Sabouraud-Glicose Difco com cloranfenicol (0,1mg de quemicitina succinato por ml de meio) e incubadas a 37°C por 48 horas.

As culturas positivas foram contadas para determinação do número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) selecionando-se, sempre que possível, a diluição que apresentasse entre 30 e 300 colônias típicas por placa. Placas sem crescimento de fungos foram deixadas em estufa por mais 48 horas e se continuassem negativas eram descartadas. Colônias de aspecto ou odor atípico foram testadas por coloração de Gram, em esfregaço, para descartar as colônias de bactérias, em geral Gram-negativas, eventuais contaminantes e resistentes ao cloranfenicol. Foram consideradas colônias típicas de *Candida* aquelas de formato esférico, branco foscas, com aparência de porcelana, com diâmetro entre 4 e 8mm e odor característico do gênero.

Para cada coleta os pacientes foram categorizados em 3 grupos; "negativos" ou que não apresentassem crescimento de colônias nas amostragens, "portadores" que apresentassem contagens entre 1 e 399 UFC/ml, e "positivos" que apresentassem contagens de 400 ou mais UFC/ml de saliva.

ANEXO 4

IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *CANDIDA*

Colônias foram selecionadas das placas com culturas positivas para identificação das espécies presentes. De cada par de placas positivas foram escolhidas 2 colônias com características de *Candida*. As colônias foram removidas e estocadas individualmente em tubos de vidro com Ágar Sabouraud, em temperatura ambiente, e lacradas até a identificação, realizada posteriormente.

A identificação foi realizada de acordo com SANDVÉN (1990) e SAMARANAYAKE & MacFARLANE (1990), utilizando-se os seguintes provas:

1- Formação de tubo germinativo:

Uma alçada de cultura pura de 24 horas de levedura foi adicionada em eppendorfs (1,5 ml) contendo 0,5ml de soro humano estéril e incubada em estufa a 37°C por até 3 horas. Para visualização do tubo germinativo, 19µl da suspensão foi colocada entre lâmina e lamínula e observada à microscopia de luz.

2- Produção de clamidoconídeo:

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

Fubá	40g
Ágar (Difco)	20g
Tween 80	10ml
Água destilada	1.000ml

O fubá foi dissolvido em 800ml de água destilada, aquecido durante 1 minuto microondas, filtrado (filtro Whatman, nº 40) por duas vezes consecutivas e colocado em processo de decantação. A fusão do ágar foi feita separadamente em 200ml de água destilada, acrescentando-se o tween 80 e o fubá filtrado. O preparado foi autoclavado a 120°C /15min e estocado em geladeira. Quando da realização da prova, o ágar-fubá recortado em pequenos quadrados medindo 18x18 mm colocado sobre lâminas histológicas e depositadas dentro de placas de Petri esterilizadas. Em seguida, cada amostra foi semeada em um único ponto sobre a superfície do meio, colocando-se uma lamínula sobre o ágar. No interior da placa de Petri, colocou-se algodão esterilizado e embebido em soro fisiológico também esterilizado, para manter a umidade do meio. O material foi incubado por 72 horas, à temperatura ambiente, sendo analisado à microscopia de luz para observação da presença de clamidoconídeos, blastoconídias hifas e pseudohifas.

3- Fermentação de Carboidratos (Zimograma):

Para realização da prova foi utilizado o meio caldo vermelho de fenol (Difco), em 4 tubos de ensaio com tubos de Durhan em seu interior. Em cada tubo foi adicionado um carboidrato (glicose, maltose, sacarose e lactose), de modo a obter concentração de 1%. Após autoclavagem por 15min a 120°C, os tubos foram semeados com cultura pura de 24 horas da amostra mantida em (ágar Sabouraud-Glicose Difco) 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.

4- Assimilação de carboidratos (Auxanograma):

Para este teste foi utilizado o seguinte meio:

Sulfato de amônia	5,0g
Fosfato de potássio monobásico	1,0g
Sulfato de magnésio	0,5g
Ágar	20,0g
Água destilada	1.000ml

Após a dissolução no microondas, o meio foi distribuído (18-20ml) em tubo de ensaio, autoclavado a 120°C por 15min e armazenado em geladeira. Para execução da prova foi preparada uma suspensão da levedura em solução fisiológica esterilizada, com aproximadamente 10^8 células a partir de cultura em ágar Sabouraud-Glicose. Desta suspensão foi colocado 0,1ml em placa de Petri esterilizada. O meio previamente liqüefeito e resfriado (a cerca de 45°C) foi vertido na placa sobre a suspensão de levedura. 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 incubação de 72 horas a 37°C, a leitura foi feita pela observação de halo de crescimento ao redor do disco de papel, que ocorrerá na prova positiva e não ocorrerá na prova negativa. Para a interpretação dos resultados de leitura foi utilizado o padrão mostrado na tabela 1.

Tabela 1: Características bioquímicas, de microcultivo e formação de tubo germinativo das espécies do gênero *Candida* identificadas.

ESPÉCIES	Tubo germinativo	Clamidoconídeo	Hifas ou pseudohifas
<i>C.albicans</i>	+	+	+
<i>C.glabrata</i>	-	-	-
<i>C.guilliermondii</i>	-	-	+
<i>C.kefyr</i>	-	-	+
<i>C.krusei</i>	-	-	+
<i>C.lipolytica</i>	-	-	+
<i>C.lusitaniae</i>	-	-	+
<i>C.parapsilosis</i>	-	-	+
<i>C.tropicalis</i>	-	-	+

ESPÉCIES	Fermentação				Assimilação				
	Glicose	Sacarose	Maltose	Lactose	Glicose	Sacarose	Maltose	Lactose	Galactose
<i>C.albicans</i>	A/G	A/-	A/G	+/+	+	+	+	-	+
<i>C.glabrata</i>	A/G	+/+	+/+	+/+	+	-	-	-	-
<i>C.guilliermondii</i>	A/G	A/G	+/+	+/+	+	+	+	-	+
<i>C.kefyr</i>	A/G	A/G	+/+	A/G	+	+	-	+	+
<i>C.krusei</i>	A/G	+/+	+/+	+/+	+	-	-	-	-
<i>C.lipolytica</i>	+/+	+/+	+/+	+/+	+	-	-	-	-
<i>C.lusitaniae</i>	A/G	A/G	+/+	+/+	+	+	+	-	+
<i>C.parapsilosis</i>	A/G	+/+	+/+	+/+	+	+	+	-	+
<i>C.tropicalis</i>	A/G	A/G	A/G	+/+	+	+	+	-	+

Onde: A = Produção de ácido, G = Produção de gás

As amostras de *Candida* de espécies diferentes da *albicans* tiveram sua identificação checada por meio de cultivo em meio cromogênico e com a utilização de KITS de identificação, sendo eles:

API 32C kits (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France)

ID 32C é um sistema de identificação para leveduras baseado na capacidade das amostras isoladas em assimilar uma variedade de compostos carboidratos cujas combinações de resultados positivos e negativos, para as reações de assimilação, cuja leitura dos resultados é visual, conduzindo a uma lista com os códigos de espécies cuja referência está no índice analítico ou banco de dados deste sistema (SCHUFFENECKER et al. 1993). As técnicas de utilização foram aquelas fornecidas pelo fabricante.

Candida Check (latron Laboratories)

Método de identificação de espécies de *Candida* cujo princípio baseia-se na reação de aglutinação antígeno-anticorpo possibilitando assim identificação das principais espécies de *Candida* e a sorotipagem, COLEMAN et al. (1993).

Meio Cromogênico

É um recente método de identificação para *Candida sp* e alguns outros microorganismos. Consiste na proliferação de leveduras em meio cromogênico provocando crescimento das amostras com coloração específica segundo ODDS & BERNARTS (1994), BAUGARTNER et al. (1996), PFALLER et al. (1996) e BEIGHTON et al. (1995).

Espécies de <i>Candida</i>	Coloração da Colônia
<i>C. dubliniensis</i>	verde escuro
<i>C. albicans</i>	verde claro
<i>C. stellatoidea I</i>	azul esverdeado
<i>C. stellatoidea II</i>	verde claro
<i>C. tropicalis</i>	azul com halo pink
<i>C. krusei</i>	pink crespa
<i>C. glabrata</i>	pink
outras espécies	branco ou pink

ANEXO 5:

**ESTADIAMENTO DE PACIENTES COM HIV+,
segundo Sistema Revisado de Classificação do CDC de 1993:**

O Sistema revisado destaca a importância dos estudos linfócitos CD4 na avaliação clínica das pessoas infectadas pelo vírus HIV, baseia-se em três faixas de contagens de CD4 e três categorias clínicas, que dão origem a uma matriz de nove categorias exclusivas.

Categoria de células CD4	Categoria Clínica		
	A	B	C
1. > 500mm ₃	A ₁	B ₁	C ₁
2. 200-499/mm ₃	A ₂	B ₂	C ₂
3. < 200/ mm ₃	A ₃	B ₃	C ₃

Categoria clínica A

Infecção assintomática por HIV.

Linfadenopatia generalizada persistente

Doença aguda primária por HIV

Categoria clínica B

Sintomáticos, excluindo os transtornos relatados em A ou C.

Os exemplos incluem, entre outros:

Angiomatose Bacilar, Candidose vulvovaginal persistente > um mês com pouca resposta ao tratamento, Candidose orofaríngea, Displasia cervical grave ou Carcinoma *in situ*, sintomas constitucionais

Categoria clínica C

Candidose: esôfago, traquéia e brônquios

Coccidioidomicose extrapulmonar

Câncer cervical invasivo

Criptococcose extrapulmonar

Criptosporidiose crônica intestinal (> mês)

Retinite por CMV, ou CMV em lugares diferentes do fígado, baço e gânglios

Encefalopatia por HIV

Herpes simples com úlcera mucocutânea > um mês, bronquite crônica, pneumonia

Histoplasmose: disseminada e extrapulmonar

Isosporíase crônica > um mês

Sarcoma de Kaposi

Linfoma de Burkitt, imunoblástico, cerebral primário

M. avium ou *M. kansasii* extrapulmonar

Pneumonia por *Pneumocystis carinii*

Leucoencefalopatia multifocal progressiva

Bacteremia recorrente por *Salmonella*

Toxoplasmose cerebral

Síndrome consuntiva devido ao HIV

ANEXO 6:

EXAMES LABORATORIAIS DE INTERESSE PARA AVALIAÇÃO DE PACIENTES HIV+:

1. Contagem de CD4 (linfócito periférico) e Percentual de CD4.

Nos indivíduos infectados pelo HIV é observado um declínio constante na contagem de linfócitos CD4 e no percentual de T4 do total de linfócitos. Os sinais e sintomas da imunossupressão usualmente ocorrem em contagens absolutas de CD4 menores que 500 cels/mm³ e percentuais menores que 29 (JADA 1995). Os eventos clínicos na história natural do HIV-1 tem sido relacionados a mudanças no nível de duas medidas laboratoriais, a contagem de linfócito CD4 e a concentração sérica de beta-2-microglobulina (ALCABES et al. 1994).

2. Contagem de Glóbulos Brancos (GB)

A leucopenia, com contagem de GB menor que 4000 cels/mm³, é encontrada em muitos indivíduos com AIDS pode estar relacionada ao aparecimento de infecções oportunistas (JADA 1995).

3. Contagem Plaquetária

Trombocitopenia (menos que 150 000 plaquetas/mm³), está freqüentemente associada com infecção pelo HIV. Esta condição parece originar-se de uma alteração autoimune envolvendo precipitação de complexos imunes nas plaquetas ou de um anticorpo específico para o antígeno na membrana da plaqueta (JADA 1995).

4. Tempo de Protrombina e Tromboplastina Parcial

A infecção pelo HIV e as doenças hepato-biliares podem conduzir a deficiências nos sistemas de coagulação (JADA 1995).

5. Hemoglobina (Hc)

Anemia é comum entre os indivíduos infectados pelo HIV e pode ser um resultado direto da infecção ou efeito da terapia antiretroviral (JADA 1995).

6. Carga viral (CV)

Quantifica o número de cópias virais/ml é atualmente um marcador laboratorial importante na avaliação de pacientes infectados pelo HIV.

7. Glicemia (GL)

8. TGO (Dosagem de Transaminase glutamico oxalacética)

9. TGP (Dosagem de Transaminase glutamico pirúvica)

ANEXO 7: Resultados da Análise Estatística não incluídos na tese.**Correlação entre UFC/ml e variáveis com resultados não significativos.**

Tabela 1: Distribuição dos pacientes de acordo com a história odontológica e contagem média de UFC/ml de saliva total não estimulada, durante a primeira visita. Foi realizado o teste de ANOVA.

	n	Média ± DP	p
É FUMANTE			0,09
Sim	79	822,9 ± 1789,5	
Não	85	954,3 ± 2974,7	
É EX-FUMANTE			0,09
Sim	27	260,6 ± 633,5	
Não	137	1026,8 ± 2762,5	
É ETILISTA			0,08
Sim	7	1420,2 ± 1841,2	
Não	156	882,6 ± 2588,5	
É EX-ETILISTA			0,84
Sim	42	672,8 ± 1267,2	
Não	122	979,1 ± 2864,4	
SENTE A BOCA SECA DURANTE A NOITE			0,12
Sim	35	995,3 ± 1698,0	
Não	129	874,9 ± 2743,1	

Tabela 2: Distribuição dos pacientes de acordo com o uso de medicamentos e contagem média de UFC/ml de saliva total não estimulada, apenas da primeira visita. Foi realizado o teste de ANOVA.

	n	Média ± DP	p
AZT			0,53
Sim	151	909,5 ± 2600,5	
Não	13	797,6 ± 1979,4	
3TC			0,99
Sim	153	893,1 ± 2585,7	
Não	11	1005,5 ± 2125,5	
MK			0,06
Sim	158	921,3 ± 2593,8	
Não	6	357,1 ± 826,8	
OUTROS ANTIRETROVIRAIS			0,20
Sim	11	195,0 ± 327,3	
Não	153	9551,3 ± 2634,0	
BACTRIM			0,26
Sim	72	761,4 ± 1443,8	
Não	92	1009,5 ± 3164,1	
DAPSONA			0,94
Sim	16	1499,6 ± 4738,6	
Não	148	835,9 ± 2210,6	
PIRIMETAMINA			0,70
Sim	4	224,7 ± 263,2	
Não	160	917,5 ± 2581,3	
ISONIAZIDA			0,14
Sim	6	1104,5 ± 1926,8	
Não	158	892,9 ± 2577,1	
OUTROS MEDICAMENTOS			0,77
Sim	1	178,0 ± 0,0	
Não	163	905,1 ± 2559,2	
ANTIFÚNGICO			0,39
Sim	3	305,0 ± 160,7	
Não	161	911,7 ± 2574,4	

Tabela 3: Distribuição dos pacientes de acordo com as doenças oportunistas e contagem média de UFC/ml de saliva total não estimulada, na primeira visita. Foi realizado o teste ANOVA.

	n	Media $\pm$ DP	p
CRÍPTOSPORIDIASE			0,26
Sim	1	1040,0 $\pm$ 0,0	
Não	163	899,8 $\pm$ 2559,8	
P. CARINII			0,89
Sim	24	466,7 $\pm$ 799,6	
Não	140	974,5 $\pm$ 2737,4	
ISOSPORIASE			0,26
Sim	1	1040,0 $\pm$ 0,0	
Não	163	899,8 $\pm$ 2559,8	
TOXOPLASMOSE			0,95
Sim	3	276,0 $\pm$ 308,0	
Não	161	912,3 $\pm$ 2574,1	
CANDIDOSE ORAL			0,11
Sim	34	903,6 $\pm$ 1992,5	
Não	130	899,9 $\pm$ 2685,8	
CANDIDOSE ESOFAGIANA			0,24
Sim	10	1331,6 $\pm$ 3248,7	
Não	154	872,6 $\pm$ 2510,9	
HERPES SIMPLES			0,97
Sim	15	742,0 $\pm$ 1398,8	
Não	149	916,0 $\pm$ 2642,8	
TUBERCULOSE PULMONAR			0,44
Sim	7	623,4 $\pm$ 786,8	
Não	157	913,0 $\pm$ 2603,3	
PROPANOLOL			0,84
Sim	1	59,0 $\pm$ 0,0	
Não	163	905,1 $\pm$ 2559,0	
PENTAMIDINA			0,06
Sim	3	7829,3 $\pm$ 1095,0	
Não	161	771,5 $\pm$ 2044,3	

Tabela 4: Distribuição dos pacientes de acordo com a presença de lesões da mucosa bucal e contagem média de UFC/ml de saliva total não estimulada, na primeira visita. Foi realizado o teste ANOVA.

	n	Média ± DP	p
AFTA MENOR			0,56
Sim	2	165,0 ± 233,3	
Não	162	909,7 ± 2566,4	
DESPILAÇÃO LINGUAL LOCAL			0,09
Sim	155	1450,7 ± 2687,4	
Não	149	845,2 ± 2540,8	
GLOSSITE ROMBOIDAL MEDIANA			0,64
Sim	2	1000,0 ± 1385,9	
Não	162	899,4 ± 2565,4	
PIGMENTAÇÃO MELÂNICA *			0,06
Sim	18	1168,2 ± 1449,8	
Não	146	867,6 ± 2657,9	

* Addison/Medicamentos

Tabela 5: Distribuição dos pacientes de acordo com as variáveis numéricas e contagem média de UFC/ml de saliva total não estimulada, na primeira visita. Foi realizado a Regressão Linear Simples.

	n	Média	LC 95%	r ²	r
IDADE	163	35,3	- 0,00 <r< 0,30	0,02	0,15
FLUXO SALIVAR	163	0,58	- 0,19 <r< 0,12	0,00	- 0,08
LINFÓCITOS T4	72	331,7	- 0,19 <r< 0,27	0,00	0,09
LINFÓCITOS T8	66	882,3	- 0,19 <r< 0,27	0,00	0,06
CARGA VIRAL	46	5664,0	- 0,34 <r< 0,23	0,00	- 0,06
GLICOSE	67	85,8	0,01 <r< 0,46	0,06	0,24
PLAQUETAS	73	2.E+ 00	- 0,16 <r< 0,29	0,00	0,07
PROTROMBINA	19	11,0	- 0,54 <r< 0,33	0,02	- 0,13
TROMBOPLASTINA	18	29,0	- 0,40 <r< 0,51	0,00	0,07

Tabela 6: Distribuição dos pacientes de acordo com os dados de identificação e contagem categorizada de UFC/ml de saliva total não estimulada. Foi realizado o teste de Q-Quadrado.

	Negativo n (%)	Portador n (%)	Positivo n (%)	p
Gênero				0,33
Masculino	11	70	41	
Feminino	16	33	17	
Cor da pele				0,31
Leucoderma	21	85	49	
Melanoderma	3	5	5	
Feoderma	3	13	4	
Nível de instrução				0,81
Nível primário	13	52	32	
Nível secundário	10	31	10	
Nível universitário	4	19	16	
Estado civil				0,66
Casado	0	57	27	
Solteiro	7	38	25	
Viuvo	6	8	6	

Tabela 7: Correlação entre contagem categorizada de UFC/ml e os dados de identificação, cujos resultados não apresentaram evidência estatística.

	n	Portador Mediana ±DP	p	n	Positivo Mediana ±DP	p
Gênero			0,10			0,42
Masculino	70	105,4 ± 105,8		41	1546,7 ± 1873,8	
Feminino	33	74,4 ± 87,4		17	1693,1 ± 1347,3	
Cor da pele			0,31			0,57
Leucoderma	85	97,5 ± 98,7		49	1452,4 ± 1304,5	
Melanoderma	5	36,0 ± 36,6		5	1811,0 ± 1254,3	
Feoderma	13	104,3 ± 104,3		4	2993,7 ± 4921,5	
Nível de instrução			p=0,81			p=0,64
Nível primário	52	105,5 ± 112,0		32	1682,5 ± 2090,7	
Nível secundário	31	91,5 ± 99,0		10	1351,6 ± 1299,5	
Nível universitário	19	79,0 ± 71,0		16	1552,0 ± 1101,0	
Estado civil			p=0,66			p=0,86
Casado	57	89,0 ± 97,6		27	1941,1 ± 2191,0	
Solteiro	38	107,5 ± 110,2		25	1290,5 ± 1103,9	
Viuvo	8	78,6 ± 83,2		6	1252,5 ± 1374,0	

Tabela 8: Resultados da análise univariada utilizando o método das EEG e modelando para a ausência a negatividade de leveduras (n=41).

Variável	p
Idade (em anos)	0.2430
Gênero feminino	0.9515
Cor da pele branca	0.1869
Cor da pele parda	0.7030
Instrução primária	0.0806
Instrução secundária	0.7494
Estadiamento CDC B2	0.2563
Categoria de exposição ao HIV: heterossexual	0.4451
Categoria de exposição ao HIV homossexual	0.1078
História de candidose (1)	0.5132
Tabagismo (0)	0.1734
Etilismo (0)	-
Uso de prótese total (0)	0.4735
Relato de boca seca durante a noite (0)	0.3972
Relato de boca seca durante o dia (0)	0.3867
Uso de AZT (1)	0.3050
Uso de 3TC (1)	0.3581
Uso de MK (1)	-
Uso de outros antibióticos (0)	0.2030
Uso de Dapsona (0)	0.1299
Uso de Propanolol (0)	-
Uso de Pentamidina (0)	-
Uso de antifúngicos (0)	-
História de Herpes Zoster (1)	0.2771
Candidose pseudomembranosa (0)	-
Despapilação lingual acentuada (0)	-
Despapilação lingual localizada (0)	0.3789

Tabela 8 (continuação): Resultados da análise univariada utilizando o método das EEG e modelando para a ausência a negatividade de leveduras (n=41).

Variável	p
Glossite romboidal mediana (0)	-
Língua saburrosa (0)	0.6642
Queilite angular (0)	-
Xerostomia (0)	0.6914
Contagem de linfócitos T4	0.1984
Contagem de linfócitos T8	0.6208
Carga viral	0.5509
Taxa de glicose	0.8183
Taxa de hematócrito	0.9742
Contagem de plaquetas	0.6959
Fluxo salivar/min	0.1559