

Data da defesa 27 / 01 / 99

Banca examinadora

Prof. Dr. Esther Goldenberg Birman (Orientadora)

Julgamento: Aprovada Assinatura: _____

Prof. Dr. Célia R. M. O. Rodrigues

Julgamento: Aprovada Assinatura: _____

Prof. Dr. Ricardo de Sousa Siqueira

Julgamento: Aprovada Assinatura: _____

Prof. Dr. Maria Carmeli Correia Sampaio

Julgamento: Aprovada Assinatura: _____

Prof. Dr. Eitan Naaman Bezzi

Julgamento: Aprovada Assinatura: _____

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

**MANIFESTAÇÕES BUCAIS, MICROBIOTA BACTERIANA E
FÚNGICA EM CRIANÇAS COM AIDS E SEUS CONTROLES**

VERA LÚCIA BOSCO

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade de São Paulo
para concorrer ao Título de Doutor, pelo
Curso de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração em Odontopediatria

Orientadora:

Prof^a Dr^a Esther Goldenberg Birman

SÃO PAULO

1998

Catálogo-na-Publicação

Serviço de Documentação Odontológica

Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Bosco, Vera Lúcia

Manifestações bucais, microbiota bacteriana e fúngica em crianças com AIDS e seus controles / Vera Lúcia Bosco ; orientador Esther Goldenberg Birman.
-- São Paulo, 1998.

81 p. : tab., graf.

Tese (Doutorado - Curso de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Odontopediatria) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida -- Manifestações bucais 2. Odontopediatria 3. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

CDD 616.9792

*“Dou por ganho tudo que perdi
e por recebido tudo que esperei
e por vivido tudo que sonhei
e por sonhado tudo que vivi”.*

Juan Guzman Cruchaga

Para

Márcio Guilherme e Marcelo Henrique Bosco Westphal,

Guilherme e Kenia Tavares Bosco,

sementes da árvore do futuro

que floresçam e frutifiquem abundantemente.

Em especial à Prof^a Dr^a Esther Goldenberg Birman, cuja presença, dedicação e exemplo, me orientaram não só neste trabalho mas principalmente, na descoberta de forças e talentos até então desconhecidos.

AGRADECIMENTOS

A Saulo de Castro S.Thiago, pois sem ele nada teria acontecido. Através dele, agradeço à família S.Thiago, pessoas para quem palavras como amizade, desprendimento e solidariedade são vivências constantes.

À Tânia Mara Bosco, Henrique Bosco e sua esposa Denise, que por assumirem os encargos familiares e burocráticos, me forneceram tranquilidade para estar ausente.

Aos colegas da disciplina de Odontopediatria da Universidade Federal de Santa Catarina, pelo estímulo e compreensão demonstrados durante meu afastamento.

Ao Prof. Dr. Sérgio F. Torres de Freitas, pela realização do tratamento estatístico.

À CAPES pela bolsa concedida.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Guedes-Pinto, Titular e Coordenador do curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, pelo apoio e confiança.

À Prof^a Dr^a Claudete Rodrigues Paula, por sua valiosa orientação na área de Micologia.

À Prof^a Dr^a Elza M. Mamizuka, por sua colaboração na área de Bacteriologia.

À técnica Solange Elizabete de Oliveira Souza (FCF-USP), pelos procedimentos laboratoriais em Bacteriologia.

À técnica Shirlei A. M. Marques (ICB-USP), por sua amizade, disponibilidade e bom humor, antes, durante e após o desenvolvimento da fase laboratorial em Micologia.

Ao finalizar este trabalho, o sentimento maior que me invade é o de gratidão, principalmente à Deus, por conceder os dons da vida e da alegria, a fé que me sustenta e a capacidade de sonhar e perseverar em busca do sonho. Esta gratidão se estende a todas as pessoas que dividiram os risos e as lágrimas, incentivaram, aconselharam, compartilharam o sonho, discutiram, mas estiveram presentes. À elas agradeço profundamente e sem poder nomear todas, desde que foram tantas e tão generosas, cito as que de modo especial se destacaram e sempre estarão comigo, na memória e no coração. Obrigada.

Maria Lúcia Bastos Passarelli, Maria Tereza Gutierrez, Elizabeth Campi, Elizabeth Luz Caldeira de Andrade, Claudete Regina Ferreira, Roberto Heitzman Rodrigues Pinto, Ricardo Di Nardi Fonoff, Rita Villena Sarmiento, Denise Gonçalves Borges, Saul Martins de Paiva, Mariangela Santos Schalka, Cláudia Peres Trindade, Francisco de Assis Baroni, Fátima Andrélo Gonçalves, Iracema Mascarenhas Pires, Maria Aparecida da Silva Israel, Rosa Cristina Nogueira, Marlene Pinotti, Júlio César de Lima Farias, Marize Moraes de Paiva, Juraci Salino do Nascimento, Adolfo Tadeu Barbosa,

SUMÁRIO

	p.
RESUMO	
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISTA DA LITERATURA	5
3. PROPOSIÇÃO	26
4. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS	27
5. RESULTADOS.....	35
6. DISCUSSÃO	49
7. CONCLUSÕES.....	58
8. ANEXOS	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
SUMMARY	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição das crianças do grupo com AIDS por faixa etária e sexo	35
Tabela 2. Distribuição das crianças do grupo com AIDS por faixa etária e contagem de células CD4+	36
Tabela 3. Manifestações buco-faciais encontradas nas crianças do grupo com AIDS, de acordo com a contagem de células CD4+	38
Tabela 4. Amostras positivas para bactérias, isoladas na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle, de acordo com o gênero e coloração em Gram	39
Tabela 5. Espécies <i>Candida</i> isoladas da cavidade bucal de crianças do grupo com AIDS, por contagem de células CD4+	44
Tabela 6. Níveis de produção de proteinase e fosfolipase das amostras de <i>Candida</i> isoladas da cavidade bucal das crianças do grupo com AIDS	45
Tabela 7. Níveis de produção de proteinase e fosfolipase das amostras de <i>Candida</i> isoladas da cavidade bucal das crianças do grupo controle.....	46
Tabela 8. Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das amostras de <i>Candida</i> isoladas da cavidade bucal de crianças com AIDS, frente aos antifúngicos testados	47
Tabela 9. Grau de suscetibilidade das amostras de <i>Candida</i> isoladas da cavidade bucal de crianças do grupo com AIDS, frente aos antifúngicos testados	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Valores para o cálculo da atividade enzimática33

Quadro 2. Nível de significância das bactérias encontradas na cavidade bucal de crianças dos grupos com AIDS e controle.....42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribuição das crianças dos grupos com AIDS e controle, por idade e sexo.....	28
Gráfico 2. Manifestações bucais encontradas na cavidade bucal das crianças do grupo com AIDS	37
Gráfico 3. Bactérias Gram positivas isoladas na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle, de acordo com o gênero e espécie	40
Gráfico 4. Bactérias Gram negativas isoladas na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle, de acordo com o gênero e espécie	41
Gráfico 5. Fungos isolados na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida

HIV – Human immunodeficiency virus

CDC – Centers for Diseases Control and Prevention

CD4+ – Linfócitos Helper

P-1 – Classe pediátrica 1 (CDC, 1987)

P-2 – Classe pediátrica 2 (CDC, 1987)

AZT – Zidovudina

ddl – Dideoxinosina

ddc – Dideoxicitidina

3TC – 2-deoxi-3 tiacitidina

HIV-1 – Human Immunodeficiency Virus, tipo 1

cél/mm³ – células por milímetro cúbico

OPC – Candidose orofaríngea

LFC – Linfadenopatia Cérvico-Facial

CIM – Concentração Inibitória Mínima

E-TEST – Epsilometer Test

χ^2 – Qui-Quadrado

Chi² – Qui-Quadrado

\bar{x} – Média

RESUMO

MANIFESTAÇÕES BUCAIS, MICROBIOTA BACTERIANA E FÚNGICA EM CRIANÇAS COM AIDS E SEUS CONTROLES

Trinta crianças portadoras de AIDS, entre dois e seis anos, de ambos os sexos, pacientes do ambulatório da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, foram avaliadas quanto a microbiota bacteriana e fúngica e a presença de manifestações bucais, comparada a um grupo controle clinicamente sadio, pareado por idade e sexo. Também foi estudada a produção de exoenzimas dos fungos identificados e sua suscetibilidade a cinco antifúngicos.

As manifestações bucais foram mais prevalentes nas crianças com imunossupressão presente, principalmente severa, sendo mais freqüente a linfadenopatia cérvico-facial, seguida de gengivite, candidose e aumento da glândula parótida.

Em relação às bactérias, no grupo com AIDS predominaram os cocos Gram positivos, enquanto nos fungos houve predominância de *Candida albicans*. A produção de proteinase e fosfolipase foi mais alta no grupo com AIDS, sendo a anfotericina B a mais efetiva, entre os antifúngicos testados.

Sugere-se que a maior frequência, seletividade de *Candida albicans* e a produção dos fatores de virulência estudados, mesmo frente a menor presença de lesões fúngicas, poderia indicar uma maior patogenicidade desta espécie, em crianças com AIDS.

1. INTRODUÇÃO

No início da década de oitenta, ainda não havia sido isolado o agente causador da pandemia chamada Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) em adultos. Ao final de 1982 e início de 1983, apareceram na literatura os primeiros relatos prováveis de AIDS em crianças (O'Reilly et al., 1982; Oleske et al., 1983). Desde então, muitas pesquisas tem sido realizadas no sentido de conhecer melhor o agente causador, um retrovírus (Human Immunodeficiency Virus) que após várias denominações, ficou conhecido como HIV (Petersen et al., 1993). As diferentes formas de transmissão, sua prevenção, e variados tratamentos foram abordados, visando uma maior sobrevivência, com diminuição de alguns problemas, enquanto a cura ainda não foi encontrada.

Muito do que se conhece a respeito da AIDS pediátrica, tem sido uma inferência dos conhecimentos da doença em adultos, tendo em vista que em adolescentes, a doença comportava-se a semelhança destes. A Organização Mundial de Saúde considera a AIDS pediátrica aquela que afeta crianças de até 13 anos de idade (CDC, 1987; Molina et al., 1990; Leggott, 1992; Petersen et al., 1993; CDC, 1994). Embora o agente etiológico seja o mesmo e a doença manifeste-se tanto em adultos quanto

em crianças, existem no entanto, algumas diferenças quanto ao fator da risco, modo de transmissão, padrões de soroconversão, bem como as manifestações clínicas, e dentre elas as bucais (Leggott, 1992). A diferença mais marcante consiste no modo de transmissão, pois de 80% a 85% das crianças portadoras do vírus HIV ou com AIDS, são contaminadas verticalmente, quer durante a gestação, parto ou amamentação (Gehrke; Johnsen, 1991, Chigurupati et al., 1996). As crianças nascidas de mães portadoras do vírus HIV, serão ^{quase} sempre soropositivos ao nascimento, sendo que entre 15 a 50% delas permanecem soropositivas ~~após~~ após os 15 meses de idade (Leggott, 1992; Hernandez; Boj, 1996), constituindo 2% do total reconhecido dos casos relatados de AIDS nas nações em desenvolvimento. A média de transmissão vertical é estimada entre 15 a 20% na Europa, 16 a 30% nos Estados Unidos e 25 a 40% nas nações em desenvolvimento (Chigurupati et al., 1996).

A gravidade da infecção pediátrica pelo HIV parece estar na dependência do momento do contágio. No período inicial da gestação, a placenta ainda não está completamente desenvolvida e o feto está desprotegido. Se o contágio, além disso se der no início da infecção materna, quando a viremia é maior, a infecção no feto também será mais intensa (Ceccotti, 1995).

A infecção pelo vírus HIV resulta em uma profunda imunossupressão, facilitando o desenvolvimento de várias infecções oportunistas no hospedeiro. Os sinais e sintomas da infecção pelo HIV em pediatria são freqüentemente inespecíficos e incluem: linfadenopatia generalizada,

hepatoesplenomegalia, hipertrofia indolor da parótida, candidose bucal persistente, diarreia crônica ou recorrente, febre e deficiência no desenvolvimento pondero-estatural e/ou psicomotor (Brasil,1994). A progressão da infecção pelo HIV é mais rápida e grave nas crianças, em decorrência da sua fase de desenvolvimento e frente a imaturidade do sistema imune. As crianças contaminadas durante a gestação tem uma rápida evolução da doença, enquanto as contaminadas no parto ou pós-parto tem uma evolução mais lenta (Chigurupati et al.,1996).

Em 1987, o Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) elaborou um sistema de classificação para a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana em crianças com menos de 13 anos de idade, adotado pelo Ministério da Saúde do Brasil. Este sistema pode ser resumido em: Classe P-0 (Infecção indeterminada); Classe P-1 (Infecção assintomática [Subclasses A,B,C]); Classe P-2 (Infecção sintomática [Subclasses A,B,C,D,E,F]) (CDC, 1987). Este sistema de classificação foi modificado pelo CDC em 1994, passando a ser: Categoria N (Não sintomático); Categoria A (Levemente sintomático); Categoria B (Sintomatologia moderada); Categoria C (Severamente sintomático), de acordo com as manifestações clínicas presentes.

Nesta segunda década da presença da AIDS no mundo, muito se caminhou em direção a respostas de tantas dúvidas iniciais, embora restem ainda muitas perguntas sem respostas. Uma delas refere-se ao desenvolvimento da doença na criança e, considerando que a síndrome da imunodeficiência adquirida pediátrica vem assumindo a cada dia uma maior

prevalência no Brasil, o desenvolvimento de pesquisas que visem conhecer suas peculiaridades em crianças é relevante e necessário. Assim, buscamos na revisão bibliográfica a atualização e compreensão das características da síndrome em crianças e suas repercussões e principalmente, um melhor conhecimento da microbiota bucal associada a esta síndrome.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Num dos primeiros relatos conhecidos sobre AIDS em pediatria, O'Reilly et al. (1982), descreveram quatro casos de crianças com aproximadamente dois anos, e com imunodeficiências inexplicáveis associadas a infecções oportunistas, ressaltando que nenhuma havia recebido transfusão de sangue e/ou derivados. Os casos clínicos foram apresentados, procurando estabelecer correlação entre as observações efetuadas e o histórico de saúde dos pais. Todas as crianças tinham baixas contagens de linfócitos T e duas apresentavam candidose bucal. Salientaram que a AIDS poderia ser causada por um agente infeccioso, e a transmissão intra-útero ou logo após o nascimento favoreceria o aparecimento de imunodeficiências precoces nestas crianças.

Relatando sua experiência frente a oito crianças apresentando imunodeficiências incompreensíveis em associação com infecções oportunistas, Oleske et al. (1983), observaram ser este complexo compatível com a epidemia de AIDS em adultos. Os pacientes foram submetidos a extensas avaliações durante suas hospitalizações, incluindo cultura e biópsias, bem como pesquisas para identificação dos vírus Epstein-Barr e hepatite B. Suas famílias foram avaliadas por meio de questionários e

entrevistas. As evidências foram indicativas do aparecimento da AIDS em crianças, tendo sido salientada a necessidade de desenvolver um teste de laboratório fidedigno e preditivo da doença.

Com o objetivo de descreverem as lesões bucais observadas em crianças HIV positivas, Ketchum et al. (1990) examinaram 47 crianças infectadas verticalmente, entre três meses e seis anos e meio, divididas de acordo com a classificação de 1987 do CDC. Seis crianças (23%) com infecção indeterminada (P-0) e seis (60%) com infecção sintomática (P-2) apresentaram candidose pseudomembranosa. A redução dos leucócitos CD4+ determinou um aumento na frequência e gravidade da candidose bucal, sendo todas as culturas das lesões positivas para *Candida albicans*.

Ao avaliar a ocorrência de infecções secundárias em 27 crianças infectadas pelo HIV, individualmente pareadas com controles imunocompetentes, Principi et al. (1991), relataram ser o grupo infectado constituído por crianças assintomáticas (P-1) e sintomáticas (P-2), que apresentaram 185 episódios infecciosos, representados por doenças infecciosas como pneumonia e candidose bucal, encontradas em 11/27 (40,74%) e 9/27 (33,33%) das crianças sintomáticas (P-2), respectivamente.

Com o objetivo de analisar e descrever as principais infecções secundárias que afetam crianças infectadas pelo HIV, Tovo et al. (1992), acompanharam durante seis anos, 1887 crianças verticalmente expostas ao vírus HIV. Destas, 889 foram consideradas não infectadas, 425 indeterminadas e 573 HIV positivas. Entre as infecções oportunistas

observadas, candidose bucal persistente foi encontrada em 92% das crianças, tendo sido relacionada a uma média menor de sobrevivência, podendo ser incluída entre as doenças que definem AIDS.

Os tipos de lesões bucais, sua prevalência e relação com estágios clínicos da doença foram avaliados por Moniaci et al. (1993), em 69 crianças nascidas de mães HIV positivas, divididas segundo a classificação do CDC (1987). A média de idade das crianças examinadas foi $34 \pm 21,3$ meses e a proporção de 1:3 entre os sexos masculino e feminino. A alta porcentagem de lesões bucais, especialmente micóticas, foi mais observadas em crianças sintomáticas (P-2). As lesões bucais muitas vezes, são o único sinal clínico da doença em crianças HIV positivas menores de 15 meses, sendo que a candidose pseudomembranosa apresentou forte correlação com um grave acometimento imunológico, recorrendo mais freqüentemente em crianças classificadas como assintomáticas (P-1) e sintomáticas (P-2).

A prevalência e a significância prognóstica de lesões bucais em 99 crianças com idade média entre $2,9 \pm 1,8$ anos, infectadas verticalmente pelo HIV, foram avaliadas por Katz et al. (1993). Constataram 72% de candidose bucal, 47% de aumento da parótida e 24% de herpes simples. Uma variação quanto ao início do desenvolvimento das lesões foi observada, sendo 2,4 anos para candidose, 4,6 anos para aumento de parótida e cinco anos para herpes simples. As observações em relação ao tempo para o óbito indicaram uma média variável, de 3,4 anos nos pacientes com candidose; 5,4 anos para aumento da parótida e 4,3 anos para herpes simples. Candidose bucal foi portanto, associada a maior

rapidez na progressão ao óbito, diferente do aumento da parótida, mais lento, enquanto o herpes simples não pode ser relacionado. Os autores concluem que candidose bucal e aumento da parótida são aspectos importantes, que devem ser incorporados às decisões no tratamento das crianças infectadas pelo HIV.

Com o intuito também de verificar as principais manifestações bucais que acometem crianças com AIDS, Ferguson et al. (1993) examinaram 58 crianças entre cinco meses e 15 anos de idade. Observaram candidose bucal em 18,96% (11/58) e aumento da glândula parótida em 15,52% (9/58). Três crianças apresentaram associação de candidose bucal e aumento da glândula parótida e apenas uma tinha leucoplasia pilosa associada a inflamação gengival eritematosa difusa. O número de locais envolvidos pela candidose bucal esteve diretamente relacionado com o estágio de classificação (P-1 ou P-2), sendo que as crianças sintomáticas (P-2) foram as mais afetadas.

Para investigar o tipo, a frequência e a relação entre os estágios clínicos e lesões bucais presentes, Irova et al. (1993) avaliaram 147 crianças hospitalizadas, entre um e dez anos, contaminadas pelo HIV e divididas em grupos de acordo com a classificação do CDC (1987). Encontraram candidose pseudomembranosa em 12,5% (1/8) das crianças assintomáticas (P-1), 37,5% (51/136) nas sintomáticas (P-2); candidose eritematosa em 62,5% (5/8) das assintomáticas e 45,6% (62/136) das sintomáticas. As lesões bucais foram associadas aos estágios da infecção pelo HIV e aos

níveis de imunodeficiência, sendo que as manifestações bucais mais frequentes foram as infecções fúngicas.

Com o intuito de observar longitudinalmente pacientes imunocomprometidos, Ikeda et al. (1993), acompanharam 350 pacientes hemofílicos, sendo 120 deles crianças e destas, 42 eram portadoras do vírus HIV. Candidose bucal foi detectada em 16,66% (7/42) delas. Salientaram os autores que os sintomas bucais da AIDS aparecem mais precocemente na cavidade bucal e que o diagnóstico e tratamento precoce destas lesões são essenciais para prevenir o aumento dos sintomas físicos.

Com o objetivo de determinar os tipos e a frequência de lesões bucais em dois grupos, um com 21 crianças hemofílicas HIV positivas e outro com 11 crianças que receberam transfusões de sangue ou produtos derivados, cujas idades variaram de 8,5 a 18,5 anos, Milnes et al. (1993) realizaram uma revisão de seus prontuários (32). Encontraram candidose bucal em 43% (9/21) das crianças hemofílicas e em 43% (5/11) das crianças transfundidas. Leucoplasia pilosa foi observada em 29% (6/21) e 27% (3/11); úlceras aftosas em 19% (4/21) e 36% (4/11); gengivite relacionada ao HIV em 14% (3/21) e 9(1/11), respectivamente, considerando que estas lesões bucais são comuns em crianças hemofílicas portadoras do vírus HIV.

Em São Francisco, Ramos-Gomez et al. (1994), realizaram um estudo retrospectivo, com o intuito de verificar o tipo e a frequência das manifestações bucais, sua incidência e a significância prognóstica em 41 crianças de ambos os sexos, expostas ao vírus HIV, divididas quanto a forma de contágio. O grupo A (34), era composto de infectadas

verticalmente e o grupo B (7), infectadas através de transfusões. No grupo A, 91% apresentaram manifestações bucais (candidose pseudomembranosa em 76%; aumento da parótida em 32%) frente a 71% das do grupo B que também as apresentaram, sendo candidose pseudomembranosa, aumento da parótida e herpes simples as lesões mais comuns neste grupo. A média de contagem CD4+ foi de 980 cél/mm³ para o aparecimento da primeira lesão, com variação entre 138 a 3658 cél/mm³. As manifestações bucais possibilitaram estabelecer parâmetros para predizer a progressão da infecção pelo HIV em crianças.

Com o propósito de relacionar a prevalência das manifestações bucais aos parâmetros laboratoriais das funções imunes, foram longitudinalmente coletados por Chan et al. (1994), os dados dos prontuários de 33 crianças verticalmente expostas ao vírus HIV, entre um e 99 meses de idade. Ao final da revisão, doze crianças foram confirmadas como não infectadas. As manifestações bucais mais encontradas foram linfadenopatia cervical (54,5%), candidose pseudomembranosa (42,4%), aumento da glândula parótida (3%), e ulcerações (3%). Candidose bucal foi mais prevalente em crianças nos estágios sintomáticos da doença e significativamente associada a diminuição da contagem de células CD4+. A linfadenopatia cervical não pode ser estatisticamente associada aos estágios do CDC (1987), mas foi estatisticamente associada à diminuição do número de células CD4+.

Estudando 40 crianças infectadas verticalmente pelo HIV, com idade entre dois anos e um mês a onze anos e três meses, todas com infecção

sintomática (P-2), Valdez et al., (1994) procuraram conhecer os principais problemas bucais deste grupo. Todas as crianças estavam sendo medicadas com agentes antiretrovirais como zidovudina (AZT), dideoxinosina (ddl), AZT e ddl, AZT e dideoxicidina (ddC), ou 2-deoxi-3-tiacitidina (3TC ou Epivir). Gengivite foi encontrada em 47,5% (19/40) das crianças, seguida pela candidose bucal em 35% (14/40) delas, enquanto o aumento da glândula parótida foi observado em 10% (4/40).

Com a intenção de investigar o tempo do início de cada sintoma clínico em bebês e crianças com infecção perinatal pelo HIV-1, Galli et al. (1995), acompanharam 200 crianças desde o nascimento, observando que a média de idade para o aparecimento de qualquer sintoma foi de 5,2 meses. A linfadenopatia, esplenomegalia e hepatomegalia foram os sintomas mais comuns no primeiro ano de vida, sendo que quanto mais precoce a manifestação destes (antes de 5,2 meses) menor a média de sobrevivência. O baixo peso ao nascer, a contagem decrescente de células CD4+ e o início precoce dos sintomas foram preditivos de rápida progressão da doença. O aparecimento de cada uma das manifestação seria um auxiliar no diagnóstico, bem como na intervenção preventiva pelos tratamentos antiretrovirais.

No intuito de obter mais informações acerca das manifestações bucais na infecção pediátrica pelo HIV, Del Toro et al. (1995) examinaram 24 crianças infectadas, entre dois meses e 13,5 anos, contaminadas verticalmente e medicadas com drogas antiretrovirais. Sete crianças tinham infecção assintomática (P-1) e 17 tinham infecção sintomática (P-2). A

candidose bucal foi encontrada apenas em quatro crianças (16,7%) e o aumento da glândula parótida em uma (4,4%). Salientaram que a prevalência de manifestações bucais aumenta com a progressão da doença, sendo um aspecto comum na infecção perinatal pelo HIV.

Com o propósito de identificar fatores de risco para a ocorrência de lesões buco-faciais, bem como estabelecer estas lesões como indicadores prognósticos, preditores do desenvolvimento da AIDS, Ramos-Gomes et al. (1995), acompanharam por três anos, 433 crianças expostas verticalmente ao HIV. Detectaram candidose pseudomembranosa bucal em 16,40% (71/433) e aumento da glândula parótida em 2% (9/433) das crianças. A média de células CD4+ para crianças com candidose bucal foi de 1030 cel/mm³. Concluíram que as manifestações buco-faciais são comuns na infecção pediátrica pelo HIV, servindo como sinalizadores da doença, sendo a atenção inicial e a prevenção, essenciais a um melhor prognóstico.

Com uma outra visão Barasch et al. (1996), procuraram determinar a prevalência de lesões de tecidos moles bucais e correlacionar os dados aos valores sanguíneos encontrados nos prontuários de 78 crianças HIV+. Encontraram sessenta e três (59,4%) com lesões bucais, sendo gengivite ulcerativa necrosante a mais prevalente (19,8%), seguida da candidose pseudomembranosa (13,2%), gengivite (12,3%) e outras lesões com prevalência menor de 5%. As manifestações bucais foram observadas em pacientes com baixas contagens de células CD4+.

Visando avaliar a prevalência e o tipo de lesões bucais, Chiodo et al. (1996), estudaram 50 crianças entre dois meses e 11 anos, nascidas de

mães HIV+. Trinta e uma (62%) crianças eram HIV+, 11 (22%) eram expostas e 8 (6%) em sororeversão. Foram encontradas 43 lesões bucais, sendo candidose a mais prevalente (56%), seguida de gengivite (16%), leucoplasia pilosa (14%), aumento da parótida (9%) e úlceras (5%). As crianças em imunossupressão severa apresentaram mais lesões bucais, sendo que *Candida albicans* foi isolada em 12 crianças com candidose.

Procurando esclarecer a associação entre risco para complicações bucais e a progressão da doença na infecção pediátrica pelo HIV, Del Toro et al. (1996), avaliaram 28 crianças com idade entre dois meses e 13,5 anos, contaminadas verticalmente e que ingeriam drogas antiretrovirais por ocasião dos exames. Candidose pseudomembranosa foi a manifestação mais encontrada (5/28), seguida do aumento da parótida (1/28). Crianças sintomáticas tiveram uma ocorrência de manifestações bucais significativamente mais alta que as não sintomáticas, corroborando a observação de que a progressão da doença aumenta o risco para o desenvolvimento de manifestações bucais.

Investigando a prevalência de lesões de tecidos moles bucais em crianças infectadas pelo vírus HIV e sua relação com os níveis de linfócitos CD4+, Howell et al. (1996), estudaram 60 crianças de ambos os sexos, com média de idade entre $5,8 \pm 3$ anos, observando que uma contagem decrescente de linfócitos CD4+ (135 para 35 $\text{cél}/\text{mm}^3$) esteve associada com o aumento da severidade da doença gengival.

Com o intuito de comparar a prevalência de manifestações buco-faciais de tecidos moles em crianças infectadas verticalmente pelo HIV e em

um grupo controle sororevertido, Ramos-Gomes et al. (1996), revisaram os prontuários médicos de 492 crianças, registrando as seguintes lesões: candidose orofaríngea (OPC), aumento da glândula parótida e infecção pelo vírus herpes simples. Concluíram que OPC foi a manifestação bucal mais comum (67%), e pode ser considerada um marcador da progressão da doença; crianças infectadas são 15 a 25 vezes mais prováveis de desenvolver manifestações buco-faciais que as crianças não infectadas pelo HIV; a presença de manifestações bucais em crianças soropositivas menores de um ano de idade, quando combinada com outros indicadores como a contagem de células CD4+, é um significativo indicador do prognóstico e um fator crucial no planejamento das intervenções e tratamento.

Um grupo de 21 crianças portadoras de AIDS, com média de idade entre $54 \pm 33,6$ meses, foi acompanhado por Abati et al. (1996) por um período de 33 meses, no intuito de correlacionar presença de manifestações bucais e contagem de células CD4+. Dessas crianças, 15 (71,4%) apresentavam lesões bucais, sendo candidose pseudomembranosa a mais encontrada (13/15), seguida de queilite angular (3/15), leucoplasia pilosa (3/15), ulcerações aftosas (3/15) e candidose eritematosa (1/15). Das crianças com lesões bucais, 53,3% (8/15) apresentaram contagem de linfócitos CD4+ inferior a 500 cel/mm^3 , tendo sido a presença de lesões bucais associada a baixas contagens de CD4+ durante o período de acompanhamento.

Em pesquisa realizada com 80 crianças HIV+, Hernandez; Boj (1996), encontraram 75% delas com lesões bucais, sendo candidose a afecção mais prevalente (60%). Outras afecções foram: cáries múltiplas (50%), gengivite (20%), aumento da glândula parótida (20%), herpes simples (8%), doença periodontal (5%) e petéquias (5%). Salientaram que o desconhecimento paterno de estar infectado, além do longo período de incubação do vírus, podem resultar em muitos casos não diagnosticados de infecção perinatal e natal pelo HIV.

Na intenção de verificar a progressão das alterações bucais em crianças HIV+, bem como avaliar as relações entre o estado geral e a saúde bucal de pacientes com AIDS, Schoen et al. (1996), examinaram 134 crianças, sendo 76 HIV+ e 58 controles, com idade entre dois e 15 anos. A contagem de células CD4+ para o grupo HIV+ foi 547 cél/mm³, sendo que em 27% (20/76), a contagem foi menor que 200 cél/mm³, em 17% (13/76), entre 200 e 499 cél/mm³ e em 56% (43/76), acima de 499 cel/mm³. Encontraram um maior percentual de eritema gengival linear em crianças com contagens de CD4+ abaixo de 200 cel/mm³, sugerindo haver relação entre o estado geral e a saúde bucal em crianças HIV+, e que o decréscimo na contagem de células CD4+ aumentaria o risco para doenças bucais.

Visando determinar a prevalência de linfadenopatia cérico-facial (LCF), bem como a sua relação com o grau de imunossupressão (% CD4+) e a ocorrência de manifestações bucais, Bundzman et al. (1996), examinaram 46 crianças entre dois e 12 anos. Observaram uma prevalência de 67.4% de LCF, das quais 17,4% (8) correspondiam a linfonodos cervicais,

6,5% (3) submentonianos e 60,9% (28) submandibulares. Das crianças examinadas, 61,3% apresentavam linfadenopatia e imunossupressão severa e 19,4%, linfadenopatia e supressão moderada. A candidose foi a lesão mais associada com a LCF (29%) seguida da gengivite (25,8%), mas sem significância estatística. Concluíram ser a presença da linfadenopatia cérvico-facial um sintoma inespecífico, relacionado diretamente com o grau de imunossupressão.

Correlacionando os valores de CD4+, a relação T4/T8 e os estágios clínicos da infecção pelo HIV com a prevalência da candidose em 55 crianças HIV+, de ambos os sexos, com idade entre dois e 14 anos e em um grupo controle, Santos et al. (1996), observaram que a candidose predominou nos pacientes com imunossupressão severa (P-2). A candidose pseudomembranosa foi mais freqüente (71%) no grupo HIV+, não tendo sido encontradas diferenças significativas entre as médias do percentual CD4+ e tipos de candidose.

Avaliando as medidas preventivas e terapêuticas num programa de saúde bucal envolvendo 100 crianças expostas ao HIV, Ferguson et al. (1997), confirmaram 41 crianças portadoras de AIDS, apresentando aumento da glândula parótida em 44%, e candidose em 39,5% com apenas 5% apresentando ambas as manifestações.

No intuito de determinar a relação entre portadores de fungos na cavidade bucal e má nutrição em crianças expostas ao vírus HIV, Scheutz et al. (1997), realizaram esfregaços de mucosa bucal em 882 crianças entre 18 meses e cinco anos, sendo 14 delas soropositivas (1,6%) para o HIV.

Observaram nesses pacientes ambulatoriais, freqüência maior de fungos nas crianças mal nutridas infectadas pelo HIV, sendo que o gênero *Candida* foi predominante.

Com o objetivo de determinar as infecções bucais bacterianas e fúngicas mais freqüentes em crianças hospitalizadas com AIDS, identificar os patógenos causadores destas infecções, e investigar a possibilidade de transmissão hospitalar destes patógenos potenciais, Makarova et al. (1997), realizaram coletas com "swabs" da pele, boca e nariz, de 95 crianças (média de idade 2.6 ± 0.2 anos), algumas de suas mães (12) e enfermeiras (11), bem como de brinquedos, paredes, assoalho, utensílios e móveis do hospital. As infecções bucais foram as mais prevalentes nestas crianças, havendo 37% (35/95) no exame de admissão, mas a prevalência diminuiu com o aumento da incidência de outras infecções. *Candida albicans* foi o microrganismo mais prevalente (25,0 %), seguido do *Staphylococcus aureus* (19,0 %) e *Escherichia coli*. As mãos das mães (83%) e das enfermeiras (27%), bem como 33% dos objetos hospitalares examinados estavam contaminados por estes microrganismos, sugerindo a transmissão hospitalar dos mesmos.

Verificando a freqüência de manifestações bucais em tecidos moles e sua relação com graus de imunossupressão, Santos et al. (1997), avaliaram 80 crianças HIV+, de ambos os sexos, entre dois e 12 anos. Dessas, 62,5% não apresentaram manifestações bucais e 37,5% apresentaram pelo menos uma manifestação. Encontraram candidose pseudomembranosa (22,5%), seguida de gengivite (17,5%), aumento da glândula parótida (8,8%), herpes

simples e leucoplasia pilosa (1,3%), relacionadas a imunossupressão severa e moderada, podendo sugerir uma relação entre presença de manifestações bucais e a progressão da infecção pelo HIV.

Um estudo transversal realizado em 41 crianças com anticorpos anti-HIV detectados por ELISA e Western Blot, com idades entre quatro meses e 12 anos, internadas no Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, comparando-as à crianças sem risco para AIDS foi desenvolvido por Costa et al. (1998). Linfadenopatia cervical (53,7%), seguida de candidose pseudomembranosa (22%), e queilite angular (9,8%) foram observadas, bem como aumento da glândula parótida (7,3%), candidose eritematosa (4,9%) e ulcerações (4,9%).

Com o intuito de comparar a evolução clínica e imunológica em 25 crianças HIV+ que apresentaram lesões bucais ao exame inicial em 37 crianças que não apresentaram lesão, Castro et al. (1998), observaram que 44% das crianças do primeiro grupo evoluíram para o óbito, frente a 13,5% do segundo grupo. Entre as crianças do grupo com lesão que manifestaram candidose, 79% (14/25) evoluíram para o óbito. Concluíram que em crianças que apresentaram manifestações bucais, principalmente candidose, a infecção pelo HIV progrediu mais severa e rapidamente.

Avaliando a prevalência de fungos em saliva não estimulada de 38 crianças expostas ao vírus HIV (27 infectadas e 11 soroconvertidas), Hicks et al. (1998), detectaram fungos em 19% das crianças infectadas e em 9% das não infectadas. Os fungos foram mais freqüentes nas crianças

infectadas em supressão severa (27%) e moderada (18%), e associados a crianças em terapia antiretroviral (22%).

Com o objetivo de avaliar a frequência de lesões bucais em crianças HIV+ em vários períodos de tempo, Castro et al. (1998), pesquisaram 236 prontuários com registro das lesões encontradas. Candidose pseudomembranosa foi a lesão mais prevalente, seguida do aumento da glândula parótida, gengivite, herpes labial leucoplasia pilosa e eritema linear gengival. Observaram uma diminuição na frequência das manifestações bucais, principalmente candidose pseudomembranosa, apesar do aumento do número de crianças atendidas, tendo sido atribuída à terapia combinada de medicamentos, que poderia melhorar o prognóstico da doença.

Fugindo a ordem cronológica habitual, vamos reunir os trabalhos que fizeram revisões da literatura, tendo em vista a semelhança das conclusões encontradas e a convergência de opiniões.

Revedo a literatura sobre as crianças com imunodeficiências, Leggott et al. (1987), salientaram que as imunodeficiências primária, adquiridas ou resultantes de terapias imunossupressivas tem profundos efeitos sobre os tecidos bucais. Manifestações bucais significantes foram evidenciadas na dependência da natureza das alterações imunológicas das crianças. Candidose bucal e esofágica, ulcerações aftosas e infecções herpéticas, estariam associadas a desordens nas células T. Consideraram candidose a lesão bucal mais comum em pacientes imunodeficientes, sendo *Candida albicans* o microrganismo responsável por esta lesão em 30 a 50% dos imunodeprimidos.

Leggott (1993), salienta que nas crianças contaminadas pelo vírus HIV, o período de incubação da doença é mais curto e as manifestações, incluindo as lesões bucais, ocorrem mais cedo que nos adultos, lembrando-se que as lesões bucais estão associadas a infecção pelo HIV. Estas podem ser classificadas em fúngicas, virais, bacterianas e idiopáticas, sendo candidose bucal a infecção fúngica mais observada, ocorrendo em 75% dos casos, tendo valor preditivo para o prognóstico da doença. O aumento da glândula parótida tem sido associado a um melhor prognóstico. Outras manifestações bucais relacionadas a esta infecção incluem herpes simples, leucoplasia pilosa e gengivite associada ao HIV. O diagnóstico precoce das lesões bucais é componente importante no diagnóstico e manejo de crianças com AIDS.

Numa revisão da literatura sobre AIDS pediátrica, forma de contágio e suas manifestações bucais, Ceccotti (1995), salientou que a placenta não está completamente desenvolvida até o terceiro mês de gestação e que neste período, o feto está desprotegido. Lembrou ainda que a infecção no feto depende do momento em que se produz o contágio. Se o contágio acontecer no período inicial da infecção materna, a placenta não está desenvolvida, a viremia é maior e a infecção no feto é mais provável. Se durante a gestação, a mãe tornar-se portadora de AIDS, ou ainda, se a gestação ocorre em etapas avançadas da doença, a quantidade de vírus no sangue favorece o contágio fetal. Reavalia as manifestações bucais em crianças, observando que em 95% destas as infecções micóticas são mais prevalentes (75%), sendo a candidose esofágica encontrada em 20% delas.

Através uma revisão da literatura, Costa et al. (1996), salientaram as diferenças de aspectos da síndrome da imunodeficiência adquirida entre adultos e crianças, afetadas quando seu sistema imunológico está imaturo, sendo a transmissão do vírus predominantemente perinatal. Entre as manifestações bucais da AIDS, destacam a presença da candidose (4,0% a 71,7%) e o aumento da glândula parótida (2,1% a 71,4%). Concluem ser a candidose persistente e aumento da glândula parótida achados comuns, relacionados com a evolução e prognóstico da AIDS.

Revedo a literatura, Kline (1996), também salientou candidose como a manifestação bucal mais encontrada na infecção pediátrica pelo HIV, com prevalência entre 20 e 70%, seguida do aumento da parótida (11 e 47%). Ocorrendo principalmente em crianças sintomáticas, a candidose bucal freqüentemente é encontrada associada a baixa contagem de linfócitos CD4+, tendendo a ocorrer em crianças com idades mais precoces (média 2,4 anos) que o aumento da parótida (média 4,6 anos) ou a infecção pelo vírus herpes simples (média 5 anos). *Candida albicans* foi o microrganismo mais associado a candidose nos portadores do vírus HIV.

Enfocando a epidemiologia, imunopatogênese, características clínicas e classificação da infecção pelo vírus HIV, Chigurupati et al. (1996), realizaram uma revisão da literatura, dando ênfase as manifestações bucais, sua significância prognóstica, bem como as modalidades de tratamento. Concluíram ser a presença de lesões bucais de utilidade na profilaxia antivírus e na intervenção terapêutica, que os odontopediatras podem detectar precocemente as lesões bucais em seus pacientes, e deveriam

treinar pediatras para o diagnóstico destas lesões, devendo existir colaboração entre profissionais de saúde com relação às lesões bucais, parâmetros imunológicos, bem como na realização de terapia profilática para melhorar a qualidade de vida das crianças infectadas pelo HIV.

Com o objetivo de verificar as variações quantitativas e qualitativas na *microbiota* da cavidade bucal de pacientes durante tratamentos imunossupressivos, Sixou et al. (1996), realizaram uma revisão da literatura relativa a estes aspectos. Salientaram que as modificações quantitativas e qualitativas na flora bucal tem sido observadas em tratamentos de ordem local e/ou geral, e que espécies raramente encontrados ou encontradas em pequeno número em pessoas saudáveis, podem repentinamente passar a ser dominantes ao haver um desequilíbrio no ecossistema, lembrando a existência de 300 a 400 espécies de microrganismos detectáveis na cavidade bucal, e a presença de vários nichos de onde estes organismos podem ser coletados em uma mesma boca.

Através uma revisão da literatura, Ramos-Gomes (1997), analisou aspectos relevantes relacionados a infecção pelo HIV em crianças, como a prevenção da transmissão, a progressão da doença e as manifestações bucais encontradas, salientando o papel sinalizador destas manifestações frente o desenvolvimento da doença. Salientou ainda, a necessidade de estabelecer critérios diagnósticos universais para as manifestações da doença, bem como a implantação de programas preventivos mais efetivos.

Apresentando aspectos relevantes relacionados às candidoses bucais, Birman (1998), salientou a presença do gênero *Candida* e

principalmente da espécie *C.albicans*, encontrada como comensal entre 40 a 60% de portadores sadios. Em pacientes com AIDS, destacou o papel sinalizador das manifestações fúngicas bucais, cuja prevalência e severidade aumentam com o agravamento da imunossupressão, sendo importante para o prognóstico da doença.

Frente a escassez da bibliografia revisada em relação a trabalhos específicos quanto a análise da microbiota da cavidade bucal de pacientes pediátricos portadores do vírus HIV ou com AIDS, avaliamos alguns trabalhos relacionados a microbiota bucal, realizados em crianças saudáveis e imunossuprimidas por outras doenças, para fins de embasamento em pediatria.

Com o intuito de pesquisar a presença de *Candida* bucal, Berdicevsky et al. (1984), examinaram 140 crianças saudáveis entre três e doze anos, de ambos os sexos, divididas em dois grupos: no jardim de infância (58) e na escola primária (82). Foram coletadas amostras de saliva não estimulada e semeadas em ágar Sabouraud. No grupo 1, 45% eram portadores de *Candida albicans*, enquanto no grupo 2, 65% eram portadores. A diferença entre os dois grupos foi significativa, mas não houve diferenças entre os sexos. Concluíram haver uma grande quantidade de crianças portadoras de *Candida*, mas os fatores predisponentes permanecem obscuros.

Estudando a microbiota bucal em 32 crianças hospitalizadas, sendo 16 com leucemia e sob antibioticoterapia e 16 com outras doenças, compondo o grupo controle, Galili et al. (1992), procuraram correlacionar os

microrganismos encontrados ao estado geral dos pacientes, através a realização de culturas e exames de sangue. Em 93,7% dos pacientes com leucemia (15/16), observaram culturas positivas para enterobactérias, frente a prevalência de apenas 18,7% (3/16) no grupo controle. Observaram redução do número de glóbulos brancos e presença de úlceras bucais. Concluíram não haver mudanças no quadro das enterobactérias, mesmo em face do uso de antibióticos efetivos contra Gram negativos, sendo *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* as bactérias mais observadas.

Com o propósito de estudar a real prevalência das chamadas estomatites e analisar a microbiota bucal em relação a bactérias, fungos e vírus, Gatti et al. (1994), examinaram 90 crianças de ambos os sexos, na faixa etária de seis meses a 11 anos, que compareceram ao Hospital Universitário e Hospital Infantil Darcy Vargas em São Paulo, para atendimento médico de variadas etiologias, comparados a um grupo controle sadio. As lesões múltiplas ou disseminadas na mucosa bucal não estavam associadas a processos infecciosos gerais, sendo que as lesões bucais compatíveis com infecção viral do tipo herpética foram as mais encontradas. A microbiota bacteriana não revelou diferenças significativas nas bactérias Gram positivas entre os dois grupos de crianças. *Candida sp* e *Candida albicans* predominaram na microbiota fúngica.

No intuito de avaliar qualitativamente a microbiota bucal fúngica e bacteriana e as manifestações bucais em crianças com leucemias agudas, antes e durante a quimioterapia, comparando a um grupo controle

cl clinicamente sadio, Gonçalves et al. (1997), examinaram 30 crianças entre dois meses e 16 anos de idade. Encontraram maior prevalência de *Candida albicans* no grupo de crianças leucêmicas com e sem quimioterapia; o grupo sob quimioterapia apresentou maior seletividade para *C. albicans*; o grupo de crianças que não estava sob tratamento apresentou maior variabilidade de espécies; e os níveis de *C. albicans* no grupo controle foram semelhantes ao dos pacientes sob quimioterapia. Não observaram diferenças significativas entre bactérias Gram negativas e Gram positivas, havendo o grupo controle apresentado maior tendência para Gram negativas. Em relação às manifestações bucais, observaram maior variabilidade de alterações inespecíficas em todas as crianças com leucemia. Não pode ser caracterizado um padrão específico em relação a microbiota fúngica e bacteriana com as manifestações bucais nas crianças da amostra.

A análise da revisão da literatura permitiu observar o grande vazio em relação aos outros aspectos relacionados a cavidade bucal de crianças HIV+ ou com AIDS, como a microbiota, tendo em vista a frequência de manifestações buco-faciais como as candidoses e por outro lado, a ausência de informações sobre o papel das bactérias e fungos neste quadro clínico.

3. PROPOSIÇÃO

Analisando a literatura atual ao nosso alcance, em relação a AIDS infantil, propusemo-nos a avaliar as manifestações buco-faciais de crianças portadoras, bem como estudar qualitativamente a microbiota bucal bacteriana e fúngica e sua freqüência, frente a controles clinicamente sadios e sem história de fatores de risco associada. Visando um melhor conhecimento da ação fúngica, dada a importância do gênero *Candida*, procuramos analisar os níveis de produção enzimática representados pela proteinase e fosfolipase, bem como a suscetibilidade dos fungos isolados frente um grupo de cinco antifúngicos.

4. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

CASUÍSTICA:

Entre os pacientes regulares do setor de Infectologia do Ambulatório de Pediatria da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo-SP, foram avaliadas crianças expostas verticalmente ao vírus HIV. Os fatores de inclusão foram: crianças de ambos os sexos, com idade entre dois e seis anos completos, nascidas de mães portadoras do vírus HIV, com anticorpos anti-HIV detectados pelos testes ELISA e Western Blot após 15 meses de idade, havendo em seus prontuários, dados atualizados da contagem de células CD4+ e CD8, bem como a medicação utilizada, tratados e acompanhados em ambulatório. Obedecendo a estes critérios, foram selecionadas 30 crianças sintomáticas, portadoras de AIDS, de acordo com a classificação do Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 1994). Estas crianças faziam uso constante e regular de medicamentos como sulfametoxazol + trimetropina (Bactrin), e agentes antiretrovirais como zidovudina (AZT), dideoxinosina (ddl), e/ou 2-deoxi-3-tiacitidina (3TC ou Epivir).

Foi incluído na pesquisa, um grupo controle constituído por 30 crianças, pareadas por idade e sexo aos componentes do grupo com AIDS,

assintomáticas por ocasião do exame , não transfundidas, e cujas mães não tivessem o vírus HIV durante a sua gestação, alunas do Centro Escolar de Educação Infantil Biquinho - São Paulo-SP. Como pré-requisito, os componentes do grupo controle não poderiam ter utilizado qualquer tipo de antibiótico há pelo menos 15 dias antes, nem qualquer outro tipo de medicamento na véspera ou no momento do exame.

A comissão de ética da Santa Casa de Misericórdia previamente contatada, autorizou a realização do projeto (ANEXO 1). Os pais e/ou responsáveis dos componentes dos grupos com AIDS e controle (Gráfico 1) foram previamente informados dos objetivos, procedimentos, possíveis desconfortos ou riscos, bem como dos prováveis benefícios deste trabalho e também autorizaram a participação das crianças neste estudo (ANEXO 2). Após a obtenção do consentimento dos pais e/ou responsáveis foi realizado a pesquisa, constituída de anamnese, exames extra e intra bucais e coleta do material.

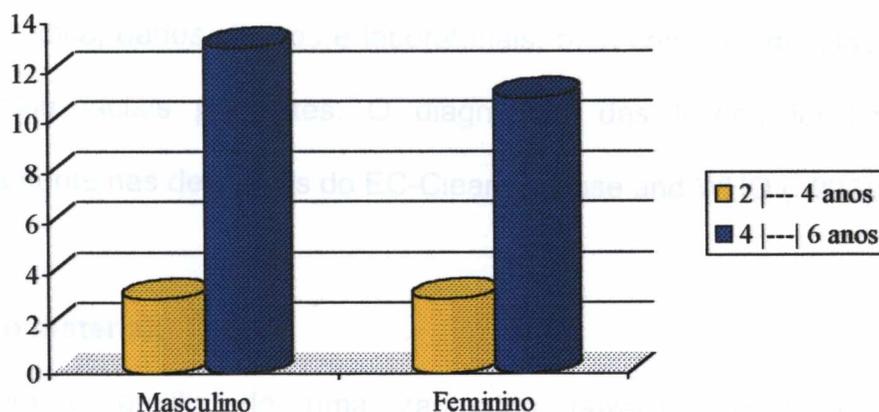


Gráfico 1. Distribuição dos grupos com AIDS e controle, por faixa etária e sexo.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos clínicos

O exame clínico, realizado no ambulatório de Pediatria da Santa Casa de Misericórdia, sob luz artificial, constou de exame extra bucal (inspeção visual e palpação da região cérvico-facial) e exame intra bucal. Inicialmente era efetuada a inspeção visual da face do paciente, observando-se a presença de gânglios infartados e/ou aumento de volume das glândulas parótidas, bem como a presença de lesões faciais. Em seqüência, era realizada a palpação da região da cabeça e pescoço, pesquisando a rede ganglionar e as glândulas parótidas. Utilizando-se espátulas de madeira para o afastamento dos lábios, era então efetuado o exame intra bucal, sendo anotadas as características de lesões presentes em relação a forma, aspecto, se isoladas ou múltiplas, extensão e localização, bem como seu diagnóstico clínico. Todos os procedimentos clínicos foram realizados por um único examinador previamente treinado, sendo o registro efetuado em fichas próprias (ANEXO 3), elaboradas para anotar as informações pessoais, história médica, dados clínicos e laboratoriais, bem como as manifestações bucais e/ou faciais presentes. O diagnóstico das lesões foi baseado exclusivamente nas definições do EC-Clearinghouse and WHO (1993).

Coleta do material:

Com o auxílio de uma zaragatoa (swab) alginatada estéril, previamente umedecida em solução salina também estéril, foram realizados movimentos circulares e de rotação no fundo de sulco superior e inferior,

assoalho da cavidade bucal e/ou língua de cada criança, obedecendo sistematicamente a mesma seqüência. A zaragatoa com o material coletado para a pesquisa da microbiota bacteriana, era imediatamente colocada em tubo de ensaio contendo meio de Stuart (especial para transporte), próximo a chama de uma lamparina, o tubo identificado e encaminhado ao laboratório de Bacteriologia, do Instituto das Químicas da Universidade de São Paulo-SP, num prazo máximo de três horas (ANEXO 4).

Utilizando-se uma segunda zaragatoa alginatada estéril, previamente umedecida em solução salina estéril, eram novamente realizados movimentos circulares e de rotação, obedecendo a seqüência descrita anteriormente, visando a coleta de material para avaliação da microbiota fúngica. O material coletado era imediatamente semeado junto a chama de uma lamparina, em placa de Petri contendo ágar Sabouraud-dextrose* acrescido de 100 µg/ml de cloranfenicol**. A placa de Petri semeada era identificada e separada para transporte, sendo encaminhada ao laboratório de Micologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo-SP, num prazo de três a cinco horas.

PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Bacteriologia:

As amostras coletadas foram submetidas a coloração de Gram e posteriormente semeadas nos meios de ágar sangue, ágar chocolate e ágar

* Difco Laboratories

**Cloromicetina Park Davis Lab.

McConkey, segundo a metodologia preconizada pelo Manual of Clinical Microbiology (1991).

As bactérias anaeróbicas facultativas isoladas foram identificadas segundo a descrição de Holt et al. (1994). Os meios de ágar sangue e ágar chocolate foram incubados em 2-3% de CO₂ em jarra com vela, por 18 a 24 horas.

Foram empregadas as provas bioquímicas de catalase negativa, produção de coagulase, Dnase e sensibilidade à Novobiocina para a identificação preliminar das bactérias do gênero *Staphylococcus*, sendo que para as bactérias do gênero *Streptococcus*, foram empregadas a produção de catalase, produção de hemólise α , β ou γ em ágar sangue, sensibilidade à optoquina e a bacitracina, sulfametoxazol-trimetropin, crescimento em NaCl 6,5%, hidrólise do hipurato, Camp teste e crescimento em bile-esculina.

A identificação de enterobactérias foi realizada mediante o emprego das provas de desaminação da fenil-alanina, citrato, malonato, descarboxilação da lisina, ornitina e arginina, produção de indol, motilidade, Voges-Proskauer, vermelho de metila, gás de glicose, hidrólise da uréia e produção de gás sulfídrico.

Foram empregadas provas do satelitismo e as provas do fator de crescimento V, X, VX, para a identificação das bactérias do gênero *Haemophilus*.

Para a identificação das espécies do gênero *Neisseria*, foram utilizadas as provas de produção de oxidase, produção de catalase e

fermentação de carboidratos (glicose, maltose, lactose e xilose), redução do nitrato e nitritos, crescimento em ágar simples e produção de gás sulfídrico.

Na identificação de bacilos Gram negativos não fermentadores, foram empregadas as provas: produção de oxidase, produção de nitrogênio gasoso, de piocianina, de indol, de gás sulfídrico, crescimento à 42° C, crescimento em meio de acetamida, hidrólise da esculina, uréia, DNA, Orto-Nitro-Galacto-Piranosídeo (ONPG), oxidação de: glicose, xilose, manitol, lactose, maltose e crescimento em ágar McConkey.

Micologia

As placas contendo o material coletado foram incubadas em estufas a 25°C, por um período de até 15 dias. Após crescimento, as colônias foram contadas e selecionadas segundo cor, tamanho, consistência, superfície, bordas, brilho e topografia, efetuando-se então o repique em tubos de ensaio número 16, contendo ágar Sabouraud-dextrose acrescido de 100µg/ml de cloranfenicol. Somente as colônias leveduriformes foram selecionadas e identificadas mediante pesquisa de tubo germinativo, estudo da micromorfologia (microcultivo), características fisiológicas com relação a assimilação de carbono e nitrogênio (auxanograma), fermentação de açúcares (zimograma) e provas de produção de exoenzimas (proteínase e fosfolipase), segundo os métodos preconizados por Lodder (1970) e Kreger-Van Rij (1984), através do protocolo utilizado para identificação de leveduras

da Seção de Micologia do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo-SP (ANEXO 5).

As amostras produtoras de proteinase e fosfolipase, bem como as cepas padrão, produzem uma zona opaca de precipitação tanto para a proteinase como para a fosfolipase ao redor do ponto de inoculação. A atividade enzimática (Pz) foi obtida através da razão entre o diâmetro da colônia (dc) e o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação (dcp), segundo Price et al., 1982, como indicado no Quadro 1.

Quadro 1. Valores para o cálculo da atividade enzimática

Pz = diâmetro da colônia/ diâmetro da colônia + zona de precipitação	Atividade enzimática (Pz)
$Pz = 1,00$	- (ausência de atividade)
$Pz = > 0,64 < 1,00$	+ (atividade positiva)
$Pz < 0,64$	+++ (atividade fortemente positiva)

Antifungigrama

As culturas do gênero *Candida*, foram submetidas a testes para verificar sua suscetibilidade indicada pela concentração inibitória mínima (CIM), frente a cinco antifúngicos, sendo um derivado poliênico (anfotericina B), um pirimidínico (5-fluorocitosina), dois triazólicos (fluconazol, itraconazol) e um imidazólico (cetoconazol), pelo método ETEST*, seguindo a técnica preconizada pelo fabricante. O meio utilizado foi o "Yeast Nitrogen Base", Difco (6,7g/l), acrescido de glicose (10,0g/l) e ágar (15,0g/l), seguindo-se a metodologia apropriada em relação aos testes com as fitas, permitindo-se estabelecer o valor da Concentração Inibitória Mínima (CIM) como a menor

* AB BIODISK

concentração da droga na qual a borda da zona de inibição da elipse interceptou a escala nas fitas plásticas do ETEST, que contém gradientes de concentração do antifúngico pré-definido e contínuo, que varia de 0,002 a 32,0 µg/ml, com exceção do fluconazol, que possui taxas de 0,016 a 256,0 µg/ml, permitindo assim, uma leitura quantitativa do antifungigrama.

Os resultados do ETEST são analisados segundo o critério de que valores obtidos no estudo devem ser comparados aos níveis séricos atingidos por essas drogas, segundo Thornsberry; Sabath (1985). São considerados resistentes os isolamentos que apresentaram CIM $\geq 2\mu\text{g/ml}$ para anfotericina B, $\geq 64\mu\text{g/ml}$ para 5-fluorocitosina e $\geq 8\mu\text{g/ml}$ para os derivados azólicos (cetoconazol, fluconazol e itraconazol).

Foi realizado tratamento estatístico, utilizando-se o teste do Qui-Quadrado (χ^2) frente o grau de imunossupressão. Em relação às bactérias, foram utilizados os testes do Qui-Quadrado e de Proporção. Em relação aos fungos isolados, foram utilizados os teste do Qui-Quadrado, de Mann-Whitney para proteinase e fosfolipase, e o teste de Kruskal-Wallis para os antifúngicos analisados.

5. RESULTADOS

A Tabela 1 mostra a distribuição do grupo com AIDS por faixa etária e sexo, e nela podemos observar uma ligeira predominância do sexo masculino, 53,33% (16/30) sobre o feminino, 46,67% (14/30). A faixa etária mais numerosa, foi a com crianças entre quatro anos completos e seis anos incompletos, sendo 13 do sexo masculino, e 11 do feminino, seguida da faixa de dois a quatro anos, num total de seis crianças, sendo três do sexo masculino e três do feminino.

A distribuição do grupo controle foi semelhante, tendo em vista o pareamento por idade e sexo ao grupo com AIDS.

Tabela 1. Distribuição do grupo com AIDS, por faixa etária e sexo.

Faixa etária	Masculino	Feminino	Total
2 — 4	3	3	6
4 — 6	13	11	24
Total	16	14	30

A distribuição das crianças com AIDS por idade e contagem de células CD4+, de acordo com os índices preconizados pelos Centers for Diseases Control (CDC, 1994) são apresentados na Tabela 2. Não foram

encontradas crianças na faixa ausência de supressão (≥ 1000 cél/mm³); na faixa da supressão moderada (500 - 999 cél/mm³), foram encontradas 33,33% (10/30) e na faixa da supressão severa (< 500 cél/mm³), 66,67% (20/30), não sendo esta diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 2.11$).

Tabela 2. Distribuição das crianças com AIDS, por faixa etária e contagem de células CD4+.

Faixa etária	Ausência de supressão ≥ 1000	Supressão moderada 500-999	Supressão severa < 500	Total
2 — 4 anos	—	4	2	6
4 — 6 anos	—	6	18	24
Total	0	10	20	30

5.1. Manifestações buco-faciais

No Gráfico 2, apresentamos o total de manifestações buco-faciais encontradas nas 30 crianças componentes do grupo com AIDS, sendo que 13,33% (4/30) das crianças apresentavam três manifestações; 16,66% (5/30) apresentavam duas, 40% (12/30) apresentavam uma, e 30% (9/30) não apresentaram manifestações. Em relação aos tipos de manifestações buco-faciais, 40% (12/30) das crianças apresentaram linfadenopatia cervico-facial; 33,33% (10/30) gengivite inespecífica; 23,33% (7/30) candidose; 13,33% (4/30) aumento da glândula parótida, sendo as ulcerações representadas por 3,33% (1/30).

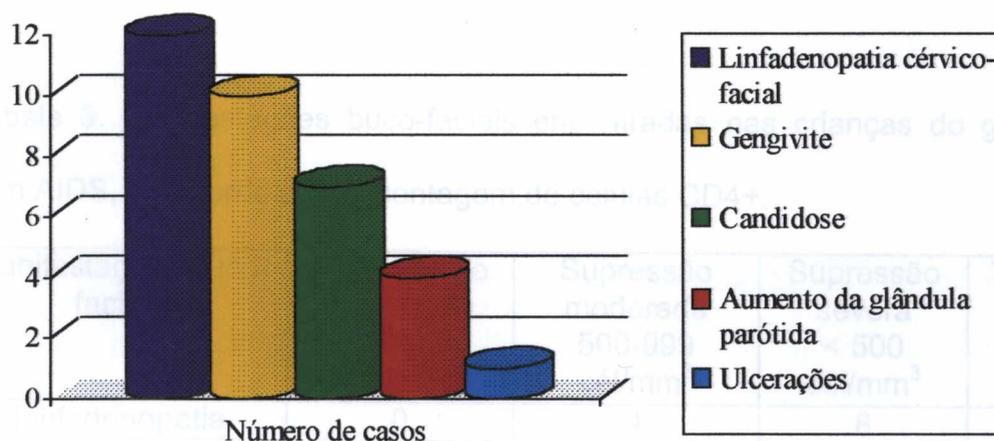


Gráfico 2. Manifestações buco-faciais detectadas nas crianças do grupo com AIDS.

Na Tabela 3, podemos observar as lesões buco-faciais, distribuídas em 35,30% (12/34) linfadenopatia cérvico-facial; 29,41% (10/34) gengivites; 20,58% (7/34) candidoses; 11,76% (4/34) aumentos da glândula parótida e 2,94% (1/34) ulcerações. Das 12 crianças com linfadenopatia, 33,33% (4/12) estavam em supressão moderada, e 66,67% (8/12) em supressão severa.

As crianças com gengivite estavam mais distribuídas dentro da amostra, 40% (4/10) em supressão moderada enquanto 60% (6/10) encontravam-se em supressão severa. Em relação a candidose, observamos sete casos assim distribuídos: 28,57% (2/7) em supressão moderada, 71,43% (5/7) em supressão severa, não havendo nenhum caso em ausência de supressão. O aumento da glândula parótida foi observado num total de quatro casos assim

distribuídos: 25% (1/4) em supressão moderada e 75% (3/4) em supressão severa, enquanto as ulcerações somente foram observadas em supressão severa.

Tabela 3. Manifestações buco-faciais encontradas nas crianças do grupo com AIDS, de acordo com a contagem de células CD4+.

Manifestações buco-faciais	Ausência de supressão ≥ 1000 cél/mm ³	Supressão moderada 500-999 cél/mm ³	Supressão severa < 500 cél/mm ³	Total
Linfadenopatia	0	4	8	12
Gengivite	0	4	6	10
Candidose	0	2	5	7
Aumento da parótida	0	1	3	4
Ulcerações	0	0	1	1
Total	0	11	23	34

5.2. Bactérias

As bactérias encontradas em ambos os grupos estudados, foram isoladas de acordo com o gênero e a espécie. No grupo de crianças com AIDS, 55 culturas foram positivas para cocos Gram positivos, seis para bacilos Gram positivos, e 23 para cocos Gram negativos. No grupo controle, 35 amostras foram positivas para cocos Gram positivos e quatro para bacilos Gram positivos, enquanto 41 foram positivas para cocos Gram negativos (Tabela 4).

Tabela 4. Amostras positivas para bactérias, isoladas da cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle, de acordo com gênero e coloração em Gram.

Bactérias	AIDS	Controle
Cocos Gram positivos	55	35
Bacilos Gram positivos	06	04
Cocos Gram negativos	23	41

As crianças do grupo com AIDS apresentaram mais cocos Gram positivos e menos cocos Gram negativos frente as do grupo controle ($\chi^2 = 9.48$; $p = 0.0021$), sendo o χ^2 fortemente significativo. Em relação aos bacilos, não existiu diferença estatisticamente significativa entre as crianças do grupo com AIDS e controle.

Entre as bactérias Gram positivas isoladas do grupo com AIDS, foram encontradas 46,66% (14/30) amostras positivas para *Streptococcus mitis*, 20% (6/30) para *Streptococcus sanguis*, 16,66% (5/30) para *Streptococcus não hemolítico não do grupo D*, 13,33% (4/30) para *Streptococcus salivarius*, 10% (3/30) para *Streptococcus α hemolítico do grupo viridans*, 6,66% (2/30) para *Streptococcus sp*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus mutans*, 3,33% (1/30) para *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus anginosus*, 23,33% (7/30) para *Staphilococcus sp*, 20% (6/30) para *Staphilococcus saprophyticus*, 6,66% (2/30) para *Staphylococcus aureus* e 3,33% (1/30) para *Bacilos do tipo differóide*.

No grupo controle, as bactérias Gram positivas isoladas estavam distribuídas em 46,66% (14/30) amostras positivas para *Streptococcus mitis*, 16,66% (5/30) para *Streptococcus sanguis*, 6,66% (2/30) para

Streptococcus não hemolítico não do grupo D, 23,33 % (7/30) para *Streptococcus salivarius*, 13,33 (4/30) para *Streptococcus mutans*, 6,66% (2/30) para *Streptococcus anginosus*, 3,33% (1/30) para *Staphilococcus saprophyticus* e 13,33 % (4/30) para *Bacilos do tipo differóide* (Gráfico 3).

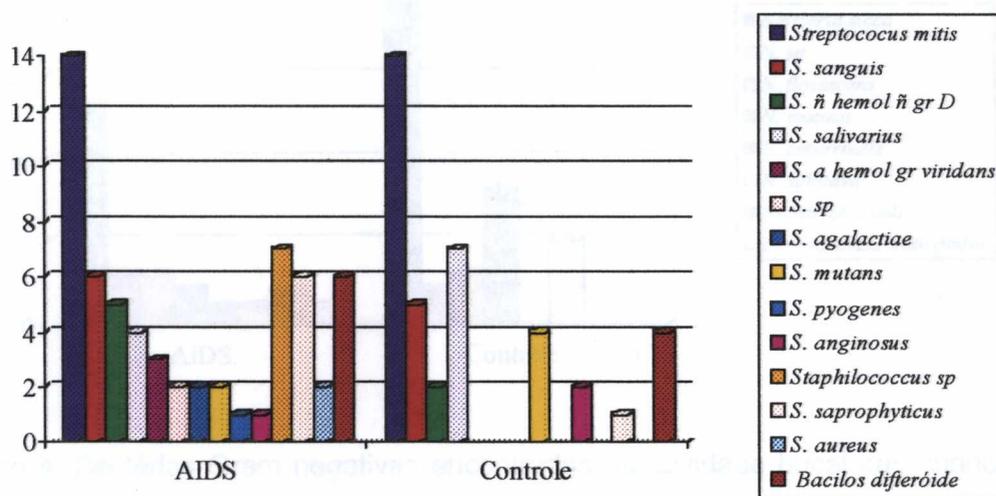


Gráfico 3. Bactérias Gram positivas isoladas na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle, de acordo com gênero e espécie.

Em relação às bactérias Gram negativas, no grupo com AIDS foram encontradas 43,33% (13/30) de amostras positivas para *Neisseria sicca*, 10% (3/30) para *Neisseria sp* e *Neisseria flavescens*, 6,66% (2/30) para *Neisseria mucosa*, 3,33% (1/30) para *Neisseria catarrhalis* e *Neisseria subflava*, 6,66% (2/30) para *Escherichia coli* e 3,33% (1/30) para *Pseudomonas maltophilia*. No grupo controle, 76,66% (23/30) amostras foram positivas para *Neisseria sicca*, 6,66% (2/30) para *Neisseria sp*, 10% (3/30) para *Neisseria flavescens*, 26,66% (8/30) para *Neisseria mucosa* e 16,66% (5/30) para *Neisseria subflava*. Não foram encontradas amostras

positivas para *Neisseria catarrhalis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas maltophilia* entre as crianças do grupo controle (Gráfico 4).

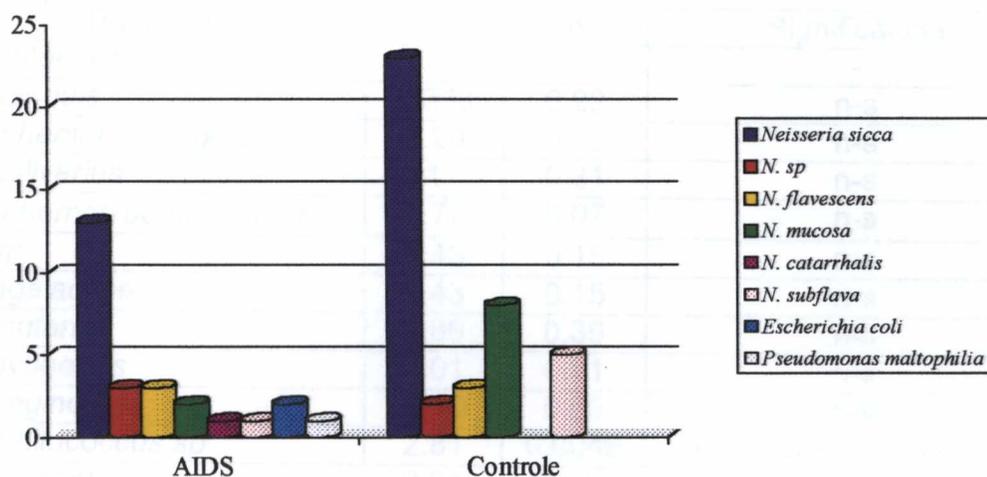


Gráfico 4. Bactérias Gram negativas encontradas na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle, de acordo com gênero e espécie.

Os resultados dos testes de proporções para identificação dos gêneros e espécies de bactérias que apareceram com maior frequência nos grupos estudados, estão descritos no Quadro 2. Neste mesmo quadro, podemos observar que a associação entre cocos Gram positivos e crianças com AIDS, demonstrada pelo teste Chi^2 , ocorreu face a maior proporção de *Staphylococcus* presentes no grupo com AIDS, o que é revelado agora pelo teste de Proporção.

Quadro 2. Níveis de significância da presença de bactérias isoladas na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle.

Bactérias	z	p	Significância
<i>Streptococcus mitis</i>	-	-	-
<i>S. sanguis</i>	0.333	0.22	n-s
<i>S. ñ hemol. ñ do gr. D</i>	1.20	0.22	n-s
<i>S. salivarius</i>	1	0.31	n-s
<i>S. α hemol. do gr. Viridans</i>	1.77	0.07	n-s
<i>S. sp</i>	1.43	0.15	n-s
<i>S. agalactiae</i>	1.43	0.15	n-s
<i>S. mutans</i>	0.86	0.39	n-s
<i>S. pyogenes</i>	1.01	0.31	n-s
<i>S. anginosus</i>	-0.59	0.55	n-s
<i>Staphilococcus sp</i>	2.81	0.0049	fortemente significativa
<i>S. saprophyticus</i>	2.01	0.022	significante
<i>S. aureus</i>	1.43	0.15	n-s
<i>Bacilos differóide</i>	0.69	0.48	n-s
<i>Neisseria sicca</i>	-2.63	0.0084	fortemente significativa
<i>N. sp</i>	0.46	0.64	n-s
<i>N. flavescens</i>	0.46	0.64	n-s
<i>N. mucosa</i>	-2.08	0.018	fortemente significativa
<i>N. catarrhalis</i>	1.01	0.31	n-s
<i>N. subflava</i>	-1.72	0.043	significante
<i>Escherichia coli</i>	1.43	0.15	n-s
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	1.01	0.31	n-s

5.3. Fungos

Das amostras coletadas nas crianças com AIDS, 83,33% (25/30) apresentaram resultados positivos para algum tipo de fungo. Foram identificadas 24 amostras positivas para *Candida albicans*, uma para *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*, sendo esta última associada a *C. albicans*. No grupo controle foram identificadas 11 amostras positivas para fungos, sendo duas positivas para *C. albicans*, quatro para *Candida*

guilliermondii, uma para *Candida lusitaniae*, duas para *Rhodotorula rubra*, uma para *Candida sp* e *Aureobasidium pullulans* (Gráfico 5). O grupo com AIDS apresentou menor variedade de fungos, identificados em um maior número de amostras positivas, enquanto no grupo controle foi encontrada maior variedade de fungos em um menor número de amostras positivas. O tratamento estatístico pelo χ^2 demonstrou ser altamente significativo ($\chi^2=7.89$, $p=0.005$), indicando uma forte correlação entre AIDS e a presença de fungos.

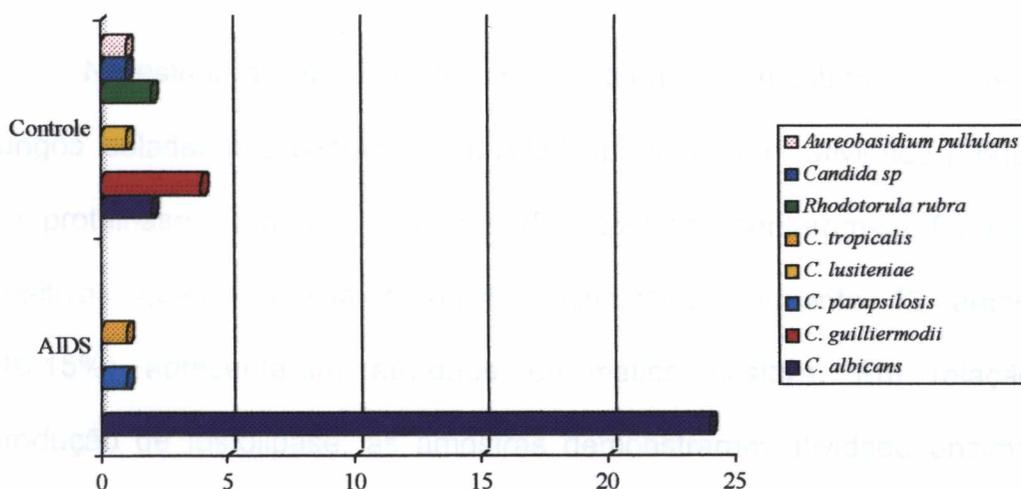


Gráfico 5. Fungos isolados na cavidade bucal das crianças dos grupos com AIDS e controle, por gênero e espécie.

A distribuição das espécies de *Candida* em crianças com AIDS por contagem de células CD4+ pode ser observada na Tabela 5. As culturas positivas para *Candida* estavam distribuídas em 34,61% (9/26) frente a supressão moderada e 57,69% (15/26) frente a supressão severa. Em face de supressão severa encontramos 3,85% (1/26) culturas positivas para

Candida parapsilosis e 3,85% (1/26) para *Candida tropicalis*, sendo esta em associação com *C. albicans*.

Tabela 5. Espécies *Candida* isoladas na cavidade bucal das crianças do grupo com AIDS, por contagem de células CD4+.

<i>Candida</i>	Ausência de supressão ≥ 1000 cél/mm ³	Supressão moderada 500-999 cél/mm ³	Supressão severa < 500 cél/mm ³
<i>C. albicans</i>	-	9	15
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	1
<i>C. tropicalis</i> *	-	-	1

* Associação a *C. albicans*

No estudo da atividade enzimática, todas as amostras positivas para fungos isoladas das crianças com AIDS apresentaram atividade produtora de proteinase. Quatorze amostras (53,85%) apresentaram-se fortemente positivas quanto a sua produção enzimática, enquanto 12 amostras (46,15%) apresentaram atividade enzimática positiva. Em relação a produção de fosfolipase, as amostras demonstraram atividade enzimática fortemente positiva em 96,15% (25/26), enquanto uma amostra (3,85%) apresentou apenas atividade positiva. Os resultados dos níveis de proteinase e fosfolipase encontrados em amostras das crianças no grupo com AIDS são apresentados na Tabela 6.

A produção enzimática das amostras positivas para fungos coletadas do grupo controle, indicou 33,33% (3/9) com atividade enzimática fortemente positiva na produção de proteinase, 44,44% (4/9) apenas com atividade positiva e 22,22% (2/9) das amostras com ausência de atividade enzimática. A produção de fosfolipase das amostras do mesmo grupo,

indicou 66,66% fortemente positiva em sua atividade enzimática e 33,33% com atividade enzimática positiva (Tabela 7).

Tabela 6. Níveis de produção de proteinase e fosfolipase das amostras de *Candida* isoladas na cavidade bucal das crianças do grupo com AIDS.

Amostras	Proteinase*	Atividade**	Fosfolipase*	Atividade**
01	0,61	+++	0,26	+++
02	0,83	+	0,16	+++
03	0,53	+++	0,26	+++
06	0,46	+++	0,22	+++
07	0,57	+++	0,26	+++
08	0,53	+++	0,15	+++
09	0,53	+++	0,27	+++
10	0,64	+	0,27	+++
11	0,68	+	0,23	+++
12	0,83	+	0,33	+++
12'	0,50	+++	0,18	+++
13	0,62	+++	0,31	+++
14	0,70	+	0,27	+++
15	0,44	+++	0,72	+
16	0,77	+	0,46	+++
17	0,67	+	0,33	+++
18	0,35	+++	0,24	+++
19	0,32	+++	0,25	+++
21	0,30	+++	0,28	+++
22	0,47	+++	0,34	+++
23	0,74	+	0,23	+++
26	0,77	+	0,33	+++
27	0,65	+	0,22	+++
28	0,50	+++	0,27	+++
29	0,71	+	0,40	+++
30	0,66	+	0,41	+++

*Zona de produção de enzima: é dada pelo quociente do diâmetro da colônia, pela soma do diâmetro da colônia com o halo de precipitação da enzima (Price et al., 1982)

**Atividade : + + + = atividade enzimática fortemente positiva; + = atividade enzimática positiva;

– = ausência de atividade enzimática.

Proteinase \bar{x} = 0.592, s = 0.149

Fosfolipase \bar{x} = 0.294, s = 0.113

Tabela 7. Níveis de produção de proteinase e fosfolipase das amostras de *Candida* isoladas na cavidade bucal das crianças do grupo controle.

Amostras	Proteinase*	Atividade**	Fosfolipase*	Atividade**
01	0,66	+	0,58	+++
02	0,20	+++	0,58	+++
09	0,81	+	0,50	+++
09'	0,36	+++	0,71	+
12	0,50	+++	0,83	+
13	0,83	+	0,36	+++
13'	1,00	-	0,50	+++
18	1,00	-	0,84	+
22	0,75	+	0,23	+++

* Zona de produção de enzima: é dada pelo quociente do diâmetro da colônia, pela soma do diâmetro da colônia com o halo de precipitação da enzima (Price et al., 1982)

** Atividade: +++ = atividade enzimática fortemente positiva; + = atividade enzimática positiva; - = ausência de atividade enzimática.

Proteinase $\bar{x} = 0.679$, $s = 0.277$

Fosfolipase $\bar{x} = 0.570$, $s = 0.203$

A análise estatística (Teste de Mann-Whitney) não detectou diferença significativa dos níveis de proteinase entre os dois grupos ($U = 149.5$; $U' = 8$; $p = 0,2275$), e em relação aos níveis de fosfolipase, indicou ser esta no grupo controle maior que a do grupo com AIDS ($U = 205$; $U' = -47.5$; $p = 0.0004$). O teste "t" de Student não foi aplicado devido a diferença entre o tamanho das amostras, que acarretou em diferentes padrões de variabilidade.

A análise do teste de suscetibilidade aos antifúngicos, demonstrou que algumas cepas se apresentaram resistentes, não tendo sido observada a formação do característico halo de inibição. As leituras da CIM para cada antifúngico testado com cepas de *Candida* foram baseadas na formação do halo de inibição.

A menor CIM encontrada para anfotericina B foi de 0,38 $\mu\text{g/ml}$; 0,5 $\mu\text{g/ml}$ para a 5-fluorocitosina; 0,19 $\mu\text{g/ml}$ para o cetoconazol; 2,0 $\mu\text{g/ml}$ para o fluconazol e 0,012 $\mu\text{g/ml}$ para o itraconazol (Tabela 8).

Tabela 8. Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM)* das amostras de *Candida* isoladas na cavidade bucal das crianças do grupo com AIDS, frente aos antifúngicos testados.

Amostra	Anfotericina B	5-Fluorocitosina	Cetoconazol	Fluconazol	Itraconazol
01	0,75	—	0,19	4,0	0,023
02	2,0	2,0	3,0	48,0	—
03	1,5	6,0	—	—	—
06	—	—	—	—	—
07	0,75	—	0,5	6,0	0,094
08	0,75	3,0	0,5	—	—
09	2,0	—	0,25	8,0	0,032
10	0,75	—	4,0	—	—
11	0,5	1,5	0,19	16,0	0,94
12	0,5	4,0	3,0	—	2,0
12'	0,38	0,5	0,25	12,0	0,023
13	0,75	2,0	—	—	—
14	2,0	6,0	—	—	—
15	2,0	2,0	0,064	2,0	0,012
16	1,5	—	—	—	—
17	—	—	—	—	—
18	1,0	6,0	0,19	4,0	0,19
19	0,75	3,0	1,0	—	3,0
21	1,5	8,0	0,75	—	0,125
22	1,0	—	—	—	3,0
23	1,0	6,0	16,0	—	8,0
26	1,5	—	—	—	—
27	0,75	—	0,38	24,0	0,23
28	0,75	4,0	16,0	—	4,0
29	0,5	12,0	4,0	—	1,5
30	0,5	3,0	0,25	4,0	0,023

* valor em $\mu\text{g/ml}$

Frente aos antifúngicos testados, as cepas de *Candida* apresentaram maior resistência ao fluconazol (80,76%), seguido pelo itraconazol (42,30%), 5-fluorocitosina e cetoconazol (38,46%) e anfotericina B (23,07%), sendo que para este antifúngico, apenas seis amostras demonstraram resistência. A análise estatística (Teste Kruskal-Wallis) demonstrou diferenças estatisticamente significantes, quando realizadas comparações individuais entre os medicamentos testados ($t= 19.33$; $p= 0.0007$). O teste foi realizado a partir da construção de escores, definidos como segue:

escore 1 = sensível; escore 2 = resistente; e escore 3 = sem formação de halo. Nas comparações individuais entre os medicamentos ($p<0.01$), a margem de erro foi menor que 1%, e nos refere as diferenças de sensibilidade entre os medicamentos (Tabela 9).

Tabela 9. Grau de suscetibilidade das amostras de *Candida* isoladas da cavidade bucal das crianças com AIDS, frente aos antifúngicos testados.

Antifúngicos	Sensíveis		Não formou halo*		Resistente**		Total de Resist. N° %
	N°	%	N°	%	N°	%	
Anfotericina B	20	76,92	2	7,69	4	15,38	6 23,07
5-Fluorocitosina	16	61,54	10	38,46	—	—	10 38,46
Cetoconazol	16	61,54	8	30,76	2	7,69	10 38,46
Fluconazol	5	19,23	16	61,53	5	19,23	21 80,76
Itraconazol	15	57,69	10	38,46	1	3,84	11 42,30

* Não formou halo de inibição de crescimento do fungo.

** Resistente considerando o valor em $\mu\text{g/ml}$ de acordo com Thornsberry; Sabath (1985).

6. DISCUSSÃO

Frente a importância que a AIDS assumiu e o aumento do número de pessoas contaminadas, mesmo após campanhas preventivas, é de importância ampliar os conhecimentos sobre as implicações bucais desta síndrome, em adultos e, principalmente, em crianças, tendo em vista a sobrevida que vem sendo alcançada atualmente por algumas destas portadoras. O número de casos pediátricos de AIDS não reflete o impacto da epidemia, pois esta continua crescendo e, no ano 2000, será uma das cinco maiores causas de morte em crianças. Sendo a boca facilmente acessada para exame clínico, é muitas vezes, o primeiro local a apresentar sinalizadores da AIDS, seus aspectos e manifestações bucais devem ser examinados, procurando-se não somente seu diagnóstico mas também um mapeamento do tratamento adequado e de seu prognóstico.

Nesta parte, obedeceremos a uma sistemática de trabalho, seguindo a mesma seqüência estabelecida para os exames clínicos, empregada durante a coleta do material e mantida na apresentação dos resultados. Assim, tendo em vista a relevância e o número de autores que se referem especificamente às manifestações bucais, iremos centrar algumas considerações no estudo das mesmas, uma vez que na parte odontológica,

esta tem sido a área mais visada em relação às crianças, com comprometimentos que julgamos necessário abordar e desenvolver. Outros enfoques, como os aspectos da microbiota, foram abordados mais amplamente por Makarova et al. (1997). Assim, candidose mereceu de nós uma maior atenção, tendo em vista a importância em relação aos fatores de virulência do gênero *Candida*, os quais não foram até agora pesquisados em relação a AIDS infantil, enquanto nos adultos, um maior número de pesquisas foi realizado.

Entre as lesões detectadas, a linfadenopatia cérvico-facial merece destaque por sua maior freqüência em nossa amostra. Autores como Chan et al. (1994) e Santos et al. (1998), diagnosticaram linfadenopatia cérvico-facial em percentuais menores que os nossos. Não está totalmente estabelecida a relação entre linfadenopatia cérvico-facial com o vírus HIV, mas esta manifestação pode resultar de modificações no estado imunológico do portador, com diminuição do número de células CD4+ e/ou alterando a relação CD4/CD8, como relatado por Chan et al., 1994. Uma relação parece existir frente a este aspecto, uma vez que, em nossa amostra, a linfadenopatia cérvico-facial foi detectada em maior freqüência naqueles com maior grau de imunossupressão, como também observado por Bundzman et al., 1996.

Em relação às gengivites observadas nas crianças componentes do grupo em foco, foram consideradas alterações de cor, forma e/ou volume, localizados ou generalizados, não tendo sido identificado o eritema gengival linear observado por outros autores (Jandinski et al., 1995; Schoen et al.,

1996), considerado característico da AIDS. Frente a outros problemas de ordem geral, tais como desnutrição, perda de imunidade, e principalmente problemas locais, como higiene precária ou ausente, ainda é prematuro qualquer conclusão a respeito destes aspectos em crianças. As gengivites foram mais encontradas em crianças em supressão moderada e severa, como outras manifestações e em percentuais variáveis, embora Milnes et al. (1993); Chiodo et al. (1996) e Hernandez; Boj (1996), tenham observado em maior freqüência.

Outras manifestações bucais detectadas foram as candidoses, sendo mais numerosas as do tipo pseudomembranosa, frente ao tipo eritematosa, embora ambas também afetassem crianças em supressão moderada e severa, sendo a freqüência semelhante à observada por outros pesquisadores (Irova et al., 1993; Ramos-Gomes et al., 1995; DelToro et al., 1996; Costa et al., 1998). Os demais trabalhos quanto a presença de candidose, encontraram freqüências maiores, havendo no entanto, uma grande variação entre estes achados, bem como aos tipos de candidose, apesar da escassez de informações a este respeito. A candidose é um importante indicador da evolução da infecção pelo HIV, considerada como um fator de prognóstico e diagnóstico, que ocorrendo em crianças, pode indicar uma progressão mais rápida da doença, diferente do aumento da glândula parótida, associado a uma progressão mais lenta da infecção (Tovo et al., 1992; Katz et al., 1993).

A localização preferencial da candidose pseudomembranosa é a língua, seguida do palato e mucosa jugal, enquanto a candidose eritematosa

localiza-se preferencialmente no palato, seguido da língua. Em nosso estudo, tanto candidose pseudomembranosa quanto eritematosa foram detectadas na língua e/ou palato, estando de acordo com o observado pela literatura, assim como a maior frequência do tipo pseudomembranosa (Ketchem et al., 1999; Moniaci et al., 1993; Costa et al., 1998). A frequência de candidose parece ter importante relação a fatores extrínsecos como tratamento e hospitalização, demonstrando no nosso caso, baixos índices de manifestações clínicas, devido ao tratamento ambulatorial.

Em relação ao aumento da glândula parótida, esta é uma alteração de etiologia ainda desconhecida, que afeta entre 11 a 71% das crianças com AIDS, geralmente relacionada a linfadenopatia generalizada ou intraparotídea, tendo sido encontrados lesões císticas, infiltrado linfoplasmocitário e linfomas em seu interior. Autores como Chan et al. (1994) e Santos et al. (1998), diagnosticaram linfadenopatia cérvico-facial em percentuais menores que os nossos. Em nossa amostra, o aumento da glândula parótida foi detectado em poucas crianças, com frequência semelhante a da literatura (Ferguson et al., 1993; Chiodo et al., 1996). Alguns pesquisadores, como Chan et al. (1994), Del Toro et al. (1995), e Costa et al. (1998), encontraram frequências ainda menores, frente a autores que observaram frequências mais elevadas (Katz et al., 1993; Ramos-Gomes et al., 1993; Hernandez; Boj, 1996). Ao verificarmos os níveis de imunossupressão, também observamos maior quantidade de crianças afetadas em presença de supressão severa, embora o aumento da glândula

parótida venha sendo associada a um melhor prognóstico do desenvolvimento da doença.

As ulcerações, tão comumente observadas em AIDS, tem recebido numerosas denominações que podem ser decorrentes de inúmeros fatores. Classificá-las é uma tarefa difícil, dada a variedade de etiologias que não permitem um diagnóstico mais definitivo, bem como, a escassez de casos por nós observada não permite maiores relações. Numerosos estudos realizados em adultos com AIDS ou HIV+, também não esclarecem esse aspecto. Há variações entre os autores quanto a freqüência de ulcerações, assim como tem sido utilizadas diversas denominações, como ulceração aftosa recorrente, ulceração não identificada, úlcera fantasma e outras, necessitando-se reavaliar estas lesões presentes nas crianças. Lembremos que muitas manifestações sofrem mudanças de expressividade, tendo em vista a atuação de vários fatores, conseqüência talvez das condições atuais de abordagem e de tratamento, uso de novas drogas, que podem alterar as manifestações como ocorre em adultos,^{no} caso da leucoplasia pilosa ou mesmo gengivite. O próprio eritema gengival linear e a leucoplasia pilosa em crianças vem até sendo mais observados atualmente. Em nossa amostra, estas manifestações, bem como a queilite angular, herpes simples e petéquias, observadas por outros autores, não foram detectadas. Nossa amostra foi constituída por crianças portadoras de AIDS, todas com a doença desenvolvida, apresentando estágios de supressão moderada e severa, não havendo nenhuma criança em ausência de supressão, todas em

acompanhamento ambulatorial, o que poderia explicar em parte, certos aspectos comentados.

Em relação às bactérias, destacam-se os estudos de Makarova et al. (1997), que encontraram 25% de cocos Gram positivos (*Staphilococcus aureus*) e 19% de Gram negativos (*Escherichia coli*) em cavidade bucal de crianças com AIDS, mãos de mães, enfermeiras, sugerindo uma possível contaminação hospitalar, assim como a revisão de Ramos-Gomes et al. (1997), salientando a maior suscetibilidade de crianças com AIDS às infecções bacterianas, em especial as alterações periodontais. As culturas realizadas permitiram detectar maior quantidade de cocos Gram positivos, sem outros achados relevantes, talvez relacionado a ação de drogas em uso e outros fatores externos. As visitas ambulatoriais e a não hospitalização, propiciam melhores condições, impedindo contaminação por espécies mais patogênicas. Sendo este um estudo transversal, não pudemos acrescentar outras informações e os eventuais Gram negativos presentes, poderiam representar apenas microbiota transitória. Fatores intervenientes como administração de antibióticos, orientações quanto aos procedimentos de higiene e bochechos com antimicrobianos, interferindo nos mecanismos de adesão, colonização e crescimento, bem como a não hospitalização podem proteger o doente de outras espécies, como também observado por Gonçalves et al. (1997), em crianças com leucemia e por Gatti et al. (1994), em crianças com doenças agudas.

Em nossa amostra, a maioria dos fungos isolados da cavidade bucal de crianças com AIDS foi representada pelo gênero *Candida*, espécie

albicans, tendo sido encontrada uma correlação estatística significativa entre AIDS e presença de *Candida*. A correlação entre *Candida* e AIDS foi importante, apesar da escassez de manifestações clínicas relevantes, sendo que poucas crianças manifestaram candidose (7/30), demonstrando porém uma frequência alta (25/30) sem a doença.

Um grande percentual de portadores de *C. albicans* também foi observado por Ketchen et al. (1990), enquanto Chiodo et al. (1996) observaram menos portadores de *C.albicans* entre as crianças com candidose. Para Makarova et al. (1997), *C. albicans* foi também o microrganismo mais prevalente, tanto na candidose bucal quanto esofágica (Leggott, 1987; Kline, 1996). Gatti et al., (1994) e Gonçalves et al.(1997), em outra abordagem, também relataram *C.albicans* como o fungo mais prevalente na microbiota fúngica bucal de sua amostra.

A presença de *C. albicans* pode ser o início de infecção, tanto em AIDS como em outras doenças, sendo importante detectar precocemente sua presença. Em nossa amostra, as crianças com AIDS apresentaram somente *C. albicans* como componente da microbiota fúngica presente, o que pode acontecer em decorrência da medicação utilizada, favorecendo como um efeito secundário, especificamente o desenvolvimento desta espécie, enquanto os controles apresentaram maior diversidade de espécies.

A avaliação da produção de exoenzimas como proteinase e fosfolipase, consideradas fatores de virulência, de espécies do gênero *Candida* tem uma grande importância na expressão de sua patogenicidade,

tendo em vista que a patogenicidade dos fungos está ligada à vários fatores que necessitam atenção principalmente tratando-se de AIDS. A relevância dos altos níveis de fosfolipase em primeiro lugar, bem como da proteinase, além da seletividade de espécies presentes no grupo com AIDS, proporcionaram condições de uma maior aderência, colonização e desenvolvimento, facilitando a multiplicação dos fungos. A expressão da proteinase parece estar mais ativa em isolados de pacientes HIV+. Muitos aspectos estão relacionados a ausência de certos inibidores da saliva e menor atuação de anticorpos (IgA), necessários para inibir a adesão. Todos estes aspectos associados a imunodepressão presente, parecem conduzir e favorecer uma maior patogenicidade, principalmente de *C.albicans*, frente as condições gerais, permitindo sua manifestação clínica. Lembramos que os fatores de virulência podem promover condições de modificar a saliva, e que certas medicações como o sulfametoxazol + trimetropina (Bactrin) podem colaborar na assimilação pelos fungos, dado a fonte de carbono relacionada a esta droga, e portanto, criando um efeito sinérgico para o isolamento do fungo, que ganha a competição dos outros fungos eventualmente presentes. Dos raros, ou melhor, quase inexistentes trabalhos direcionados a estes aspectos, alguns foram conduzidos neste tema em adultos. Estes não serão mencionados aqui pela ampla literatura e maior número de observações relacionada a AIDS em adultos, não permitindo assim comparações, dadas as diferentes épocas, medicamento⁵ utilizados e condições observadas.

Tendo em vista a importância dos fungos e de suas manifestações, nosso interesse foi despertado para a avaliação das drogas que pudessem

responder melhor às cepas de *C. albicans* isoladas das crianças com AIDS. Através da Concentração Inibitória Mínima, avaliamos cinco drogas de importância, a anfotericina B, 5-fluorocitosina, cetoconazol, itraconazol e fluconazol, frente as cepas estudadas.

A suscetibilidade às drogas dos fungos isolados de crianças com AIDS, foi pela primeira vez testada por nós ~~nesta~~ estudo "in vitro", o que permitiu avaliar que a anfotericina B apresentou a melhor resposta, embora não tenhamos esta para uso tópico, lembrando alguns problemas e contra-indicações, como uso endovenoso exclusivamente em ambiente hospitalar. A 5-fluorocitosina não tem sido mais utilizada, apesar da sua efetividade. Entre os azóis, destacam-se o itraconazol, seguido do cetoconazol, tendo o fluconazol uma resposta mais inadequada, dada a alta resistência observada e até mesmo necessidade de níveis mais elevados para inibir o crescimento fúngico.

Os testes "in vitro" são marcadores importantes, embora estudos "in vivo" precisem ser avaliados, pois o uso clínico pode contribuir para resultados mais efetivos no tratamento da candidose, nem sempre reproduzindo mesmo em testes bem controlados, o que ocorre "in vivo". É pequeno ainda o arsenal de medicamentos nesta área e por isso não podemos descartar o uso de certas drogas. Devemos continuar testando novas drogas para obtenção de respostas mais efetivas, tendo em mente os pacientes com alto grau de imunodepressão e principalmente, enfocando a doença em crianças, que talvez apresentem outras respostas, necessitando ainda de mais estudos nesta área.

7. CONCLUSÕES

A análise dos resultados permite concluir que:

1. As manifestações buco-faciais do grupo com AIDS foram mais prevalentes nas crianças com imunossupressão presente, destacando-se por sua freqüência a linfadenopatia cérvico-facial, enquanto nos controles não foi observada nenhuma manifestação.
2. As bactérias predominantes no grupo com AIDS foram representadas por cocos Gram positivos (principalmente *Streptococcus* e *Staphilococcus*), enquanto nos controles predominaram cocos Gram negativos (*Neisseria*), sem outros dados indicativos relevantes frente a Bacilos Gram negativos.
3. Os fungos identificados, em sua maioria pertenciam ao gênero *Candida*, representados predominantemente no grupo com AIDS por *Candida albicans*, enquanto o grupo controle apresentou menor freqüência de fungos e maior variabilidade de espécies. A avaliação da produção das exoenzimas, como a proteinase e fosfolipase, consideradas fatores de virulência, apresentaram no grupo com AIDS, maior positividade e altos níveis de atividade. Sugere-se frente aos resultados obtidos em relação a freqüência de *C. albicans*, sua seletividade e o nível enzimático das cepas estudadas, uma maior patogenicidade.

4. As cepas estudadas do grupo *com AIDS* frente ao ETEST, foram mais suscetíveis a anfotericina B, seguido da 5-fluorocitosina. O cetoconazol e itraconazol apresentaram variações da sua atividade inibitória mínima, ocorrendo uma menor suscetibilidade ao fluconazol em face da resistência observada.
5. O desenvolvimento e utilização de novas drogas, as atuais formas de diagnóstico precoce, aliadas ao maior conhecimento da AIDS infantil, tem demonstrado a efetividade das ações, indicadas pela menor frequência de manifestações buco-faciais e bacterianas, enquanto que na área fúngica, apesar dos progressos, ainda necessitamos de terapêuticas mais efetivas.

ANEXOS

*Irmãdade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo*

São Paulo, 1 de outubro de 1998

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins, a pedido da interessada, que a Odontóloga, Dra. Vera Lúcia Bosco, aluna do Curso de Pós-Graduação a nível de Doutorado pela Faculdade de Odontologia da USP, área de concentração em odontopediatria, apresentou ao Departamento de Pediatria da Santa Casa de São Paulo em setembro de 1996, projeto de pesquisa orientado pela Prof. Dra. Esther Goldenberg Birman, com o título provisório: **Estudo da microbiota bucal de crianças HIV positivas, portadoras e sintomáticas, e controles HIV negativas**, buscando autorização para colheita de material em nossos pacientes com estas características. O projeto de pesquisa foi analisado e **aprovado** pelo Responsável pelo setor de Infectologia Pediátrica, Prof. Dr. Eitan Naaman Berezin, e pela Comissão de Ética de nosso Hospital, e a colheita de material foi iniciada em abril de 1997.

Dra. Maria Tereza Gutierrez
Diretora em Exercício do Departamento de
Pediatria da Santa Casa de São Paulo

ANEXO 2

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Informação e consentimento pós-informação para pesquisa clínica

As informações contidas neste, foram fornecidas pela Doutoranda Vera Lúcia Bosco, sob orientação da Prof^a Dr^a Esther Goldenberg Birman. Objetivando firmar acordo por escrito, mediante o qual os pais e/ou responsáveis pela criança, objeto da pesquisa, autorizam sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que serão submetidas, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título preliminar do trabalho experimental

“Estudo da microbiota bucal de crianças HIV positivas, portadoras e sintomáticas e controles HIV negativos”.

2. Objetivo principal

Avaliar a microbiota da cavidade bucal de crianças portadoras de AIDS, com enfoque em fungos e bactérias, comparando-as a um grupo controle clinicamente sadio, bem como correlacionar as manifestações bucais presentes a microbiota encontrada.

3. Justificativa

Quase todas as informações relativas aos portadores de AIDS tem sido obtidas através da observação, acompanhamento e tratamento de pacientes adultos. Na área odontológica, poucas pesquisas tem sido realizadas com crianças, o que efetivamente resulta em desconhecimento das reais condições bucais dessas crianças.

4. Procedimentos

Durante uma das consultas de rotina para avaliação médica da criança, concomitantemente será realizado o exame clínico extra e intra bucal, bem como a coleta do material por meio de esfregaços de mucosa. O exame clínico extra bucal constará de inspeção visual e palpação da cabeça e pescoço; o exame intra bucal será realizado com o auxílio de espátulas de madeira para o afastamento de lábios e bochechas. Em seguida, serão realizadas duas coletas de material, utilizando “swabs” estéreis e descartáveis. O material assim coletado será encaminhado ao laboratório para os procedimentos necessários.

5. Desconfortos e/ou riscos esperados

Devido a pouca idade, ou mesmo por nunca terem ido ao dentista, algumas crianças poderão manifestar desgosto ao serem examinadas, mas os procedimentos a serem empregados não representam nenhum risco a integridade física e/ou emocional destas crianças.

6. Benefícios do experimento

A pesquisa da microbiota bucal em crianças com AIDS poderá fornecer importantes informações relativas ao desenvolvimento e prognóstico da doença, bem como auxiliar no diagnóstico e tratamento dos portadores, e conseqüentemente, melhorar sua condição de vida.

7. Informações

O voluntário tem garantia de que receberá resposta a todas as perguntas ou esclarecimento de qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos ou benefícios e outros assuntos relacionados à pesquisa. Os pesquisadores anteriormente citados assumem o compromisso de proporcionar informações atualizadas obtidas durante o estudo, ainda que possa afetar a vontade do indivíduo de continuar participando.

8. Retirada do consentimento

Os pais e/ou representante legal do voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento, deixando de participar do estudo.

9. Consentimento Pós-Informação

Eu, _____
_____, certifico que tendo lido as informações acima e sido suficientemente esclarecido (a) de todos os itens pela CD Vera Lúcia Bosco e Prof^a Dr^a Esther Goldenberg Birman, estou plenamente de acordo com a realização da pesquisa. Assim, autorizo e garanto a participação no trabalho exposto acima, do menor sob minha custódia. Sendo incapaz de consentir legalmente sobre estes fatos por ter menos de 18 anos, eu, seu responsável direto, autorizo para o mesmo.

São Paulo, _____ de _____ de 1997.

Nome _____ completo
(legível): _____

Assinatura: _____

RG: _____

Nome _____ da
criança: _____

Elaborado com base na Resolução 01/88 do CNS/MS, publicado no Diário Oficial, 14/06/1988, Brasília. P.10713-8.

ANEXO 3

FICHA DE EXAME

N^o _____

Nome: _____

DN: _____ / _____ / _____

Idade: _____ a _____ m

Histórico médico, medicação:

CD4 cél/mm³: _____ CD8 cél/mm³: _____ CD4/CD8: *cél/mm³* _____Dados da coleta:

Data: _____ / _____ / _____

Hora: _____

Exame extra bucal:Linfonodos palpáveis Sim ()

Não ()

Localização: _____

Exame intra bucal:Lábios () Mucosa jugal ()

Gengivas ()

Língua () Rebordo alveolar ()

Palato ()

Diagnóstico: _____

ANEXO 4

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS-USP
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
SECÇÃO DE BACTERIOLOGIA

Registro: _____

Nome: _____

DN: _____ / _____ / _____

Idade: _____ a _____ m

Data da colheita: _____ / _____ / _____

Hora da colheita: _____ Hora da entrega no
laboratório: _____

Administração prévia de antibiótico: Sim () Não ()

Qual (ais)?: _____

Há quanto tempo? _____

Paciente internado () Paciente de
ambulatório ()

Dados clínicos: _____

Exames laboratoriais:

1. Exame bacterioscópico da amostra (coloração de Gram)
2. Crescimento em meios seletivos e não seletivos para bactérias aeróbicas ou aeróbicas facultativas (ágar chocolate, ágar sangue, ágar McKonkey)
3. Isolamento das colônias
4. Provas bioquímicas usuais para identificação de bactérias Gram (+) e Gram (-)

Diagnóstico: _____

ANEXO 5

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
SECÇÃO DE MICOLOGIA

Procedência: _____

Registro: _____

Observações:

1. Exame direto

2. Crescimento em meios usuais

Crescimento em meios com ácidos graxos

3. Microcultivo e tubo germinativo:

PM:

BL:

AR:

TG:

MV:

CL:

Outras:

4. Asco e ascoporos:

Positivo:

Negativo:

Forma:

Número:

5. Outras provas:

Síntese amido:

Produção de melanina:

TTC:

6. Auxanograma:

KNO₃:

Sacarose:

Glicose:

Inositol:

Lactose:

Dulcitol:

Maltose:

Xilose:

Rafinose:

Celobiose:

Melibiose:

Trealose:

Trealose:

7. Zimograma:

Glicose:

Maltose:

Lactose:

Sacarose:

8. Diagnóstico: _____

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ABATI, S.; ZUCCOTTI, G.V.; CARRAS, A. HIV-related oral lesion in a cohort of HIV infected children. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATIONS OF HIV INFECTION, 1996 London.
2. AMERICAN SOCIETY OF MICROBIOLOGY. MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. 5, ed. Washington: American Society of microbiology, 1991. S.p.
3. BARASCH, A.; VARAGIANNIS, E.; KATZ, R.V. Oral soft tissue manifestations of HIV in children. **J Dent Res**, v. p. 371, Mar 1996. Número especial. [Resumo]
4. BERDICEVSKY, I.; BEM-ARYEH, H.; SZARGEL, R.; GUTMAN, D. Oral *Candida* in children. **Oral Surg** v 57, n 1, p 37-40, Jan. 1984.

* De acordo com NBR-6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1989. Abreviaturas de periódicos segundo "Index to Dental Literature".

5. BIRMAN, E.G. Um breve retrospecto sobre *Candida* e candidoses em relação à boca. **Rev Racine**, v. 8, n. 42, p.jan./fev. 1998.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis/AIDS. **Guia de condutas clínicas em AIDS - crianças**. Brasília: PN - DST/AIDS, 1994. 52p.
7. BUNDZMAN, E.R.; NEVES, A.A.; SANTOS, L.C.; OLIVEIRA, R.H.S. Relação entre linfadenopatia, imunossupressão e manifestações orais em crianças HIV+. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 1996, Águas de São Pedro. **Anais** Águas de São Pedro: SBPqO, 1996. p.109. [Resumo]
8. CASTRO, G.F; NISHIO, C.; FERNANDES, A.C.; PORTELA, M.B.; HUGO, R. Relação entre lesões bucais e progressão da infecção pelo HIV em crianças. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 1998, Águas de São Pedro. **Anais**. Águas de São Pedro: SBPqO, 1998. p. 154. [Resumo]

9. CASTRO, G.F.; SOUZA, I.P.R.; FONSECA, R.; SANTOS, L.; HUGO, R.
Frequência de manifestações bucais em crianças infectadas pelo HIV. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 1998, Águas de São Pedro. **Anais**. Águas de São Pedro: SBPqO, 1998. p 154. [Resumo]
10. CECCOTTI, E. Niños com SIDA. Manifestaciones bucales. **Rev Asoc Odontol Argentina**, v. 83, n. 4, p. 299-303, oct/dec, 1995.
11. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Classification system for human immunodeficiency virus (HIV) infection in children under 13 years of age. **MMWR**, v. 36, p. 225-230, 1987.
12. CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION. Diagnosing HIV infection in children . **MMWR**, v. 43, p. 2-9, 1994.
13. CHAN, A.; MILNES, A.; KING, S.M.; READ, S. The relationships of oral manifestations to parameters of immune function and CDC stage in children born to HIV-positive women. **Pediatric AIDS and HIV infection: fetus to adolescents.**, v. 5, n. 2, p. 101-107, Apr, 1994.
14. CHIGURUPATI, R.; RAGHAVAN, S.S.; STUDEN-PAVLOVICH, D. Pediatric HIV infection and its oral manifestation: a review. **Pediatr Dent**, v. 18, n. 2, p. 106-113, Apr./May 1996.

15. CHIODO, M.; GALLI, L.; MANELLI, F.; ORSI, A; MARTELLI, L.; FICARRA, G. Oral lesions in HIV- positive children.. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATIONS OF HIV INFECTION, 1996, London. **Annals....** London, 1996.
16. COSTA, L.R.R.S.; VILLENA, R.S.; BIRMAN, E.G. AIDS in children: an up to date review of stomatological aspects. **Rev FOLA/Oral**, v.2, n. 1, p. 21-25, ene./feb. 1996.
17. COSTA, L.R.R.S.; VILLENA, R.S.; BIRMAN, E.G. Oral finding in pediatric AIDS: a case control study in Brazilian children. **J Dent Child**, v. 65, n. 3, p. 186-190, May/June, 1998.
18. DEL TORO, A.; BERKOWITZ, R.J.; FRENKEL, L.; MEYEROWITZ, C. HIV-related oral findings in HIV-infected children. **Pediatr Dent**, v. 17, n. 2, p. 145, Mar./ Apr. 1995.
19. DEL TORO, A.; BERKOWITZ, R.J.; MEYEROWITS, C.; FRENKEL, LM. Oral findings in asymptomatic (P-1) e symptomatic (P-2) HIV-infected children. **Pediatr Dent**, v. 18, n. 2, p. 114-116, Apr./May 1996.

20. EC-Clearinghouse on Oral Problems Related to HIV Infection and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestations of the Immunodeficiency Virus: Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. **J Oral Pathol Med**, v. 22, p. 289-291, 1993.
21. ETEST Technical Guide 4b. Antifungal susceptibility testing of yeasts. **AB BIODISK**, Jun., 1994, Solna, Sweden.
22. FERGUSON, F.S.; NACHMAN,S.; BERENTSEN, B. Implications and management of oral diseases in children and adolescents with HIV infection. **Pediatr Dent**, p. 46-50, Feb. 1997.
23. FERGUSON, F.S.; BERENSTSEN, B.; FARAGUNA, M.; CINOTTI, D.; NACHMAN, S. Oral manifestations of pediatric HIV in fifty-eight children. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATION OF HIV INFECTION, 1993, San Francisco. **Annals....** San Francisco, 1993.
24. GALILI, D.; DONITZA, A.; GARFUNKEL, A.; SELA, M. N. Gram-negative enteric bacteria in the oral cavity of leukemia patients. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 74, n.4, p. 459-462, Oct. 1992.

25. GALLI, L.; MARTINO, M.; TOVO, P.A.; GABIANO, C.; GIAQUINTO, C.; TULISSO, S.; VIERUCCI, A.; GUERRA, M.; MARCHISO, P.; PLEBANI, A.; ZUCCOTTI, G.V.; MARTINO, A.M.; DALLACASA, P.; STEGANOM, M. and the Italian Register for HIV Infection in Children. Onset of clinical signs with HIV-1 perinatal infection. **AIDS**, v. 9, n. 5, p. 455-461, 1995.
26. GATTI NETO, A.G.; LEMOS, Jr., C. A.; MAMIZUKA, E.; PAULA, C. R.; BIRMAN, E. G. Relação da microbiota bucal e estomatite em crianças com processos infecciosos gerais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 1994, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro: SBPqO, 1994, p. 152. [Resumo]
27. GEHRKE, F.S.; JOHNSEN, D.S. Bottle caries associated with anti-HIV therapy. **Pediatr Dent**, v. 13, n. 1, p. 73, Jan./Feb. 1991.
28. GONÇALVES, F. A.; BIRMAN, E. G.; MAMIZUKA, E.; PAULA, C. R. Qualitative analysis of fungal and bacterial microflora in leukemic children. **J Dent Res.**, v 76, p. 449, 1997. [Resumo]

29. HERNANDEZ, M.; BOJ, J. Oral manifestations of the paediatric infection with HIV virus. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATION OF HIV INFECTION, 1996, London. **Annals....** London, 1996.
30. HICKS, M. J.; CARTER, B.; ROSSMANN, S.N.; DEMMLER, G.J.; SIMON, C.L.; CRON, S.G.; FLAITSZ, C.M.; SHEARER, W.T.; KLINE, M.W. Detection of fungal organisms in saliva from HIV-infected children: a preliminary cytologic analysis. **Pediatr Dent**, v. 20, n. 3, p. 162-168, 1998.
31. HOLT, J.G. **Manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. Cap. 4, 5, 17, 20.
32. HOWELL, R.B.; JANDINSKY, J.; PALUMBO, P.; SHEY, Z.; HOUPY, M. Oral soft tissue manifestations and CD4 lymphocyte count in HIV-infected children. **Pediatr Dent**, v. 18, n. 2, p. 117-120, 1996.
33. IKEDA, M.; NAGAO, T.; BAMBIA, S.; KUBODERA, T.; FURUE, M.; KAKISAWA, T. Longitudinal observations of the oral manifestation of HIV seropositive hemofilic children. In: 2nd International Workshop on the oral manifestation of Hiv infection. **Anais**. San Francisco. Jan/Feb, 1993.

34. IROVA, T.; GABRIILOVICH, D.; KHARCHENKO, O.; MAKAROVA, N.; POKROVSKY, V.V. Oral manifestations of HIV-1 infection in children from nosocomial foci. INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATION OF HIV INFECTION, 1993, San Francisco. **Annals...** San Francisco, 1993.
35. KATZ, M.H.; MASTRUCCI, M.T.; LEGGOTT, P.J.; WESTENHOUSE, J.; GREENSPAN, J.S.; SCOTT, G.B. Prognostic significance of oral lesions in children with perinatally acquired human immunodeficiency virus. infection **AJDC**, v. 147, p. 45-48, Jan., 1993.
36. KETCHEM, L.; BERKOWITZ, R.J.; McILVEEN, L.; FORRESTER, D.; RAKUSAN, T. Oral findings in HIV-seropositive children. **Pediatr Dent**, v. 12, n.3, p. 143-146, May/June, 1990.
37. KLINE, M.V. Oral manifestation of pediatric human immunodeficiency virus infection: a review of the literature. **Pediatrics**, v. 97, n. 3, p. 380-388, Mar. 1996.
38. KREGGER-VAN RIJ, N.J.W. **The yeasts**: a taxonomic study. Amsterdam: Elsevier, 1984. s.p.

39. LEGGGOTT, P.J. Oral manifestations of HIV infection in children. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 73, n. 2, p. 187-192, Feb. 1992.
40. LEGGOTT, P.J. Pediatric oral HIV disease. INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATION OF HIV INFECTION, 1993 San Francisco. **Annals**. Jan/Feb, 1993.
41. LEGGOTT, P.J.; ROBERTSON, P.B.; GREENSPAN, D.; WARA, D.W.; GREENSPAN, J.S. Oral manifestations of primary and acquired immunodeficiency diseases in children. **Pediatr Dent**, v. 9, n. 2, p. 98-104, Mar. 1987.
42. LODDER, J. **The yeast: a taxonomic study**. 2. ed. Amsterdam, North Holland, 1970. p. 1385.
43. MAKAROVA, N.; YURIN, O.; POKROVSKY, V. Infections in hospitalised Russian children with AIDS. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATION OF HIV INFECTION, 1997, London.

44. MILNES, A.; CHAN, A.; KING, S.; READ, S. Oral findings in HIV+ pediatric hemophiliacs and blood product recipients. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATION OF HIV INFECTION, 1993, San Francisco. **Annals...** San Francisco, 1993.
45. MOLINA, J.L.M.; RUIZ, R.I.; FORSBACH, S.S.; CARREÑO, S.A.; PICCO, I.D. El síndrome de inmunodeficiencia adquirida en el paciente pediátrico. **Pract Odontol**, v. 11, n. 12, p. 31-37, Dec. 1990.
46. MONIACI, D.; CAVALLARI, M.; GRECO, D.; BRUATTO, M.; RAITERI, R.; PALOMBA, E.; TOVO, P. A.; SINICCO, A. Oral lesions in children born to HIV-1 positive women. **J Oral Pathol Med**, v. 22, p. 8-11, 1993.
47. OLESKE, J.; MINNEFOR, A.; COOPER, R.; THOMAS, K.; dela CRUZ, A.; AHDIE, H.; GUERRERO, I.; JOSHI, V.; DESPOSITO, F. Immune deficiency syndrome in children. **J Am Med Assoc**, v. 249, n. 17, p. 2345-2349, May 1983.

48. O'REILLY, R.; KIRKPATRICK, D.; SMALL, C.B.; KLEIN, R.; FRIEDLAND, G.; BROMBERG, K.; FIKIG, S.; MENDES, H.; RUBINSTEIN, A.; SIEGAL, F.; LANGE, M.; ROTHENBERG, R.; OLESKE, J.; THOMAS, M. D.; COOPER, R.; de la CRUZ, A.; MINEFORE, A.; GUERREIRO, I.; MOJICA, B.; PARKIN, W.; COWAN, M.; AMMAN, A.; WARA, D.; DRITZ, S. Unexplained immunodeficiency and opportunistic infections in infants. New York, New Jersey, Califórnia. **MMWR**, v.31, n.49, p.665-667, Dec. 1982.
49. PETERSEN, S.G.; QUINTO, T.C.P.; VIEIRA, A.A.B.; FORNASARI, M. Manifestações orais em crianças portadoras de AIDS. **Rev Bras Odontol**, v.50, n.5, p. 10-15, set./out. 1993.
50. PRICE, M.F.; WILKINSON, I.D.; GENTRY, L.O . Plase method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. **Sabouraudia**, v. 20, p. 7-14, 1982.
51. PRINCIPI, N.; MARCHISIO, P.; TORNAGHI, R.; MASSIRONI, E.; ONORATO, J.; PICCO, R.; LIBRETTI, C. Occurrence of infections in children infected with human immunodeficiency virus. **Pediatr Infect Dis J**, v. 10, p. 190-193, 1991.

52. RAMOS-GOMEZ, F.J.; PETRU, A.; HILTON, J.F.; MALDONADO, I.; GREENSPAN, D.; GREENSPAN, J.S. Orofacial manifestations, caries, and periodontal status in pediatric HIV infection. **Pediatr Dent**, v. 16, n. 2, p. 159-160, Mar./Apr. 1994.
53. RAMOS-GOMES, F.J.; HILTON, J.F.; CANCHOLA, A.J; GREENSPAN, D.; GREENSPAN, J.S.; MALDONADO, Y.A . Risk factors for HIV-related orofacial manifestations in children. **Pediatr Dent**, v. 17, n. 2, p. 140, Mar/Apr. 1995.
54. RAMOS-GOMES, F.J.; HILTON, J.F.; CANCHOLA, A.J.; GREENSPAN, D.; GREENSPAN, J.S.; MALDONADO, Y.A. Risk factors for HIV-related soft-tissue manifestations in children. **Pediatr Dent**, v. 18, n. 2, p. 121-126, Apr./May 1996.
55. RAMOS-GOMEZ, F. J. Oral aspects of HIV infection in children. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATION OF HIV INFECTION, 1997, London. **Annals**. London, 1997.
56. SANTOS, L.C.; SOUZA, I.P.R.; BUNDZMAN, E.R.; ABREU, T.F. Parâmetros imunológicos relacionados a candidíase oral em crianças HIV. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 1996, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro: SBPqO, 1996. p.180. [Resumo]

57. SANTOS, L.C.; TURA, L.F.R.; SOUZA, I.P.R. Relação entre o grau de imunossupressão e manifestações orais em crianças HIV+. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 1997, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro: SBPqO, 1997. p. 122. [Resumo]
58. SCHEUTZ, F.; MATEE, M. I.; SIMON, E.; MWINULA, J.H.; LYAMUYA, E. F.; MSENGI, A.E.; SAMARANAYAKE, L.P. Association between carriage of oral yeasts, malnutrition and HIV-1 infection among Tanzanian children aged 18 months to 5 years. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 25, p. 193-198, 1997.
59. SCHOEN, D.; TOFSKY, N.; JANDINSKI, J.; MURRAY, P.; CATALANATTO, F.; NELSON, E.; FINE, D.; VARAGIANNIS, E.; LOPES, R.N.; KATZ, R.V. Oral findings in HIV positive children. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE ORAL MANIFESTATIONS OF HIV INFECTION, 1996, London. **Annals...** London, 1996. p 40.
60. SIXOU, J.L.; de MEDEIROS-BATISTA, O.; BONNAURE-MALLET, M. Modifications of the microflora of the oral cavity arising during immunosuppressive chemotherapy. **Oral Oncol Euro J Cancer**, v. 32B, n. 5, p. 306-310, 1996.

61. THORNSBERRY, C.; SABATH, L.D. Approximate concentration of antimicrobial agents achieved in blood. In: LENNETTE, E. H.; BALOWS, A.; HAUSLER Jr.; W.J.; SHADOMY, H.J. **Manual of clinical microbiology**. 4.ed. Washington: American Society for Microbiology, 1985. p. 1021-1022.
62. TOVO, P.A.; DE MARTINO, M.; GABIANO, C.; CAPPELLO, N.; D'ELIA, R.; LOY, A.; PLEBANI, A.; ZUCCOTTI, G.V.; DALLACASA, P.; FERRARIS, G.; CASELLI, D.; FUNDARO, C.; D'ARGENIO, P.; GALLI, L.; PRINCIPI, N.; STEGAGNO, M.; PALOMBA, E.; and Italian register for hiv infection in children. Prognostic factors and survival in children with perinatal HIV-1 infection. **Lancet**, v. 339, p. 1249-1253, May 1992.
63. VALDEZ, I.H.; PIZZO, P.A.; ATKINSON, J.C. Oral health of pediatric AIDS patients: a hospital-based study. **J Dent Child**, v.61, n.2, p.114-118, Mar./Apr. 1994.
64. VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**. 2. ed. Ed. Campus, 1991. 189p.

SUMMARY

BACTERIAL AND FUNGAL MICROFLORA AND ORAL MANIFESTATIONS IN AIDS CHILDREN AND IT'S CONTROLS.

Thirty AIDS affected children, between two and six years old, both genders, from São Paulo Santa Casa de Misericórdia Hospital were evaluated regarding bacterial and fungal microflora and the presence of oral manifestations compared with a healthy control group, matched by sex and age. It was also evaluated the production of exoenzymes of *Candida* species and their susceptibility to five antifungal agents.

The most prevalent oral manifestations were observed children presenting immunosuppression, mainly in a severe degree, as also lymphadenopathy followed by gingivitis, candidiasis and parotid gland enlargement.

In the AIDS group, the most frequent bacteria were represented by Gram positive coccus, while in the yeast group *Candida albicans* predominated. The production of proteinases and phospholipases was higher in the AIDS group, and anfotericina B was the most effective among the antifungal drugs.

It is suggested that the high frequency, of *Candida albicans* its selectivity and the production level of the studied virulent factors, even in the presence of less fungic lesions, could demonstrate a higher pathogenicity of this species, in AIDS children.

Autorizo a reprodução pelos interessados.

São Paulo, 27 / 01 / 99

Vera Lúcia Bosco
VERA LÚCIA BOSCO