



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Faculdade de Odontologia

Mariana Vasconcellos Martins Ferreira

**MICROBIOTA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICO-TERAPÊUTICOS E
BUCAIS DE JOVENS INFECTADOS PELO HIV-1 POR VIA VERTICAL**

Rio de Janeiro

2016

Mariana Vasconcellos Martins Ferreira

**MICROBIOTA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICO-TERAPÊUTICOS E
BUCAIS DE JOVENS INFECTADOS PELO HIV-1 POR VIA VERTICAL**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Periodontia), Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Odontologia (Periodontia).

Orientadores: Dra. Profa. Dra. Ana Paula V. Colombo

Dr. Prof. Lúcio de Souza Gonçalves

Rio de Janeiro

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Ferreira, Mariana Vasconcellos Martins

Microbiota periodontal e parâmetros clínico-terapêuticos e bucais de jovens infectados pelo HIV-1 por via vertical/Mariana Vasconcellos Martins Ferreira – Rio de Janeiro: UFRJ/FO, 2016.

86 f. : il.

Orientadores: Ana Paula Vieira Colombo; Lúcio de Souza Gonçalves

Dissertação (Mestrado em Odontologia [Periodontia]) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia, 2016.

1. Infecção pelo HIV 2. Saúde Bucal 3. Transmissão Vertical 4. Doença Periodontal 5. CPOD 6. Microbiota Oral 7. Checkerboard – Teses. I. Colombo, Ana Paula; II. Gonçalves, Lúcio de Souza. III. UFRJ, Faculdade de Odontologia, Mestrado em Odontologia (Periodontia). IV. Determinação da microbiota periodontal e sua correlação com parâmetros clínico-terapêuticos e bucais de adolescentes e adultos jovens infectados pelo vírus da imunodeficiência humana-1 por via vertical.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Mariana Vasconcellos Martins Ferreira

MICROBIOTA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICO-TERAPÊUTICOS E BUCAIS DE JOVENS INFECTADOS PELO HIV-1 POR VIA VERTICAL

Dissertação de Mestrado submetido ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Periodontia), Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Odontologia (Periodontia).

Aprovada em: _____

Eduardo Jorge Feres Filho (Presidente da Banca examinadora), Doutor em Ciências (Oral Biology), Faculdade de Odontologia da UFRJ

Gloria Fernanda Barbosa de A. Castro (Membro da Banca examinadora), Doutora em Odontologia (Odontopediatria), Faculdade de Odontologia da UFRJ

Carina M. Silva Boghossian, Doutora em Odontologia (Periodontia), Faculdade de Odontologia da UNIGRANRIO

Ana Paula V. Colombo (Orientadora), Doutora em Ciências (Oral Biology), Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ

Lucio de Souza Gonçalves (Orientador), Doutor em Ciências (Microbiologia), Faculdade de Odontologia da UNESA

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia Oral, Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Rio de Janeiro, e no Hospital Universitário Gaffrée e Guile, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro sob a orientação dos professores Ana Paula Vieira Colombo e Lucio de Souza Gonçalves

“Quem é sábio procura aprender,
mas os tolos estão satisfeitos
com a sua própria ignorância.”

Provérbios de Salomão

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a Deus; aos meus pais Anselmo Vasconcellos e Conceição Vasconcellos, o amor a vocês é incondicional; à minha irmã Eugênia; ao meu cunhado Jorge e minha cunhada Enia; e aos meus afilhados e sobrinhos João e Nicolas. A ausência muitas vezes se fez presente durante essa trajetória, mas o apoio de vocês foi fundamental para chegar até aqui.

Ao meu marido Daniel, que certa vez disse “quero ser o seu porto seguro, assim estará livre para realizar seus sonhos”. Obrigada por ser meu maior parceiro e incentivador, principalmente por não medir esforços para me auxiliar a ser uma mulher realizada.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, pois toda a honra e glória devem ser dadas a Ele sempre. Posteriormente, ao meu marido por todo apoio e suporte nesses últimos dois anos.

Aos meus pais, por todo carinho e incentivo, além de toda formação acadêmica e de caráter.

À minha amiga Édila, por me ajudar na coleta semanalmente e dedicação a esse trabalho como se fosse o dela.

Aos meus mestres Ana Paula Colombo e Lucio Gonçalves que acreditaram no meu potencial e trabalho, me encorajando todo momento a continuar, por toda inspiração e por serem uma grande referência profissional a seguir.

Às companheiras de laboratório, pelos ensinamentos e ajudas para realização desse trabalho.

Às amigas de turma, que no início eram apenas colegas, mas ao longo desses dois anos construímos uma bela amizade.

À doutora Norma Rubinni, por me receber e compartilhar da sua rotina de ambulatório e pela colaboração para realização desse trabalho. Além de todo conhecimento e disposição para elucidar dúvidas que surgiram no caminho.

Ao professor Dennis Carvalho, por me apresentar ao ambulatório de imunologia e fazer a ponte para colaboração desse trabalho.

Aos meus pacientes, pois sem eles não teria nada.

Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para minha trajetória e para a realização do presente trabalho.

Aos órgãos de Fomento CNPq, FAPERJ e CAPES, pelo apoio financeiro durante meu período de formação.

RESUMO

FERREIRA, Mariana Vasconcellos Martins. MICROBIOTA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICO-TERAPÊUTICOS E BUCAIS DE JOVENS INFECTADOS PELO HIV-1 POR VIA VERTICAL. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Odontologia - Periodontia) –Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Pouca informação existe sobre as condições bucais de indivíduos HIV+ infectados pela via de transmissão vertical. Assim, o presente trabalho teve por objetivo determinar a condição bucal de adolescentes e jovens adultos HIV+, infectados por transmissão vertical, correlacionando os parâmetros bucais com a microbiota oral e com parâmetros relacionados à infecção pelo HIV. 34 indivíduos HIV+, entre 14-24 anos de idade foram selecionados a partir de um Hospital Público de referência para infecção pelo HIV. Além disso, um grupo controle de 36 pacientes HIV-negativos foi selecionado. Dados laboratoriais relacionados à infecção HIV foram obtidos dos prontuários médicos. Exame odontológico, incluindo medidas clínicas de profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI), sangramento à sondagem (SAS), sangramento gengival (SG), biofilme supragengival visível (PL), dentes ausentes e CPOD, foi realizado por um examinador calibrado. Amostras de saliva e de biofilme subgengival de 13 sítios periodontais aleatórios foram obtidas de cada paciente. A composição da microbiota salivar e periodontal foi determinada pelo método do checkerboard. Diferenças entre os grupos clínicos em relação aos parâmetros periodontais e à microbiota subgengival foram avaliadas pelos testes Qui-quadrado e Mann-Whitney. No grupo HIV+, análise de correlação de Spearman foi realizada para se avaliar associações entre parâmetros relacionados à infecção HIV e perfil microbiológico. 91,2% dos jovens HIV + (18,9±3,1 anos; 56% homens) estavam sob HAART, mas 55% foram classificados como tendo AIDS. Os níveis médios de células TCD4 (674,8±359 mm³) eram relativamente normais, no entanto, uma carga viral média bastante elevada foi detectada (46.407±154.051 cópias/mL). Quando comparados aos indivíduos HIV-negativos (21,2±1,6 anos; 59% homens), pacientes HIV+ apresentaram um maior % de sítios com PL, SAS, SG, PS, NCI e PS entre 4-6 mm (p<0,05). Pacientes HIV+ apresentaram alta prevalência e níveis de estreptococos orais, patógenos periodontais e espécies oportunistas na microbiota salivar. A maioria das espécies avaliadas no biofilme periodontal foi detectada em maior frequência e níveis no grupo HIV+, incluindo *A. odontolyticus*, *C. albicans*, *E. faecalis*, espécies entéricas, *E. nodatum*, *F. alocis*, *F. nuc. nucleatum* (p<0,0013), e poucas diferenças entre os grupos foram observadas. Adolescentes e jovens HIV+ infectados por transmissão vertical apresentam mais sinais de destruição periodontal e inflamação, bem como maior prevalência de microrganismos orais e oportunistas em comparação com jovens HIV-negativos. Análises adicionais são necessárias para determinar o impacto da infecção pelo HIV a longo prazo (transmissão vertical) na saúde bucal destes indivíduos em idades mais avançadas.

Palavras-chave: Infecção pelo HIV; Saúde Bucal; Transmissão Vertical; Doença Periodontal; CPOD; Microbiota Oral; Checkerboard.

ABSTRACT

FERREIRA, Mariana Vasconcellos Martins. MICROBIOTA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICO-TERAPÊUTICOS E BUCAIS DE JOVENS INFECTADOS PELO HIV-1 POR VIA VERTICAL. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Odontologia - Periodontia) –Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Limited data are available regarding the oral conditions of HIV+ individuals infected by vertical transmission. Thus, this study aimed to determine the oral status of HIV+ adolescents and young adults infected by vertical transmission. 34 HIV+ between 14-24 years of age were selected from a Public Hospital of reference for HIV infection. A control group of 36 HIV- individuals was also selected. Laboratorial parameters related to HIV infection were obtained from the medical records. Full-mouth dental examination including measurements of probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP), gingival bleeding (GB), visible supragingival biofilm (SB), missing teeth and DMFT was carried out by one trained examiner. Saliva and subgingival biofilm samples obtained from 13 random periodontal sites were obtained from each patient. The composition of the salivary and periodontal microbiota was determined by the checkerboard method. The Mann-Whitney and Chi-square tests evaluated significance of difference between groups regarding clinical and microbiological parameters. In the HIV+ group, analysis of correlation of Spearman was carried out to search for associations between HIV-related parameters and specific microorganisms in saliva and biofilm. 91.2% of the HIV+ youngsters (18.9±3.1 years old; 56% males) were under HAART, but 55% were classified as having AIDS. The mean levels of TCD4 cells (674.8±359mm³) were relatively normal, however a high mean viral load was detected (46.407±154.051viral copies/mL). When compared to HIV- individuals (21.2±1.6 years old; 59% males), HIV+ subjects showed significantly more sites with visible SB, BOP, GB, PD, CAL and PD between 4-6 mm (p<0.05). HIV+ individuals presented high prevalence and counts of oral streptococci, periodontal pathogens and opportunistic species in saliva. The majority of the species evaluated in the subgingival biofilm samples were detected in higher frequency and levels in the HIV+ group, including *A. odontolyticus*, *C. albicans*, *E. faecalis*, enterics species, *E. nodatum*, *F. alocis*, *F. nuc. nucleatum* (p<0.0013), but few significant differences were observed between groups. HIV+ adolescents and young adults infected by vertical transmission presented more signs of periodontal destruction and inflammation, and greater prevalence and counts of oral microorganisms and opportunists compared to HIV- youngsters. Further analyses are needed to determine the impact of long term HIV infection (vertical transmission) in the oral health of these individuals at older ages.

Key Words: HIV infection; Oral Health; Vertical Transmission; Periodontal Disease; DMFT; Oral Microbiota; Checkerboard.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. A incidência de detecção de casos de AIDS a cada 100 mil habitantes por região e ano de diagnóstico. Brasil, 2004 a 2013.....02

Figura 2. História natural da infecção pelo HIV. Fonte: BARTLETT *et al.* (2009).....07

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1. Critérios para definição de caso de AIDS(Critério Rio de Janeiro / Caracas, 1992).....	08
Quadro 2. Definição de caso para vigilância da AIDS para adolescentes e adultos - CDC 1993.....	09
Quadro 3. Principais Drogas utilizadas no tratamento da infecção pelo HIV combinadas em um único comprimido.....	13
Quadro 4. Descrição das principais substâncias utilizadas na HAART seu mecanismo de ação e efeito adverso.....	14

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A.P.V.C.- Ana Paula Vieira Colombo

Aa - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

AIDS - *Acquired Immune Deficiency Syndrome*

ATCC – *American Type Culture Collection*

AZT - Zidovudina

BOP- *Bleeding on probing*

CAL- *Clinical attachment level*

CAPES – *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior*

CDC- *Center for Disease Control and Prevention*

CD45 - *Leucocyte common antigen*

CD4- *Lymphocyte T Helper*

CD8-*Lymphocyte T Cytotoxic*

CPOD- Dentes cariados, perdidos, obturados

DL – Disto-lingual

DMFT- *Decayed, missing, filled teeth*

DNA – *Deoxyribonucleic Acid*

DP – Disto-palatino

DST- Doença sexualmente transmissível

DV- Disto-vestibular

EDTA –*Ethylenediamine Tetraacetic acid*

ELISA - Ensaio imunoenzimático

FDA - *Food and drug administration*

GB – *Gingival bleeding*

GLM – *General Linear Models*

HAART- *Highly Active Antiretroviral Therapy*

HIV – *Human Immunodeficiency Virus*

HUGG- Hospital Universitário Gafrée e Guinle

L – Lingual

M.V. – Mariana Vasconcellos

ML – Mésio-lingual

MP – Mésio-palatino

MS- Ministério da Saúde

MV – Mésio-vestibular

NCI – Nível clínico de inserção

OMS- Organização Mundial da Saúde

ONU- Organização mundial das Nações Unidas

P – Palatina

PD – *Probing depth*

PL – Biofilme dental supragengival

PS – Profundidade de sondagem

RNA - *Ribonucleic Acid*

SAS – Sangramento à sondagem

SB – *Supragingival biofilm*

SG – Sangramento da margem gengival

SNC - Sistema nervoso central

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

SVS - Secretaria de vigilância em saúde

TCD4 - Linfócitos T auxiliar

TCD8 - Linfócitos T citotóxico

TE – Tampão tris-EDTA

UNAIDS- Programa de Conjunto das nações unidas sobre HIV/ Aids

UNIRIO- Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

V- Face vestibular

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	x
LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	xi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Epidemiologia da Infecção pelo HIV.....	01
1.2. Etiologia da Infecção pelo HIV.....	03
1.3. Biologia do HIV e seu Ciclo de Replicação.....	04
1.4. Progressão da Infecção pelo HIV.....	06
1.5. AIDS	07
1.6. A infecção pelo HIV na Adolescência.....	10
1.7. Métodos de Detecção do Vírus HIV.....	11
1.8. HAART.....	12
1.9. Emprego da HAART na Adolescência e Profilaxia na Prevenção da Transmissão Vertical.....	15
1.10. Manifestações e Infecções Bucais na Infecção pelo HIV.....	16
1.11. Histórico da Doença Cárie e Infecção pelo HIV.....	17
1.12. Doença Periodontal e Infecção pelo HIV.....	18
1.13. Microbiota Oral na Infecção pelo HIV.....	20
2. JUSTIFICATIVA.....	20
3. PROPOSIÇÃO.....	21
4. MANUSCRITO CIENTÍFICO.....	22
5. DISCUSSÃO.....	45
6. CONCLUSÃO.....	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	
ANEXO I.....	
ANEXO II.....	

1. INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia da Infecção pelo HIV

No início da década de 80, a infecção pelo HIV foi descrita pela primeira vez como *Acquired Immune Deficiency Syndrome* (AIDS), segundo relatos do *Center For Disease Control and Prevention* (CDC). Os sintomas correspondentes a síndrome foram identificados em um grupo de jovens homens homossexuais, na cidade de Los Angeles e New York - EUA, que apresentavam infecções oportunistas recorrentes. Iniciava-se uma pandemia que posteriormente seria conhecida como AIDS devido ao seu grande impacto global de disseminação, sendo descrita como a “epidemia do século” (MERCHANT *et al.*, 2001; CDC, 2008). Em 1983, o vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi detectado e identificado pela primeira vez em humanos (THE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2008). No ano de 1985, apresentou-se disponível o teste para diagnóstico baseado na detecção de anticorpos anti-HIV-1.

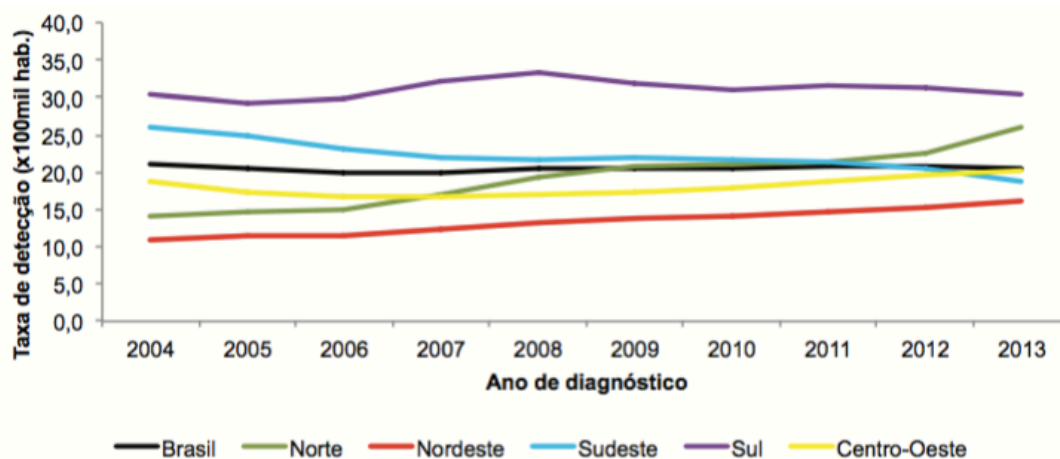
No início da epidemia até o ano de 2014, o Brasil possuía 734.000 (610.000-1.000.000) pessoas infectadas pelo HIV, sendo 44.000 novos casos apenas no ano de 2014 (MS, DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS, 2014). De acordo com o último boletim epidemiológico divulgado pelo Ministério da Saúde (MS), Departamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST), AIDS e Hepatites Virais (2014) de 2000 até junho de 2014 foram registrados 84.558 casos de gestantes infectadas por HIV, sendo a maioria residente na região sudeste (41,1%).

Os casos registrados pertencentes ao boletim epidemiológico de DST, AIDS e Hepatites Virais (2014) são compostos por atendimentos que foram notificados através do sistema de notificações do MS, podendo-se desta maneira se estimar que o número de casos de HIV/AIDS em nosso país seja superior ao de casos registrados, sendo as subnotificações um desafio para o real perfil da infecção no Brasil.

O Programa de Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/ AIDS (UNAIDS) divulgou em 2014 um relatório no qual indica que há 34,2 milhões de pessoas infectadas pelo HIV no mundo, sendo 30,7 milhões de adultos, 16,7 milhões de mulheres e 3,4 milhões de menores de 15 anos, com este último grupo apresentando 90% dos casos adquiridos por transmissão vertical (UNAIDS, 2010). No decorrer desses 25 anos, estima-se que mais de 67 milhões de pessoas tenham sido infectadas pelo vírus, sendo que mais de 25 milhões já foram a óbito devido a complicações que a AIDS ocasiona

em seu portador (UNAIDS, 2010). O número de pessoas atingidas pela doença que foram a óbito superou a Peste Negra durante o século XIV. Em todo mundo, mais de 40% de novos casos acontecem em adultos e jovens entre a faixa etária de 15 a 24 anos de idade (UNAIDS, 2010).

Embora os dados brasileiros indiquem uma estabilização da taxa de incidência de casos de AIDS nos últimos 10 anos, observam-se diferenças significativas nas tendências dessas taxas em macrorregiões do Brasil. No período de 2004 a 2013, dentre as cinco regiões do país, houve uma diminuição da incidência na Região Sudeste e Sul. Em contra partida, no mesmo período, a incidência de casos de AIDS nas regiões Centro-oeste, Norte e Nordeste teve um aumento de 8,6%, 74% e 45,5% respectivamente (MS, SVS, DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS, 2014). A figura a seguir mostra a distribuição da incidência de casos de AIDS a cada 100 mil habitantes nas 5 regiões brasileiras entre o ano de 2004 a 2013 (Figura 1).



Fonte: MS/SVS/Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais.

Nota: (1) Casos notificados no Sinan e Siscel/Siclom até 30/06/2014 e no SIM de 2000 até 2013.

Figura 1. A incidência de detecção de casos de AIDS a cada 100 mil habitantes por região e ano de diagnóstico. Brasil, 2004 a 2013.

A maior concentração de casos de AIDS no Brasil inclui indivíduos com idade entre 25 a 39 anos em ambos os sexos. Porém, entre o sexo masculino compreende-se um aumento significativo de 53,2 % de casos infectados pelo HIV na faixa etária de 15-24 anos nos últimos 10 anos (MS, SVS, DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS, 2014). Para determinar a taxa de transmissão vertical no Brasil estima-se que a

região Sudeste apresente o segundo maior índice (59,2%) de casos notificados (MS, SVS, DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS, 2014)

1.2. Etiologia da Infecção pelo HIV

O HIV caracteriza-se como um retrovírus com genoma de RNA fita simples, pertencente ao grupo dos retrovírus citopáticos, classificados como *Lentivirus* (COFFIN *et al.*, 1986; LIU, 1996), sendo este o agente etiológico da infecção emergente mais importante das últimas décadas, disseminada por vários países e presente em todos os continentes (PIOT *et al.*, 2001). De acordo com sequências genéticas e propriedades sorológicas, esses vírus são classificados em dois tipos, HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 é o mais disseminado no mundo e principal responsável pela pandemia da AIDS. Já o HIV-2, que tem um ciclo de replicação viral mais lento, possui uma maior incidência na África Ocidental (CLAVEL *et al.*, 1986; COFFIN *et al.*, 1986). No Brasil, o HIV-1 é o responsável pela infecção na maioria dos casos registrados, enquanto o HIV-2 é mais raro, com apenas 15 casos identificados até 2010. Além disso, os indivíduos infectados pelo HIV-2 apresentam resistência aos medicamentos que compõem o HAART (do inglês *Highly Active Antiretroviral Therapy*), particularmente os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo, e o impacto desta infecção sobre a mortalidade dos indivíduos infectados permanece desconhecida (MS, 2010).

O HIV pode ser transmitido de diferentes formas : via sexual, sangue e hemoderivados, transmissão vertical e por acidentes ocupacionais. O contágio por via sexual ocorre pela prática de sexo sem proteção, independente da orientação sexual do indivíduo. Relações com exposição ao sêmen possuem risco aumentado para contaminação do vírus, seja por via anal, vaginal ou oral. Além disso, a presença de processos inflamatórios, relações em período menstrual e a presença de outras DSTs aumentam o risco para aquisição da infecção (HALLAL *et al.*, 2010).

O contágio por sangue pode ocorrer devido ao compartilhamento de agulhas e seringas no consumo de drogas injetáveis. Do mesmo modo, a contaminação por transfusão de sangue e/ou hemoderivados e transplante de órgãos também pode ocorrer, sendo esses casos atualmente mais raros devido à obrigatoriedade da testagem do RNA viral em doadores e à pesquisa de anticorpos anti-HIV (HALLAL *et al.*, 2010).

A transmissão vertical pode ocorrer durante a gestação, no momento do parto e pelo aleitamento materno. O risco da transmissão vertical pode ser reduzido a menos de 1% com a introdução da profilaxia antirretroviral durante a gestação e ao recém-nato, bem como a oferta de fórmula láctea e/ou, em situações especiais, a utilização de leite materno pasteurizado em bancos de leite credenciados pelo MS (MS, SVS, DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS, 2010).

Os acidentes ocupacionais se dão devido à contaminação de forma acidental com material biológico infectado. A redução desses acidentes pode ser obtida através da adoção de práticas universais de biossegurança e a profilaxia antirretroviral pós-acidente (HALLAL *et al.*, 2010). Comparativamente, o risco para aquisição do HIV por um acidente ocupacional é muito inferior aos acidentes envolvendo os vírus das hepatites B e C. Segundo HALLAL *et al.* (2010), saliva, suor, lágrimas, urina e fezes, desde que não estejam contaminados com sangue não oferecem risco de transmissão do HIV.

1.3. Biologia do HIV e seu Ciclo de Replicação

O vírus HIV possui tropismo por células que apresentam a molécula CD4, sendo as principais células-alvo no organismo os linfócitos TCD4. Foi descrita que a infecção destas células ocorre predominantemente no trato gastrintestinal, onde a maioria dos linfócitos TCD4 é encontrada (BRENCHLEY *et al.*, 2006). A infecção dos macrófagos e das células dendríticas pelo HIV já foi demonstrada, e estas células infectadas constituem um reservatório importante do vírus (TURVILLE *et al.*, 2002).

O HIV consiste em uma partícula esférica e apresenta, externamente, um envelope composto por uma bicamada lipídica proveniente da membrana da célula hospedeira, e possui glicoproteínas virais, a gp120 encontrada na superfície e a gp41 transmembrânica (ZHU *et al.*, 2006). Essas glicoproteínas superficiais são importantes no momento do contato entre a partícula viral e a célula hospedeira, pois se ligam aos receptores do linfócito TCD4 e aos co-receptores localizados na membrana plasmática de linfócitos T auxiliares, monócitos, macrófagos e células dendríticas foliculares (HOFFMAN *et al.*, 2002). Internamente ao envelope, encontra-se a matriz viral formada pela proteína p17. O capsídeo viral apresenta simetria cônica, composto pela proteína p24 e envolve duas cópias lineares de RNA de fita simples, além de enzimas

como protease, transcriptase reversa, integrase e a proteína p7 de ligação ao RNA. No seu interior, encontram-se proteínas necessárias à replicação viral (GOUJON *et al.*, 2007,2008; FUJITA *et al.*, 2008)

A entrada do vírus se faz por um mecanismo de fusão da cápsula viral com a membrana celular da célula hospedeira (TILTON & DOMS, 2010). Inicialmente ocorre a ligação da partícula viral a receptores específicos localizados na superfície da célula alvo, através da interação da glicoproteína de superfície gp120, a qual se liga ao receptor CD4 com alta afinidade (PERMANYER *et al.*, 2010). A ligação da subunidade de gp120 com a molécula CD4 induz uma mudança na conformação da membrana celular que irá promover a ligação secundária da gp120 com o co-receptor CCR5 ou CXCR4. A ligação do co-receptor induz uma mudança na conformação na glicoproteína gp41, que expõe uma região hidrofóbica, chamada de peptídeo de fusão, que se insere na membrana celular, permitindo a fusão da membrana do vírus com a membrana da célula alvo. Posteriormente, ocorre a penetração do vírus e o nucleocapsídeo é liberado no citoplasma (PERMANYER *et al.*, 2010).

Uma vez que o vírus penetrou na célula, as enzimas do complexo nucleocapsídeo tornam-se ativas e o ciclo viral tem início. Nesta etapa, ocorre o desnudamento e a liberação do conteúdo do nucleocapsídeo no citoplasma da célula hospedeira. A etapa seguinte é a transcrição reversa, mediada pela enzima viral transcriptase reversa (SCHRODER *et al.*, 2002; MACNEIL *et al.*, 2006). Ainda no citoplasma, esta enzima viral utiliza o RNA transportador presente no vírus, como um iniciador, e ocorre a transcrição das fitas de RNA em um filamento híbrido RNA-DNA. Posteriormente, a transcriptase reversa atua como ribonuclease degradando a fita de RNA. Em seguida, sintetiza a fita positiva de cDNA, que será transportada para o núcleo, onde pode haver integração do provírus no genoma da célula hospedeira, através da enzima integrase (MAERTENS *et al.*, 2003; LLANO *et al.*, 2006; VANDEGRAAF *et al.*, 2006).

O genoma proviral integrado ao material genético da célula infectada dará início à fase de replicação com a transcrição e o processamento do RNA viral. Esta fase terá início com a ação da enzima RNA polimerase II, que transcreve os provírus em RNA mensageiros virais, que vão para o citoplasma da célula infectada. No citoplasma, utilizando o maquinário celular, o RNA mensageiro será traduzido, deste modo dar

origem às suas proteínas estruturais (SONZA *et al.*, 2002). Estas proteínas são reunidas no citoplasma com as moléculas de RNA viral (genômico) e migram para a membrana, em regiões onde há acúmulo de glicoproteínas virais, saindo da célula por brotamento. Após a liberação, a partícula viral sofre uma auto-ativação e assume sua forma infecciosa (FREED, 2001)

1.4. Progressão da Infecção pelo HIV

A infecção pelo HIV, com o passar do tempo, pode causar uma progressiva supressão do sistema imunológico, devido ao tropismo viral pelos linfócitos T CD4 que compõem o sistema imune. Assim, o indivíduo infectado torna-se susceptível a diversas infecções oportunistas que podem se manifestar de forma recorrente, dependendo do estado de sua imunidade, causando, desta forma, uma debilitação progressiva, podendo conduzir o paciente ao óbito, caso não ocorra intervenção. A AIDS representa o estágio mais avançado da infecção pelo HIV (MS, 2012).

Cerca de três estágios foram descritos até o indivíduo infectado desenvolver a AIDS. São eles a síndrome retroviral aguda, a fase assintomática e a fase sintomática. Esse curso natural da infecção é descrito apenas para indivíduos infectados por via horizontal (Figura 2).

A síndrome retroviral aguda consiste em uma doença transitória sintomática, com 2 a 4 semanas de duração. O início ocorre em torno de 2 a 4 semanas após a exposição ao vírus, embora já tenha sido descrita em até 10 meses após a infecção primária. Cerca de 50 a 90% dos indivíduos infectados pelo HIV manifestam essa fase. O espectro clínico assemelha-se ao da mononucleose infecciosa. Dependendo da intensidade dos sinais e sintomas, pode passar despercebida ou ser confundida com outra virose (BARTLETT *et al.*, 2009; MS, SVS, PN-DST/AIDS, 2012). A fase assintomática caracteriza-se por um período sem sinais e sintomas, e pode ter uma duração variável. Nessa fase, 50 a 70% dos portadores do vírus podem apresentar apenas uma linfadenopatia generalizada persistente e indolor. A carga viral mantém-se controlada e os linfócitos TCD4 permanecem em níveis normais ou pouco reduzidos, sendo um quadro estável que pode perdurar por anos, variando de indivíduo para indivíduo (BARTLETT *et al.*, 2009; MS, SVS, PN-DST/AIDS, 2012). Na fase sintomática, observam-se manifestações relacionadas à presença de imunodeficiência pelo HIV, em grau

variável, mas que não preenchem os critérios diagnósticos para AIDS. O indivíduo irá apresentar um aumento da carga viral e uma diminuição da contagem das células TCD4 circulantes (BARTLETT *et al.*, 2009; MS, SVS, PN-DST/AIDS, 2008).

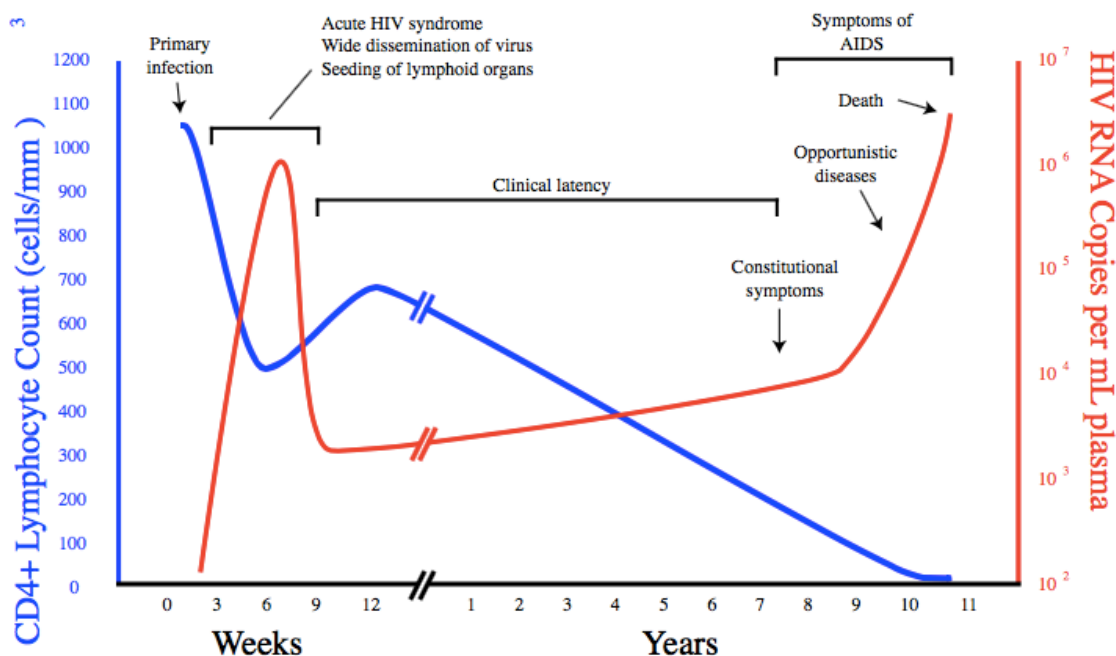


Figura 2. História natural da infecção pelo HIV. Fonte: BARTLETT *et al.* (2009).

Segundo SHEARER *et al.* (1997), a história natural da doença ocorre de maneira diferenciada quando há infecção viral por transmissão vertical. A criança irá apresentar uma viremia primária no início da sua vida por volta dos 2 meses de idade, podendo atingir valores superiores a $1.000.000$ cópias/ (mm^3) . As taxas de declínio se apresentam mais lentas do que em adultos, sendo difícil definir limites precisos para a progressão da doença, principalmente no primeiro ano de vida. A viremia plasmática declina lentamente, mesmo sem terapia antirretroviral, até os primeiros 5 anos de vida.

1.5. AIDS

A fase mais tardia da infecção pelo HIV consiste na etapa em que os indivíduos infectados possuem os níveis de linfócitos TCD4 extremamente baixos (< 200 células/ mm^3) e carga viral muito elevada. Isto torna o indivíduo mais susceptível às infecções oportunistas (MS, SVS, PN-DST/AIDS, 2008). Outros sintomas associados a

esta fase são diarreia crônica, encefalites, meningites, tumores no trato gastrointestinal e/ou na pele. A definição atualmente utilizada no Brasil para fins de notificação e vigilância epidemiológica considera como caso clínico de AIDS, para indivíduos com idade igual ou superior a 13 anos, aquele indivíduo que apresenta evidência laboratorial de infecção pelo HIV e um somatório de, no mínimo, 10 pontos de acordo com a escala de sinais, sintomas ou doenças descrita a seguir no Quadro 1 (CRITÉRIO RIO DE JANEIRO/ CARACAS, 1992; MS 2004).

Quadro 1. Critérios para definição de caso de AIDS (Critério Rio de Janeiro / Caracas, 1992).

SINAIS / SINTOMAS / DOENÇAS	Pontos
Sarcoma de Kaposi	10
Tuberculose disseminada/extrapulmonar/pulmonar não cavitária	10
Candidíase oral ou leucoplasia pilosa	5
Tuberculose pulmonar cavitária ou não especificada	5
Herpes zoster em indivíduo com até 60 anos de idade	5
Disfunção do sistema nervoso central	5
Diarréia por um período igual ou superior a 1 mês	2
Febre igual ou superior a 38º C, por um período igual ou superior a 1 mês	2
Caquexia ou perda de peso corporal superior a 10%	2
Astenia por um período igual ou superior a 1 mês	2
Dermatite persistente	2
Anemia e/ou linfopenia e/ou trombocitopenia	2
Tosse persistente ou qualquer pneumonia (exceto tuberculose)	2
Linfadenopatia maior ou igual a 1 cm, maior ou igual a 2 sítios extra-inguinais, por um período igual ou superior a 1 mês	2

Fonte: MS, 2004

Em 1993, o CDC elaborou uma classificação para identificar o indivíduo infectado pelo HIV (Quadro 2), que reflete o espectro clínico e a progressão da doença sistematizada com a combinação de duas variáveis: a contagem de linfócitos TCD4 em sangue periférico e a avaliação de categorias clínicas (A, B, C). Na categoria A, o paciente apresenta infecção assintomática com linfadenopatia persistente e generalizada, infecção aguda ou primária. Já na categoria B, o paciente apresenta uma fase sintomática incluindo a angiomatose bacilar, a candidíase vaginal persistente a mais de um mês, além de candidíase orofaríngea, displasia cervical avançada ou carcinoma *in situ* com sintomas constitucionais como febre acima de 38,5°C ou diarreia com duração de um mês. Na categoria C, o indivíduo apresenta candidíase esofagiana, traqueal e/ou brônquica, criptococose extrapulmonar, carcinoma invasivo cervical,

criptosporidiose crônica intestinal em um período superior a um mês (CASTRO *et al.*, 1992; RACHID & SCHECHTER, 2008).

Quadro 2. Definição de caso para vigilância da AIDS para adolescentes e adultos - CDC 1993.

	Categorias Clínicas		
	A	B	C
TCD4	Assintomático ou Infecção Aguda pelo HIV ou Linfadenopatia Generalizada Persistente	Condições Sintomáticas (*) não A ou não C	Condições Indicativas de AIDS (**)
(1) ≥ 500	A1	B1	C1
(2) 200 a 499	A2	B2	C2
(3) < 200	A3	B3	C3

(*) Categorias B: definidas como condições sintomáticas ocorrendo em adulto ou adolescente infectado pelo HIV que apresente pelo menos um dos seguintes critérios:

a) sejam atribuídas à infecção pelo HIV ou indiquem um defeito na imunidade celular; **b)** tenham o curso clínico complicado pela infecção pelo HIV.

Alguns exemplos: Angiomatose bacilar; Candidíase orofaríngea; Candidíase vulvovaginal persistente ou resistente; Doença inflamatória pélvica; Displasia cervical (moderada ou avançada / carcinoma cervical *in situ*); Leucoplasia pilosa oral; Púrpura trombocitopênica idiopática; Sintomas constitucionais, tais como febre ($> 38,5^{\circ}\text{C}$) ou diarreia com duração maior que 1 mês; Neuropatia periférica; Herpes zoster, envolvendo 2 ou mais episódios ou 1 ou mais dermatômos.

() Categorias Condições indicativas de AIDS:** Pneumonia bacteriana recorrente (2 ou mais episódios em 12 meses); Candidíase de brônquios, traquéia ou pulmões; Candidíase esofageana; Carcinoma cervical invasivo, confirmado por biópsia; Coccidioidomicose disseminada ou extrapulmonar; Criptococose extrapulmonar; Criptosporidiose crônica intestinal (duração > 1 mês); Doença por citomegalovírus (outra além de fígado, baço ou gânglios); Encefalopatia relacionada ao HIV; Herpes simples: úlceras crônicas (duração > 1 mês), ou bronquite, pneumonite ou esofagite; Histoplasmose disseminada ou extrapulmonar; Isosporíase intestinal crônica (duração > 1 mês); Sarcoma de Kaposi; Linfoma de Burkitt, imunoblástico ou primário do SNC; Micobacteriose (*M. avium* ou *M. Kansasii*) disseminada ou extrapulmonar; Tuberculose pulmonar ou extrapulmonar; Outras espécies de Micobactérias ou espécies não identificadas, disseminadas ou extrapulmonares; Pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* (*P. carinii*); Leucoencefalopatia multifocal progressiva; Septicemia recorrente por *Salmonella* (não-tifóide); Toxoplasmose cerebral; Síndrome consumitiva devida ao HIV (perda de peso involuntária $> 10\%$), associada com diarreia crônica (2 ou mais evacuações por dia, por 1 mês ou mais) ou fraqueza crônica e febre documentada por 1 mês ou mais.

Fonte: CASTRO *et al.* (1992); RACHID & SCHECHTER (2008).

1.6. A infecção pelo HIV na Adolescência

Os adolescentes infectados pelo HIV ou que já manifestaram a AIDS constituem uma população heterogênea no que se refere à forma e a idade nas quais ocorreu a transmissão do vírus, além das condições clínicas, imunológicas, psicossociais, culturais e o histórico de tratamento (MS, 2006).

Adolescentes que se infectaram pelo HIV por transmissão vertical podem ter diagnóstico no início de suas vidas ou ao manifestarem algum quadro grave de comprometimento sistêmico sem causa aparente. Este grupo apresenta variações no comprometimento imunológico e na resposta ao HAART. Geralmente, encontram-se nos estágios iniciais da puberdade, podendo ocorrer retardo puberal e alterações de desenvolvimento neuro-cognitivo, o que acarreta importantes repercussões no desenvolvimento somático e emocional (MS, 2006). Os que tiveram diagnóstico durante a infância caracterizam-se por apresentar vínculos sólidos com o serviço de saúde e cuidadores, uma vez que, geralmente, estão em tratamento há muitos anos.

A fantasia de invulnerabilidade, própria do adolescente, pode dificultar a compreensão e aceitação do diagnóstico de viver com HIV/AIDS, comprometendo de forma direta na adesão ao tratamento (MS, 2013). A autoimagem corporal do jovem com HIV/AIDS pode ser fragilizada pela doença ou mesmo pelo efeito do uso dos medicamentos. Por exemplo, a lipodistrofia pode ser acentuada, assim como o desenvolvimento corporal, levando a uma imagem infantilizada do adolescente, o que pode contribuir diretamente para quadros depressivos, de ansiedade e isolamento (MS, 2013).

Além das alterações corporais, a terapia antirretroviral também está associada ao aumento dos níveis de colesterol e triglicérides e à resistência à insulina, tornando o aconselhamento dietético e incentivo à prática de atividade física fundamentais para o acompanhamento clínico dessa população (MS, 2013).

Os principais problemas encontrados na assistência a esse grupo são: revelação do diagnóstico, orfandade, desestruturação familiar e início da atividade sexual (FOX, 2002). Parte desse grupo atinge a adolescência exposto a múltiplos regimes de HAART, apresentando vários efeitos adversos, com reduzidas opções terapêuticas, necessitando de acesso a novas drogas (CHENG *et al.*, 2002).

1.7. Métodos de Detecção do Vírus HIV

Logo após a descoberta do HIV, foram desenvolvidos imunoenaios para o diagnóstico da infecção. Nas últimas décadas, quatro gerações de imunoenaios foram desenvolvidos. Essas gerações foram definidas de acordo com a evolução das metodologias empregadas, a partir do primeiro ensaio disponível comercialmente, no ano de 1985 (BARLETT *et al.*, 2009). O diagnóstico da infecção pelo HIV é feito em laboratório a partir da realização de testes sorológicos e moleculares, ou por meio de testes rápidos. No Brasil, o diagnóstico da infecção pelo HIV é regulamentado por meio da Portaria 29, de 14 de dezembro de 2013, que aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças (MS, 2013). Tem por objetivo melhorar a qualidade do diagnóstico da infecção pelo HIV e fornecer uma base racional para assegurar que o diagnóstico seja seguro e concluído em tempo hábil.

A partir da suspeita de risco da infecção pelo HIV, deve-se considerar o tempo necessário para que o exame detecte a presença do HIV no sangue ou fluido corporal utilizado para o diagnóstico da infecção. A duração desse período depende do tipo do teste, da sensibilidade e do método utilizado para detectar o marcador, seja ele RNA viral, DNA pró-viral, antígeno p24 ou anticorpo.

Os testes sorológicos baseiam-se na detecção de anticorpos e/ou antígenos, ou de HIV presentes na amostra obtida do indivíduo. Em adultos portadores do vírus, os anticorpos podem estar presentes no sangue em média de 4 a 12 semanas após a infecção. Em gestantes, os anticorpos maternos ultrapassam a barreira placentária chegando ao feto, principalmente no terceiro trimestre de gestação, e podem persistir até os 18 meses de idade do bebê. Com isso, pode ocorrer uma interferência no diagnóstico sorológico da infecção HIV por via vertical. Logo, métodos que realizam a detecção de anticorpos não são recomendados para o diagnóstico de crianças menores de 18 meses, sendo necessária a realização de testes moleculares, como a quantificação do RNA viral (MS, 2013).

Os testes sorológicos utilizados no diagnóstico da infecção pelo HIV são o ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência indireta, Western blot, imunoblot e imunoblot rápido (MS, 2013). O principal teste utilizado no diagnóstico sorológico do HIV é o ELISA. Nas últimas décadas, foram desenvolvidas quatro gerações de ELISA (MS, 2013). Os ensaios de terceira geração permitiram a detecção de IgM e IgG, e

representaram um avanço no diagnóstico da infecção recente pelo HIV; porém, novas tecnologias foram desenvolvidas, como por exemplo os testes de quarta geração que possibilitam a detecção combinada de antígeno e anticorpo, permitindo diminuir ainda mais o período de janela diagnóstica do HIV e aumentando a sensibilidade do teste (MS, 2013).

Os testes de terceira e quarta geração são mais sensíveis do que os testes confirmatórios convencionais Western blot, Imunoblot, ou Imunoblot Rápido. Por essa razão, testes moleculares empregados como testes confirmatórios são mais adequados para o diagnóstico de infecções agudas e/ou recentes. Indivíduos na fase crônica da infecção são identificados com sucesso com qualquer combinação de testes de triagem de terceira ou quarta geração, seguido por um teste confirmatório Western Blot ou teste molecular. Na realidade, esses indivíduos constituem a maioria (>95%) dos casos diagnosticados (MS, 2013).

Os testes rápidos são ensaios imunoenzimáticos simples que podem ser realizados em até 30 minutos, e são recomendados para população vulnerável, indivíduos envolvidos em acidentes ocupacionais, pessoas que sofreram violência sexual, e em Centro de testagem e aconselhamento móvel, que prestam atendimento a grupos de comportamento de risco (MS, 2013). Desde março de 2006, o Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais do MS vem implantando o teste rápido como diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil. Esta metodologia é utilizada no mundo inteiro, pois traz vantagens significativas quanto ao método laboratorial, devido a simples realização, dispensando a atuação de profissionais especializados e de equipamentos de laboratório, permitindo o conhecimento dos resultados e assistência imediata aos pacientes (MS, 2013). A desvantagem da adoção desse método seria sua menor especificidade quando comparada aos testes moleculares (MS, 2013).

1.8. HAART

A primeira droga utilizada no combate a progressão da infecção pelo HIV foi a zidovudina (AZT), um inibidor de transcriptase reversa nucleosídeo. Em seguida, diversas drogas inibidoras de transcriptase reversa surgiram iniciando deste modo a terapia antirretroviral (ART) (MOLOTSKY,1987).

Em 1997, Hammer e colaboradores introduziram uma nova combinação de drogas antirretrovirais para o combate à progressão da infecção pelo HIV, denominado terapia antirretroviral de alta potência (HAART). O esquema terapêutico composto por dois análogos de nucleosídeo e um inibidor de protease foi testado em 1156 pacientes infectados com HIV-1. O estudo obteve como resultado uma progressão mais lenta da doença em pacientes com contagem de linfócitos TCD4 igual a 200 células/mm³ quando comparados a pacientes submetidos ao esquema ART. O Quadro 3 descreve as principais drogas utilizadas no tratamento para controle da infecção do HIV.

Quadro 3: Principais drogas utilizadas no tratamento da infecção pelo HIV combinadas em um único comprimido.

Nome Comercial	Substância	Data de aprovação pelo FDA*
Combivir	Lamivudina + zidovudina	26 de Setembro, 1997
Kaletra	Lopinavir + ritonavir	15 de Setembro, 2000
Trizivir	Abacavir + lamivudina + zidovudina	15 de Novembro, 2000
Truvada	Tenofovir disoproxil fumarate + emtricitabina	2 de Agosto, 2004
Atripla	Emtricitabina + tenofovir disoproxil fumarate + efavirenz	12 de Julho, 2006
Stribild	Elvitegravir + cobicistat + emtricitabina + tenofovir disoproxil fumarate	27 de Agosto, 2012
Triumeq	Abacavir + dolutegravir + lamivudina	22 de Agosto, 2014
Evotaz	Atazanavir + cobicistat	29 de Janeiro, 2015
Prezcobix	Darunavir + cobicistat	29 de Janeiro, 2015
Dutrebis	Lamivudina + raltegravir	6 de Fevereiro, 2015
Genvoya	Elvitegravir + cobicistat + emtricitabina + tenofovir alafenamide fumarate	5 de Novembro, 2015

Fonte: Guia para uso de agentes antirretrovirais em adolescentes e adultos infectados pelo HIV-1, NIH, 2015. *FDA: *Food and drug administration*.

A introdução da HAART gerou uma redução significativa da mortalidade e morbidade das infecções associadas ao HIV (PALELLA *et al.*, 1998). Com ela, houve o aumento da sobrevida, a busca por uma melhor qualidade de vida e a mudança de paradigma de uma doença com diagnóstico letal para uma patologia de caráter crônico, com uma expectativa de vida por volta de 70 anos. Tais fatores contribuem de forma significativa para o enfrentamento da doença, tendo em conta o crescimento diretamente proporcional da pesquisa científica nesta temática, incluindo a saúde

bucal dos indivíduos acometidos (SAMJI *et al.*, 2013). Apesar dos avanços no tratamento para HIV e o surgimento constante de novas drogas no mercado, com consequente redução da mortalidade e aumento da sobrevida, o uso contínuo da HAART gera diversos efeitos colaterais, sendo os mais comuns o aumento da glicemia, das enzimas hepáticas e triglicerídeos, náuseas, cefaleia, fadiga e vômitos (BARTLETT *et al.*, 2009; HALLAL *et al.*, 2010; NASI *et al.*, 2016). O quadro 4 descreve as principais substâncias e seus efeitos colaterais na saúde do indivíduo.

Quadro 4: Descrição das principais substâncias utilizadas na HAART seu mecanismo de ação e efeito adverso.

Tipo	Droga	Efeito	Efeito Adverso
Inibidor de Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeo	Lamivudina/Emtricitabine, Tenofovir e Abacavir	Impede o RNA viral de transcrever em DNA pró-viral	Esteatose hepática, miodistrofia, neuropatia periférica, disfunção mitocondrial
Inibidor de Transcriptase Reversa Não Análogo de Nucleosídeo	Efavirez/ Nevirapina	Impede o RNA viral de transcrever em DNA proviral	Efeitos Neuropsiquiátricos, ideias de suicídios; hepatotoxicidade grave principalmente em mulheres com contagem alta de CD4
Inibidor de Protease	Ritonavir	Inibe a clivagem proteica viral	Possui grande interação medicamentosa; lipodistrofia, aumento de triglicerídeos e risco de infarto do miocárdio
inibidores de Integrase	Raltegravir	Impede a integração do DNA viral a célula do hospedeiro	Aumento de creatinina e raramente miopatia
Inibidores de Fusão	Enfuvirtida	Impede a entrada do vírus na célula	Necrose no local da aplicação da medicação

Fonte: Adaptado de JOHNSON *et al* (2001); BIRKUS *et al.* (2002); WALMSLEY (2007); LEE & CARR (2012); USACH *et al.* (2013).

O esquema terapêutico utilizado para cada paciente irá variar de acordo com o nível de carga viral detectável e contagem de linfócitos TCD4+. Caso o indivíduo apresente mesmo com o uso da medicação antirretroviral níveis detectáveis de carga viral, o mesmo poderá sugerir falha no esquema terapêutico ou mesmo resistência a medicação (MS, 2013). Em casos de resistência, o genótipo viral é solicitado para

direcionar no novo esquema terapêutico, pois o resultado do exame determinará qual ou quais drogas o indivíduo pode apresentar falência (MS, 2013).

1.9. Emprego da HAART na Adolescência e Profilaxia na Prevenção da Transmissão Vertical

A dosagem dos medicamentos que compõem o esquema antirretroviral deve ser prescrita de acordo com os estágios de puberdade de Tanner (Anexo I, MARSHALL & TANNER, 1970). Recomenda-se usar doses pediátricas, calculadas a partir da superfície corporal ou peso, para o adolescente com estadiamento de Tanner I e II, e doses de adultos para o estágio de Tanner V. Para os estágios intermediários, Tanner III e IV, o tratamento deve ser individualizado, e os esquemas dos adolescentes devem ser verificados a cada consulta (CDC, 2008).

O início da terapia antirretroviral na adolescência envolve aspectos desafiadores como a revelação do diagnóstico e adesão ao esquema terapêutico. Tanto para os adolescentes com progressão lenta da infecção, isto é, com uma infecção pelo vírus de longa duração que ainda não fizeram o uso da terapia antirretroviral, como para os jovens infectados na adolescência, o início do tratamento pode implicar mudanças importantes no estilo de vida, com possíveis repercussões ao longo do tempo (MS, 2006). Nesta população, os esquemas com inibidores de transcriptase reversa possuem como grande vantagem o baixo risco de dislipidemia e lipodistrofia. Os esquemas que envolvem os inibidores de protease devem ser combinados com ritonavir como adjuvante farmacológico, pois gera níveis plasmáticos mais elevados e estáveis do inibidor de protease por tempo mais prolongado, o que implica em menor risco de desenvolvimento de resistência viral por mutação (SAMARA *et al.*, 2007).

Ao escolher o esquema inicial, o médico deve considerar não somente a eficácia e a durabilidade do esquema e o perfil de efeitos adversos, mas também fatores psicológicos, socioeconômicos e culturais do paciente e/ou cuidadores que possam comprometer a adesão a esquemas de maior complexidade (SUS, 2009). Atualmente, as diretrizes no tratamento de adolescentes infectados pelo HIV incluem o esquema medicamentoso proposto, além do controle dietético e a prática de exercícios. Todas essas medidas têm por finalidade minimizar os possíveis efeitos

adversos da terapia (MS, 2014).

A infecção pelo HIV é uma doença crônica e seu controle requer a adesão do indivíduo ao tratamento. Porém, estudos identificaram que adesão ao tratamento é insatisfatória e está diretamente correlacionada com o nível de escolaridade dos indivíduos (KELVIN *et al.*, 2000; MURPHY *et al.*, 2001; RAO *et al.*, 2007; CASOTTI *et al.*, 2011; BEKKER *et al.*, 2016). Como consequência da frequente redução da adesão ao tratamento durante a adolescência, há uma maior dificuldade no controle das taxas de replicação viral em pacientes nessa faixa etária (MS, 2014).

Em 2014, o MS atualizou o protocolo de tratamento clínico para crianças e adolescentes infectados com o HIV. Entre as novas recomendações propostas, está o tratamento de recém-nascidos expostos ao vírus devido à ausência de terapia antirretroviral durante a gestação. A nova diretriz de tratamento recomenda que todos os recém-nascidos de mulheres infectadas pelo HIV devem receber profilaxia com AZT nas primeiras 4 horas de vida, combinada a Nevirapina. O esquema detalhado inclui a utilização de AZT, ministrado durante 4 semanas, e Nevirapina ministrada em três doses: primeira dose ministrada nas 48 horas após o nascimento, segunda dose 48 horas após a primeira dose, e a terceira dose 96 horas após a segunda dose (MS, 2014)

1.10. Manifestações e Infecções Bucais na Infecção pelo HIV

Com a introdução da HAART, houve um impacto significativo na redução dos casos de manifestações orais oportunistas como o sarcoma de *Kaposi*, eritema linear gengival, candidíases recorrentes e resistentes ao tratamento, assim como de periodontites necrozantes. Entretanto, na atualidade, a presença de algumas manifestações orais que auxiliam no diagnóstico e identificação dos pacientes pode indicar resistência ao esquema terapêutico utilizado ou mesmo a não adesão ao tratamento proposto (SCHMIDT-WESTHAUSEN, 2000; RAMIREZ & AMADOR, 2003). Estudos recentes indicam que lesões orais são um importante marcador em pacientes com contagem de TCD4+ inferior de 350 cels/ mm³ (MIZIRA & WEBER, 2008; GAITÁN-CEPEDA *et al.*, 2010; RWENYONYI *et al.*, 2011; SALES-PERES *et al.*, 2012).

A candidíase eritematosa e pseudomembranosa, quelite angular, infecção pelo vírus herpes simplex, úlceras aftosas recorrentes, o eritema gengival linear, tumefação da parótida e leucoplasia pilosa são as condições clínicas orais mais comumente

descritas em adolescentes e crianças infectados pelo HIV (NASSER *et al.*, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2009; BRASILEIRO *et al.*, 2014).

No paciente diagnosticado com candidíase eritematosa e pseudomembranosa, geralmente é utilizado o Fluconazol devido sua baixa interação com medicamentos antirretrovirais (BECCAGLINI *et al.*, 2007). O fluconazol administrado em uma única dose geralmente é aplicado para adultos. Quando a quelite angular e o eritema gengival linear são diagnosticados, o uso de soluções tópicas antifúngicas (SHARON & FAZEL, 2010) é uma opção eficaz no tratamento dessas lesões. As infecções fúngicas em crianças podem estar diretamente correlacionadas com o uso frequente de antimicrobianos (DOMANESCHI *et al.*, 2011). No que diz respeito à infecção pelo vírus herpes simplex, NASSER *et al.* (2008) concluíram que o aciclovir é pouco eficaz na redução do número de lesões orais e na prevenção de novas lesões extra-orais em crianças HIV+. Geralmente, o aciclovir é a escolha de tratamento na infecção por herpes simplex em pacientes não HIV.

Tumefação da parótida está relacionada com a utilização de algumas drogas antirretrovirais, que podem ser substituídas para regressão desta condição clínica (BRASILEIRO *et al.*, 2014). Já a leucoplasia pilosa é uma manifestação oral bem característica em portadores de HIV. BRASILEIRO *et al.* (2014) propuseram em uma revisão que o uso de uma combinação de 25% de podofillina e 5% de aciclovir, além do uso de violeta genciana como tratamento alternativo, foram eficazes no tratamento dessas lesões orais adultos HIV+.

A literatura sobre lesões orais em crianças e adolescentes é bastante escassa (PINHEIRO *et al.*, 2009; REWENYONYI *et al.*, 2011; MELESS *et al.*, 2014). Os estudos disponíveis relatam que, mesmo sob o regime da HAART, essa população ainda apresenta altos índices de lesões orais, e a incidência dessas lesões aumenta mais quando há baixos níveis de linfócitos TCD4+ (BAGHIRATH *et al.*, 2013; GAITÁ-CEPEDA *et al.*, 2010).

1.11. Histórico da Doença Cárie e Infecção pelo HIV

Estudos que analisaram o índice de CPOD/CPODE em crianças, adolescentes e adultos infectados pelo HIV demonstraram que a população HIV+, independentemente da faixa etária, apresentava alto índice de cárie em relação a indivíduos não HIV

(VIEIRA *et al.*, 1998; HICKS *et al.*, 2000; CERQUEIRA *et al.*, 2007; OBLIEYE *et al.*, 2009; DÁVILA & GIL, 2011; LIBERALI *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Por outro lado, YANGOPAL *et al.* (2011) não encontraram diferença na prevalência de lesões cariosas entre crianças HIV+ e não HIV.

CASTRO *et al.* (2004) relataram que, apesar de crianças portadores do HIV apresentarem uma maior prevalência da doença cárie, as mesmas apresentavam níveis mais baixos de microrganismos cariogênicos na saliva, incluindo *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* do que crianças não infectadas pelo HIV. Esses autores justificaram que os menores níveis de espécies orais na saliva de crianças HIV+ em relação a crianças não HIV poderiam resultar do uso profilático rotineiro de antimicrobianos nessa população HIV+. Além disso, NATTAYANANTA *et al.* (2010) mostraram que alguns antirretrovirais podem diminuir o fluxo salivar de pacientes sob HAART, o que poderia contribuir para o aumento do risco de cárie. No estudo de CASTRO *et al.* (2004), a maioria das crianças infectadas pelo HIV estava sob o uso de HAART.

Já GOLDBERG *et al.* (2015) não encontraram diferença na diversidade microbiana oral de crianças infectadas pelo HIV quando comparadas a crianças não infectadas. Entretanto, essa população HIV+ era bem controlada, na qual todos os indivíduos apresentavam altos níveis de TCD4+ e carga viral indetectável, o que pode ter contribuído para esse resultado.

Em relação à história de cárie em jovens e adolescentes infectados pelo HIV, independentemente da via de transmissão, há poucos estudos correlacionando as lesões cariosas ou CPOD/CPODE e microbiota desses indivíduos. Logo, mais estudos que avaliem o impacto da infecção pelo HIV no desenvolvimento e progressão das lesões cariosas, bem como sua associação com o uso da HAART e a progressão da infecção HIV a médio e longo prazos são de extrema importância para se determinar o risco desses adolescentes à cárie, e o desenvolvimento de protocolos profiláticos para essa população, em particular para aqueles que se infectaram por via vertical.

1.12. Doença Periodontal e Infecção pelo HIV

A doença periodontal pode ocorrer entre indivíduos infectados pelo HIV em todas as faixas etárias, mas a suscetibilidade à infecção periodontal aumenta à medida

que o sistema imune se torna mais comprometido. Indivíduos com níveis baixos de linfócitos TCD4 apresentam risco significativamente maior para o estabelecimento de periodontites de progressão mais agressivas (KROIDL, 2005). Com a redução no número de linfócitos TCD4, há uma deficiência na resposta imune, facilitando o início e desenvolvimento da infecção periodontal (OKUNSERI *et al.*, 2003). No início dos anos 90, as doenças periodontais necrozantes obtiveram grande destaque na infecção pelo HIV (PINHEIRO *et al.*, 2009), sendo classificadas como uma manifestação clínica da AIDS. Com a introdução da HAART, os casos de doenças necrozantes diminuíram (RAYDER *et al.*, 2012) devido ao controle da replicação viral e à manutenção dos níveis satisfatórios de células TCD4.

A doença periodontal continua a ser uma importante complicação da infecção pelo HIV e AIDS. A intervenção precoce com HAART pode ajudar a limitar a exposição à imunossupressão e reduzir a morbidade da doença periodontal neste cenário. Como mais pessoas estão vivendo com infecção HIV-1, a falta de cuidados com a saúde bucal pode afetar negativamente a saúde geral e qualidade de vida desses indivíduos (VERNON *et al.*, 2009). Por isso, o atendimento odontológico é um importante componente da atenção integral, especialmente para adultos infectados pelo HIV.

Evidências sugerem que, em indivíduos adultos, o uso prolongado da HAART pode resultar em uma redução na gravidade das doenças periodontais crônicas. Porém, VERNON *et al.* (2013) demonstraram que indivíduos adultos HIV+ que apresentaram queda no número de células TCD4, mesmo sob o uso de HAART, obtiveram piores índices periodontais quando comparados a indivíduos com níveis maiores de TCD4.

essa frase está incompleta A ocorrência de doenças periodontais nos adolescentes infectados pelo HIV possuem deficiências imunológicas que interferem diretamente na sua resposta frente à presença dos patógenos periodontais existentes no biofilme dental, com consequente perdas ósseas e dentárias (FELLER *et al.*, 2008). Estudo recente realizado em adolescentes e adultos demonstrou uma pior condição periodontal e de saúde oral no grupo HIV+ em relação a indivíduos não HIV (KUMAR *et al.*, 2014). (se só existe esse estudo nesse grupo, você deveria falar)

Divergências entre achados na literatura relacionados à prevalência e gravidade das doenças periodontais na infecção pelo HIV podem resultar de desenhos

metodológicos distintos, bem como variações nas definições e classificações das doenças periodontais em populações distintas.

1.13. Microbiota Oral na Infecção pelo HIV

Há décadas, diversos estudos têm avaliado a composição da microbiota oral de pacientes adultos infectados pelo HIV (RAMS *et al.*, 1991; MOORE *et al.*, 1993; TENENBAUM *et al.*, 1997; SCULLY *et al.*, 1999; JABRA RIZK *et al.*, 2001; TSANG & SAMARANAYAK, 2001; PATEL *et al.*, 2003; GONÇALVES *et al.*, 2004, 2007; RAMOS *et al.*, 2012). Entretanto, esses estudos encontraram grandes dificuldades para estabelecer o perfil da microbiota oral dessa população. Em algumas investigações, os resultados demonstraram que a microbiota subgengival de indivíduos infectados e não infectados pelo HIV apresentavam composição semelhante, e não havia diferenças significativas em relação a patógenos periodontais (TSANG & SAMARANAYAK, 2001). Já outros relatos detectaram uma maior prevalência de patógenos periodontais, tais como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, e *Treponema denticola*, bem como uma combinação dessas espécies, em pacientes infectados pelo HIV em comparação com indivíduos não infectados (CROSS & SMITH, 1995; SCULLY *et al.*, 1999). Em contraste, alguns autores reportaram uma menor prevalência de patógenos periodontais em pacientes infectados pelo HIV em relação a indivíduos não HIV (PATEL *et al.*, 2003; GONÇALVES *et al.*, 2007).

Microrganismos normalmente não considerados como membros da microbiota oral indígena, e que são considerados oportunistas por se manifestarem em condições de imunossupressão, também têm sido identificados na microbiota oral de indivíduos HIV+. Estas espécies incluem *Staphylococcus epidermidis* e *Candida albicans* (ODDEN *et al.*, 1994), alguns enterococos, como *E. faecalis*, algumas espécies de Clostrídia, como *Clostridium clostridiiforme* e *Clostridium difficile*, e *Mycoplasma salivarium* (MOORE *et al.*, 1993; GONÇALVES *et al.*, 2004). Entretanto, o papel desses microrganismos na patogênese da doença periodontal destrutiva crônica nos pacientes adultos infectados pelo HIV é desconhecido. *E. faecalis* tem sido significativamente mais prevalente na microbiota subgengival de indivíduos infectados pelo HIV com reduzidos níveis de linfócitos TCD4 (< 200 células/mm³), sugerindo que a imunodeficiência pode favorecer

a colonização e crescimento de espécies patogênicas oportunistas na cavidade bucal (GONÇALVES *et al.*, 2004). O mesmo grupo de pesquisadores demonstrou que indivíduos HIV- apresentavam maiores médias de prevalência e níveis de muitos microrganismos orais quando comparados com pacientes HIV+ submetidos ao HAART. Por outro lado, microrganismos oportunistas envolvidos em infecções de importância médica, tais como *Acinetobacter baumannii*, *E. faecalis* e *P. aeruginosa* foram mais prevalentes em pacientes HIV+ do que HIV-, independentemente das condições periodontais. Um dado interessante desse estudo foi o fato de indivíduos infectados pelo HIV com periodontite crônica estarem colonizados por níveis mais baixos de espécies bacterianas, incluindo vários patógenos periodontais, do que pacientes HIV- (GONÇALVES *et al.*, 2007).

As diferenças encontradas entre estes estudos podem ser explicadas pelo emprego de métodos distintos para detecção e identificação dos microrganismos, número e tipo de amostras analisadas, o tipo de infecção periodontal investigada, bem como a etnia, as características geográficas, genéticas e da infecção pelo HIV da população alvo (LOESCHE *et al.*, 1992; LOOS *et al.*, 1992). Além disso, é possível que a HAART tenha um efeito na redução de espécies orais, inclusive patógenos periodontais, nestes pacientes HIV+ em relação a indivíduos não infectados pelo HIV, mas portadores de periodontite.

Apesar dos dados contraditórios referentes à prevalência de patógenos periodontais em indivíduos HIV+, estudos têm demonstrado o papel importante de *P. gingivalis* no aumento da invasão e infecção pelo HIV-1 em células epiteliais orais (GIACAMAN *et al.*, 2007, 2008), bem como na reativação desses vírus (IMAI *et al.*, 2009). A indução da reativação do HIV-1, que encontra-se integrado como provírus no genoma da célula do hospedeiro, ocorre pela modificação da cromatina por intermédio do ácido butírico, um produto final do metabolismo de *P. gingivalis*. Esses resultados sugerem que a doença periodontal, na qual são normalmente detectados altos níveis de *P. gingivalis*, pode atuar como um fator de risco para a reativação do HIV-1 em indivíduos infectados pelo vírus (IMAI *et al.*, 2009).

Em relação à microbiota oral de crianças e adolescentes HIV+, há poucos estudos, geralmente mais focados no estado clínico de saúde bucal dessa população. Em um estudo realizado com adolescentes e adultos HIV+ apresentando necrose

gingival, observou-se que 65% das amostras de lesões necróticas continham leveduras do gênero *Candida* e 56% apresentaram herpes simplex (COBB *et al.*, 2003).

Já em crianças HIV+, SILVA-BOGHOSSIAN *et al.* (2007) reportaram que a maioria das espécies testadas em amostras de saliva, incluindo espécies da microbiota oral e espécies oportunistas, foi detectada em frequência e níveis mais elevados em crianças controles HIV- do que crianças HIV+, com exceção de *Fusobacterium periodonticum* que foi mais prevalente no último grupo. O fato de mais de 80% dessa amostra populacional estar sob o regime HAART, bem como o fato da maioria dessas crianças fazer uso rotineiro de profilaxia antibiótica de longo prazo são fatores que poderiam ter impactado a composição da microbiota oral dessas crianças, levando a uma redução de microrganismos residentes desse ecossistema oral.

2. JUSTIFICATIVA

Em adolescentes e jovens HIV+ infectados por transmissão vertical, pouco se sabe sobre a evolução da infecção viral e seu impacto nas condições bucais e na microbiota oral a longo prazo. É possível se especular que esses jovens que adquiriram essa infecção, ainda na vida intra-uterina, apresentem uma condição de saúde bucal precária, bem como um maior desequilíbrio da microbiota oral normal. Outras questões também pouco exploradas na literatura dizem respeito à influência da longa exposição ao HAART, da frequente mudança de regime terapêutico devido à resistência à terapia antirretroviral, bem como do estado imunológico, da carga viral e da condição de AIDS sobre a saúde bucal e a microbiota oral desses indivíduos. Logo, estudos a respeito das características relacionadas à saúde bucal e à microbiota oral dessa população são de grande relevância para o melhor entendimento da infecção pelo HIV e seu impacto na cavidade bucal desses indivíduos, a fim de se desenvolver estratégias preventivas e terapêuticas que promovam saúde oral a esses jovens na sua idade adulta.

3. PROPOSIÇÃO

O presente projeto teve como objetivos:

- Comparar a condição clínica bucal e a microbiota oral de adolescentes e adultos jovens HIV+ infectados por transmissão vertical em relação a jovens HIV-.

- Correlacionar dados demográficos, bem como parâmetros relacionados à infecção pelo HIV, tais como carga viral, imunodeficiência, emprego da HAART e AIDS, com a condição clínica bucal e microbiota oral anfibiônica dessa população de adolescentes e adultos jovens HIV+ infectados por transmissão vertical.

4. MANUSCRITO CIENTÍFICO

Original Article

Oral status and microbial profile of HIV+ younger individuals infected by vertical transmission

Running title: Oral status and microbiota of HIV+ youngsters

Mariana Vasconcellos Martins Ferreira^{1,2}, Édila Figueiredo Feitosa Canvalcanti¹, Norma Rubinni³, Dennis de Carvalho⁴, Lucio Souza Gonçalves⁴, Ana Paula Vieira Colombo²

Tem que pegar os nomes dos autores e emails, para ser autor tem que ter participado efetivamente, isso não inclui o lab

¹ School of Dentistry, Department of Clinics, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; ² Institute of Microbiology, Department of Medical Microbiology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; ³ University Hospital Gafrée e Guinle of Federal University of the State of Rio de Janeiro; ⁴ School of Dentistry, Estácio de Sá University, Rio de Janeiro, Brazil

***Corresponding author:**

Dr. Ana Paula V. Colombo

UFRJ/CCS - Instituto de Microbiologia Paulo de Góes - Bloco I, lab. I2-03; Av. Carlos Chagas Filho, 373 Cidade Universitária - Rio de Janeiro, RJ, Brasil - CEP: 21941-902 -

Email: apcolombo@micro.ufrj.br

Abstract

OBJECTIVES: This cross sectional study evaluated the oral status and microbiota of HIV+ adolescents and young adults infected by vertical transmission. **METHODS:** 34 HIV+ and 36 HIV-youngsters (14–24 years of age) were selected. Oral examination including evaluation of oral lesions, periodontal parameters, and caries was performed. HIV-related data were obtained from medical records. Subgingival biofilm and saliva were obtained and the microbial composition determined by checkerboard. Differences between groups were sought by Chi-square and Mann-Whitney tests. Associations among parameters were evaluated by Spearman correlation analysis. **RESULTS:** 91.2% of the HIV+ youngsters were under HAART, but 55% had AIDS. TCD4 levels ($674.8 \pm 359 \text{ mm}^3$) were relatively normal, however high viral load was detected ($46.407 \pm 154.051 \text{ copies/mL}$). HIV+ youngsters showed significantly more periodontal destruction and inflammation than HIV- individuals ($p < 0.05$). HIV+ individuals presented high prevalence and counts of oral microorganisms and opportunistic species in saliva. 89.5% of the species evaluated in the subgingival biofilm were detected in higher frequency and levels in the HIV+ group, but few significant differences were observed between groups ($p < 0.0013$). **CONCLUSION:** HIV+ adolescents and young adults infected by vertical transmission presented more periodontal destruction and inflammation, and greater prevalence and counts of oral microorganisms and opportunists compared to HIV- youngsters.

Keywords: HIV infection; Oral Health; Vertical Transmission; Periodontal Disease; DMFT; Oral Microbiota; Checkerboard.

Introduction

It is estimated that approximately 36.9 million people, (3.2 million children younger than 15 years and 4 million young people 15–24 years old) are currently living with Human Immunodeficiency Virus (HIV). Even though the number of new cases of HIV infection and related diseases and deaths have declined, those numbers are still dramatically high (UNAIDS Gap Report, 2014; World Health Organization, 2015). Of those HIV infected individuals, around 22 million do not have access to antiretroviral therapy (ART) including 1.8 million of children (UNAIDS, 2015). In 2013, approximately 1.5 million women living with HIV gave birth, and three out of ten HIV+ pregnant women still did not receive effective ART to prevent the transmission of HIV to their children (UNAIDS Gap Report, 2014). Different pathways the HIV could be acquired such as sexual intercourse, blood and derivatives contaminated, or vertical transmission may acquire the HIV. However, the natural history of HIV infection acquired by vertical transmission has a different progress from the HIV infection acquired later in life by other routes (Barlett 2009). In adults, HIV levels increase and then dramatically decrease over a period of one year. Conversely, in perinatally infected children, HIV levels increase rapidly after birth, peak at 1 to 2 months of age, persisting at high titers, and then slowly decline at 24 months. Moreover, infants with very high viral loads in the first months of life are at increased risk for a rapid progression of disease, and early ART is indicated for these infants (Shearer *et al*, 1997). In fact, the introduction of HAART increased life expectancy and reduced HIV/AIDS related diseases, not only among HIV+ adults but also among HIV+ children and adolescents (Palella *et al*, 1998; Patel *et al*, 2008). However, HIV is a chronic condition, and the prolonged use of HAART in children and adolescents may cause adverse effects (Nasi *et al*, 2016) that will interfere with the adhesion to the therapeutic scheme (Silva *et al*, 2015), particularly in individuals with lower education level, leading to high viral load, low TCD4 levels and development of oral lesions (Yangopal *et al*, 2016). Oral lesions and infections associated with HIV/AIDS are common manifestations in early stages of the disease (Sales-Peres *et al*, 2012). These manifestations have been considered important predictors of HIV infection progression, as well as indicators of HAART efficacy (Oladokun *et al*, 2013). Among the most frequently detected oral lesions in adolescents and children are candidiasis,

angular cheilitis, herpes simplex virus infection, recurrent aphthous ulcers, linear gingival erythema, parotid swelling and hairy leukoplakia (Nasser *et al*, 2008; Pinheiro *et al*, 2009; Brasileiro *et al*, 2014). In addition, studies have shown a higher prevalence of dental caries, gingival bleeding and biofilm accumulation in HIV+ in comparison to HIV- youngsters (Vieira *et al*, 1998; Castro *et al*, 2004; Liberali *et al*, 2013; Kumar *et al*, 2014; Goldberg *et al*, 2015; Oliveira *et al*, 2015). Data regarding the composition of the oral microbiota in HIV infected individuals are controversial (Silva-Boghossian *et al*, 2008; Gonçalves *et al*, 2009; Vermon *et al*, 2009; Goldberg *et al*, 2015). Conceivably, the immunodeficiency, the continuous use of antimicrobials and the HAART could lead to a dysbiosis of the oral microbiota, and consequently to the onset of oral infections (Dang *et al*, 2012). In HIV+ adults, for instance, studies have shown a high prevalence of periodontal pathogens, as well as non-oral pathogens of medical importance and opportunists (Gonçalves *et al*, 2004, 2005, 2007; Pereira *et al*, 2014). Children and adolescents infected by HIV have also been shown to harbor significant high levels of cariogenic species in saliva (Castro *et al*, 2004; Silva-Boghossian *et al*, 2008). For youngsters HIV+ infected by vertical transmission, limited information about the impact of the long term HIV infection and HAART on the oral health and on the oral microbiota is available. Thus, the current investigation aimed to determine the oral conditions and the composition of the oral microbiota, as well as to correlate the HIV-related features with dental clinical parameters and specific microorganisms in this population.

Materials and Methods

Subject Population

This cross sectional study was conducted according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki on experimentation involving human subjects. All subjects were informed about the nature of the study, its risks and benefits, and a signed consent form was obtained from each individual or their parents/guardians. The study protocol was reviewed and approved by the Review Committee for Human Subjects of the University Gaffré Guinle School Hospital (HUGG)/UNIRIO, Rio de Janeiro, Brazil. 34 HIV+ youngsters (14-24 years of age), infected with HIV-1 by vertical transmission were recruited, between August 2014 to October 2015, from the ambulatory of Immunology

at HUGG. Clinical and microbiological data from a control group of 36 HIV- individuals (14-24 years of age) matched by gender were randomly withdrawn from a database of patients examined and treated in the Dental Clinics at the Federal University of Rio de Janeiro. Exclusion criteria were smoking, pregnancy or nursing, diabetes, cardiovascular disease, patients with cancer and other chronic inflammatory diseases.

Clinical Examination

Information regarding age, gender, ethnicity/color, education level, and social-economic profile was obtained from anamnesis questionnaires. Laboratory data such as the levels of TCD4+, TCD8+ TCD45+ and neutrophils, viral load, as well as information about the progress of HIV infection were obtained from patients medical records. Full mouth clinical examinations were performed by trained and calibrated examiners and included periodontal measurements of probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), presence/absence of visible supragingival biofilm (SB), bleeding on probing (BOP), gingival bleeding (GB), and number of missing teeth. For the HIV+ group, the DMFT (decayed, missing, restorative tooth) index (WHO, 2013) and the visual inspection of oral lesions were also performed.

Saliva and Subgingival Biofilm Sampling

Before clinical examination, saliva was collected into a plastic sterile recipient through a mouthwash with 10 mL of 0.9% sterile saline solution, and stored immediately at 4°C. One milliliter was taken, placed into a microtube and centrifuged at 12,000 x *g* for 10 min. The supernatant was removed and the pellet suspended in 100 µL of TE buffer (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.6). Subgingival biofilm samples were obtained from 13 random periodontal sites in different quadrants of each patient. After removal of supragingival biofilm with a sterile gaze, subgingival biofilm samples were individually collected using sterile curettes (Hu-Friedy®, Chicago, IL, USA), and placed into microtubes containing 150 µL of TE buffer (Silva-Borghossian *et al*, 2008).

Microbiological Assessment

Microbial analyses were performed by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique (Socransky *et al*, 1994), with modifications (Heller *et al*, 2012).

Briefly, saliva and biofilm samples were lysed and fixed in individual lanes on a nylon membrane (GE Healthcare LifeSciences, Piscataway, USA) by using the Minislot 30 (Immunelectrics, Cambridge, USA), and hybridized against whole genomic digoxigenin-labelled (Roche Diagnóstica Brasil Ltda., São Paulo, Brazil) probes (Appendix Table 1) by using the Miniblotter 45 (Immunelectrics). DNA from *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae* was combined in an enterobacteria probe. Bound probes were detected with phosphatase-conjugated antibody to digoxigenin (Roche Diagnóstica Brasil Ltda) and fluorescence (AttoPhos®, Promega Corporation, Madison, WI), and captured by an imaging system (Storm TM 860 and ImageQuant® version 5.2, Molecular Dynamics, GE Healthcare Life Sciences). Signals were evaluated visually by comparison with the standards at 10^5 and 10^6 cells for the test species on the same membrane, and recorded as: 0= not detected; 1= $<10^5$ cells; 2= $\sim 10^5$; 3= 10^5 - 10^6 cells; 4= $\sim 10^6$; 5= $>10^6$ cells.

Statistical Analysis

Data entry in a database was carried out by one investigator (M. V.) and error proofed by a senior investigator (A. P. V. C.). A statistical program (SPSS, Statistical Package for the Social Sciences 21.0, IBM Brasil, SP, Brazil) was used for all analyses. Regarding demographic data, mean age, frequency of gender, ethnicity, level of education and monthly income was computed for each group. Full-mouth clinical measurements were computed for each subject and averaged across subjects within groups. The DMFT index was obtained only for HIV+ individuals. Immunological data was averaged within the HIV+ group, and the frequency of HIV infection-related parameters computed. Normality distribution of all quantitative variables was verified using the Kolmogorov-Smirnov test. Mann-Whitney and Chi-square tests determined significant differences in demographic and clinical parameters between groups. Statistical significance was set at α level of 5%. Microbiological data were expressed as mean prevalence and mean counts, calculated for each species in each subject, and then within each group. In saliva samples, the prevalence of each species was determined within groups. For these analyses, adjustments for multiple comparisons were made (Socransky *et al*, 1991), and an overall p of $0.05=1-(1-k)^{42}$ was computed (p

value <0.0013). Differences in the prevalence and levels of the species between groups were determined by Mann-Whitney and Chi-square tests. Spearman correlation analysis (ρ) was performed in order to search for associations among clinical/demographic parameters, microbial data and HIV-related parameters.

Results

Demographic, Clinical, and Laboratory Features of the Study Population

The demographic and oral clinical characteristics of the sample population are presented in Table 1. HIV+ patients were significantly younger, and had lower social-economic conditions than HIV- youngsters. Moreover, the HIV+ group presented significantly lower proportions of White individuals and more signs of periodontal destruction, inflammation, and poor oral hygiene compared to the HIV- group. HIV+ youngsters presented also an elevated DMFT index. The immunological and HIV-related data of the 34 HIV+ patients are summarized in Table 2. Only 3 patients were not under HAART, and all HIV+ individuals under HAART had changed at least once the therapeutic regimen (data not shown). Approximately half of the HIV+ adolescents and young adults presented an oral manifestation, and 55% were classified as having AIDS. The most prevalent oral lesion in this group was linear gingival erythema. TCD4+ levels were relatively normal; however, a high viral load was detected. None of the HIV+ patients had been administered systemic or topical antimicrobials in the last 6 months prior to the study. No significant correlations between HIV-related parameters and oral clinical measurements were detected (data not shown).

Microbiological Data

The microbial profile of saliva from HIV+ individuals is depicted in figure 1. Approximately 60% of the species evaluated were detected in high frequency (Fig. 1A) and counts (Fig. 1B), including oral streptococci and several periodontal pathogens. Of interest, high frequency and levels of *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and non-oral bacterial pathogens such as *Helicobacter pylori* and *Staphylococcus aureus* were observed. The species *Acinetobacter baumannii* was not detected in any saliva sample. Correlation analyses between immunological parameters, viral load and mean counts of microbial species in saliva from HIV+ adolescents showed few moderate significant

associations. Regarding HIV-related data, *Eikenella corrodens* and *Campylobacter rectus* presented a positive correlation with TCD4 levels ($\rho = 0.419$ and $\rho = 0.488$, respectively, $p < 0.01$), whereas *Streptococcus mitis* was associated with TCD8 levels ($\rho = 0.479$), and *C. rectus* and enterics with CD45 ($\rho = 0.479$ and $\rho = 0.500$, respectively, $p < 0.05$). Neutrophils were positively associated with *Eubacterium nodatum*, *Gemella morbillorum*, *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* ($\rho = 0.403$, $\rho = 0.500$, $\rho = 0.482$, and $\rho = 0.528$, respectively, $p < 0.05$). Viral load showed a negative correlation with *Fusobacterium nucleatum ss. nucleatum* ($\rho = -0.418$, $p < 0.05$). Patients who were classified as having AIDS presented positive correlations with *Capnocytophaga ochracea* and *G. morbillorum* ($\rho = 0.450$ and $\rho = 0.437$, respectively, $p < 0.01$). Moreover, HIV+ individuals who presented oral manifestations at the moment of the clinical examination showed significantly greater mean counts of *Neisseria mucosa* and *E. faecalis* than HIV+ individuals who did not present any oral manifestation.

The microbial composition of the subgingival biofilm of both HIV+ and HIV- groups is presented in Figure 2. 89.5% of the species evaluated in the subgingival biofilm were detected in higher frequency (Fig, 2A) and levels (Fig. 2B) in the HIV+ group, but few species differed significantly between groups after adjusting for multiple comparisons. Species such as *Porphyromonas gingivalis*, *Selenomonas noxia* and *S. aureus* were detected in higher frequency and/or levels in the HIV- group, whereas *Actinomyces odontolyticus*, *C. albicans*, *E. faecalis*, enterics, *E. nodatum*, *Filifactor alocis*, *F. nucleatum ss. nucleatum* were significantly more prevalent in HIV+ patients. *Veillonella parvula* presented a significantly greater frequency of detection in the HIV- individuals, but its levels were higher in the HIV+ patients.

Associations between HIV related parameters and microbial counts in subgingival plaque of HIV+ adolescents are presented in table 3. *Streptococcus constellatus* and *H. pylori* presented moderate and significant correlations with most HIV-related parameters. TCD4+ levels had positive correlations with some periodontal pathogens (*C. rectus*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *P. gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*) and other species including oral streptococci, enterics and *H. pylori*, whereas levels of neutrophils and viral load presented negative correlations. No significant associations between AIDS, presence of oral lesions and

microbial species counts and frequency in subgingival biofilm were observed (data not shown).

Discussion

This investigation aimed to determine the impact of a long term HIV infection acquired by vertical transmission on the oral health and microbiota of adolescents and young adults. Oral status was determined by evaluation of oral lesions, periodontal parameters and history of caries. The microbial profile was determined by analyzing the composition of saliva and subgingival biofilm. Few studies investigated the association between HIV infection by vertical transmission and oral health (Vieira *et al*, 1998; Hicks *et al*, 2000; Cerqueira *et al*, 2007; Obileye *et al*, 2009; Dávila and Gil, 2001), as well as the composition of the oral microbiota (Castro *et al*, 2004; Silva-Boghossian *et al*, 2008; Goldberg *et al*, 2015). In terms of oral status, half of our HIV+ population presented oral lesions, particularly linear gingival erythema, and high dental caries indexes, corroborating data reported by other authors (Beena *et al*, 2011; Ribeiro *et al*, 2013; Rovaris *et al*, 2014; Yengopal *et al*, 2016). In addition, they presented poor oral dental hygiene represented by higher scores of supragingival plaque accumulation, more periodontal inflammation and attachment loss than non-HIV infected controls (Krisdapong *et al.*, 2014; Rovaris *et al*, 2014;). The precarious oral health observed in this HIV+ population may be related to the severity of the HIV infection. Many of these HIV+ patients presented AIDS and high viral load, even though around 91% of them were under HAART and the TCD4 levels were relatively normal. In addition, all of the patients under HAART had changed the therapeutic regimen at least once during their lives. These features may indicate ART failure and progression of disease in these young HIV+ individuals, which may contribute to the poor oral conditions observed. On the other hand, poor oral health may also be associated with low socioeconomic status (Hobdell *et al*, 2003), and color/race inequalities (Bastos *et al*, 2009). In fact, our HIV+ group presented lower education level and financial income, and lower proportions of White individuals than the HIV- control group.

Regarding the salivary microbial profile of HIV+ youngsters, high frequency and mean levels of oral species, including several periodontal pathogens, and non-oral pathogenic microorganisms were observed. Silva-Boghossian *et al* (2008) have also

reported high prevalence and levels of oral and non-oral species in saliva of HIV+ children; however, most species tested were significantly more prevalent in HIV- children. Goldberg *et al* (2015) evaluated well-controlled HIV+ children and reported no significant differences in the oral microbiota of these children in comparison to a HIV- group. In the current study, the HIV- controls selected from a database did not have salivary microbial data available so that comparisons could not be carried out. Elevated counts of some species in saliva were associated with elevated levels of T lymphocytes and neutrophils, while high counts of *F. nucleatum ss nucleatum* were associated with low viral load. On the other hand, individuals presenting oral lesions had significantly greater counts of *E. faecalis* and *N. mucosa*, and individuals classified as having AIDS presented higher counts of *G. morbillorum* and *C. ochracea*. Conceivably, these species in saliva could be used as indicators of HIV infection improvement or progression/recurrence of the disease. Some of these microorganisms are resident members of the oral microbiota and they should be increased in HIV patients with low viral load and immunocompetence. In contrast, opportunist and pathogenic species should be more related with immunodeficiency and progression of HIV infection. These associations between immunological and HIV-related parameters and specific bacteria in saliva are very complex, and therefore difficult to interpret. Further investigations are necessary in order to better define the pathogenicity of these species and HIV infection.

The periodontal microbiota of HIV+ adolescents and young adults was composed by higher mean frequency and counts of the majority of the tested species in comparison to HIV- youngsters. Except for *P. gingivalis* and *S. aureus*, periodontal and opportunist pathogens were more often detected in the subgingival biofilm of the HIV+ group. In particular, *C. albicans*, enterics and *E. faecalis* were detected in markedly elevated counts in HIV+ adolescents. The higher detection of several periodontal pathogens in HIV+ patients may result from the presence of more signs of periodontal inflammation and attachment loss in these individuals compared to controls. On the other hand, higher counts of opportunist microorganisms in HIV+ individuals may reflect the impact of a long term HIV infection and immunodeficiency in this population, as well as the persistence of a high viral load (Domaneschi *et al*, 2011; Dang *et al*, 2012; Vernon *et al*, 2013). For instance, Pereira *et*

al (2014) analyzed the periodontal microbiota of HIV+ adults and demonstrated that individuals with detectable plasmatic HIV viral load presented higher levels of periodontal pathogens and *C. albicans* than HIV+ subjects with undetectable viral load. In the present investigation, the increased plasmatic viral load of the HIV+ youngsters may have contributed to the high frequency and counts of these species in the oral microbiota. In addition, the constant use of antimicrobials and the early introduction of HAART may have selected for these non-oral pathogenic species in the subgingival biofilm. In contrast, other investigators reported lower prevalence and counts of periodontal pathogens in children and adults HIV+ compared to HIV- individuals, even though they demonstrated that opportunist species were detected in greater levels in HIV+ patients than controls (Gonçalves *et al* 2004, 2005, 2009; Silva-Boghossian *et al*, 2008).

Associations between specific microorganisms in the subgingival biofilm and HIV-related features were carried out. In contrast to microorganisms in saliva, no correlations between microbial species in the biofilm and AIDS or presence of oral lesions were observed. However, some periodontal pathogens, members of the red and orange complexes (Socransky *et al*, 1998), streptococci, enterics and *H. pylori* showed moderate positive correlations with T lymphocytes, particularly TCD4 cells. Of interest, *S. contellatus* and *H. pylori* showed correlations with most of the HIV-related parameters evaluated, while neutrophils and viral load presented significant negative associations with mean counts of some of these species. This results could presented a possible marker for control or progression of the HIV infection. Arirachakaran *et al* (2016) reported that HIV + individuals who presented high levels of viral load reduced the diversity in the subgingival samples.

In summary, HIV+ adolescents and young adults infected by vertical transmission present precarious oral status including high caries experience, poor oral hygiene, periodontal inflammation and attachment loss associated to a microbial profile comprised of high frequency and levels of oral and opportunist pathogens. These findings suggest that these individuals may be at greater risk for the progression of oral related infections at older ages, which may lead to early tooth loss and its complications. Thus, major efforts should be made to provide these HIV+ youngsters comprehensive primary dental care in order to improve their general health and

quality of life.

Acknowledgments

The authors would like to thank the patients who participated of this study. This study was supported in part by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES); and Foundation for Research Financial Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ), Brazil. The authors declare that they have no conflict of interests.

References

- Arirachakaran P, Poovorawan Y, Dahlén G.(2016) **Highly-active antiretroviral therapy and oral opportunistic microorganisms in HIV-positive individuals of Thailand.** J Investig Clin Dent. 2016 May;7(2):158-67.
- Bartlett, JG; (2009)**Medical management of HIV infection– 2009-2010.** USA, Johns Hopkins University School of Medicine,.
- Bastos JL, Dumith SC, Santos RV et al.(2005) **Does the way I see you affect the way I see myself? Associations between interviewers' and interviewees' 'color/race' in southern Brazil.**Cad Saude Publica.Oct;25(10):2111-24.
- Brasileiro CB, Abreu MH, Mesquita RA (2014). **Critical review of topical management of oral hairy leukoplakia.** World J Clin Cases 2: 253–256.
- Castro GF, Souza IPR, Lopes S, Stashenko P, Teles RP.(2004) **Salivary IgA to cariogenic bacteria in HIV-positive children and its correlation with caries prevalence and levels of cariogenic microorganisms** Oral Microbiol Immunol; 19: 281–288.
- Cerqueira DF, Portela MB, Pomarico L, *et al.* (2007) **Examining dentinal carious lesions as a predisposing factor for the oral prevalence of *Candida spp* in HIV-infected children.** J Dent Child (Chic). May-Aug;74(2):98-103
- Dang Angeline, Sean Cotton, Sumathi Sankaran-Walters, et al (2012) **Evidence of an increased pathogenic footprint in the lingual microbiome of untreated HIV infected patients** MC Microbiology 12:153
- Domaneschi C, Massarente DB, de Freitas RS et al (2011). **Oral colonization by *Candida* species in**

AIDS pediatric patients. Oral Dis4: 393–398.

Gaitan-Cepeda LA, Dominguez, Sanchez A, Pavia-Ruz N et al (2010). **Oral lesions in HIV+/AIDS adolescents perinatally infected undergoing HAART.** Med Oral Pathol Oral Cir Bucal 15: e545–e550.

Gaitan-Cepeda LA, Sanchez-Vargas O, Castillo N (2015). **Prevalence of oral candidiasis in HIV/AIDS children in highly active antiretroviral therapy era.** A literature analysis. Int J STD AIDS 26: 625–632.

Giacaman, R. A., Nobbs, A. H., Ross, K. F. , Herzberg, M. C. (2007) **Porphyromonas gingivalis selectively up-regulates the HIV-1 coreceptor CCR5 in oral keratinocytes.**J Immunol, 179, 2542–2550

Goldberg BE, Mongodin EF, Jones CE, Chung M, Fraser CM, Tate A, (2015) **The Oral Bacterial Communities of Children with Well- Controlled HIV Infection and without HIV Infection.** PLoS ONE 10(7): e0131615

Gonçalves L de S, Ferreira SM, Silva A Jr, Villoria GE, et al (2005). **Association of T CD4 lymphocyte levels and chronic periodontitis in HIV-infected Brazilian patients undergoing highly active anti-retroviral therapy.** Clinical results. J Periodontol. 76(6):915-22.

Gonçalves LS, Ferreira SM, Silva A Jr, Villoria GE et al (2004) **Association of TCD4 lymphocyte levels and subgingival microbiota of chronic periodontitis in HIV-infected Brazilian under HAART.**Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 97:196-203.

Gonçalves LS, Soares Ferreira SM, Souza CO et al (2007).**Clinical and microbiological profiles of human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive Brazilians undergoing highly active antiretroviral therapy and HIV-seronegative Brazilians with chronic periodontitis.**J Periodontol. 78(1):87-96.

Heller D, Silva-Boghossian CM, do Souto RM, et al (2012) **Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases.** Arch Oral Biol.;57:973–80.

Hicks MJ, Flaitz CM, Carter AB, et al. (2000). **Dental caries in HIV-infected children: a longitudinal study.** Pediatr Dent 22: 359–64.

Hobdell M, Petersen PE, Clarkson J, Johnson N.(2003) **Global goals for oral health 2020.** Int Dent J. Oct;53(5):285-8.

- Krisdapong S, Prasertsom P, Rattananangsim K, Sheiham A. **Impacts on quality of life related to dental caries in a national representative sample of Thai 12- and 15-year-olds.** (2014). *Caries Res* 47: 9–17.
- Kumar S, Mishra P, Warhekar S *et al.* (2014). **Oral Health Status and Oromucosal Lesions in Patients Living with HIV/AIDS in India: A Comparative Study.** *AIDS Res Treat.* :480247
- Liberali SA, Coates EA, Freeman AD *et al.*(2013) **Oral conditions and their social impact among HIV dental patients, 18 years on.** *Aust Dent J.* Mar;58(1):18-25. doi: 10.1111/adj.12031. Epub 2013 Jan 30.
- Nasi M, De Biasi S, Gibellini L, et al (2016) **Aging and inflammation in patients with HIV infection.** *Clin Exp Immunol.* May 20. doi: 10.1111/cei.12814
- Nasser M, Fedorowicz Z, Khoshnevisan *et al.* (2008). **Acyclovir for treating primary herpetic gingivostomatitis.** *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD006700.
- Obileye MF, Agbelusi GA, Orenuga OO, Temiye EO (2009). **Dental caries of HIV infected children in Nigeria.** *Nig Q J Hosp Med.* Sep-Dec;19(4):210-3.
- Oladokun R, Okoje V, Osinusi K, Obimakinde O (2013). **Oral lesions and their association with CD4 count and viral load in HIV positive Nigerian children.** *Oral Health Dent Manag* 12: 200–204.
- Oliveira CA, Tannure PN, de Souza IP, *et al.* (2015) **Is dental caries experience increased in HIV-infected children and adolescents? A metaanalysis.** *Acta Odontol Scand.* ;73(7):481-7.
- Parella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, et al (1998) **Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection.** *J Med*, 338:853-860.
- Patel M, Coogan M, Galpin JS.(2003) **Periodontal pathogens in subgingival plaque of HIV-positive subjects with chronic periodontitis.** *Oral Microbiol Immunol*, 18: 199-201.
- Pereira VT, Pavan P, Souza RC, Souto R, et al(2014). **The association between detectable plasmatic human immunodeficiency virus (HIV) viral load and different subgingival microorganisms in Brazilian adults with HIV: a multilevel analysis.** *J Periodontol.* May;85(5):697-705z
- Pinheiro R, Franca TT, Ribeiro CM et al (2009). **Oral manifestations in human immunodeficiency virus infected children in highly active antiretroviral therapy era.** *J Oral Pathol Med* 38: 613–622.
- Ribeiro KM, Biscione FM, Westin MR, et al.(2013) **Virologic and immunologic effectiveness of**

darunavir-based salvage therapy in HIV-1-infected adults in a Brazilian clinical practice setting: results of a multicenter and retrospective cohort study. *Braz J Infect Dis.* Jan-Feb;18(1):1-7

Rovaris NS, Galato D, Schuelter-Trevisol F, et al (2014). **Oral health status and its impact on the quality of life of children and adolescents living with HIV-1.** *BioMed Central* 7: 478.

Rwenyonyi MC, Muwazi AKL, Okullo I, et al (2011). **Oral Manifestations in HIV/AIDS Infected Children.** *Eur J Dent* 5: 291–295.

Ryder MI, Nittayananta W, Coogan M, Greenspan D, Greenspan JS. (2012). **Periodontal disease in HIV/AIDS.** *Periodontol* 2000. 60(1):78-97.

Sales-Peres SH, Mapengo MA, de Moura-Grec PG, et al. (2012) **(Oral manifestations in HIV+ children in Mozambique.** *Ciencia Saude Coletiva* 17: 55–60.

Shearer, W. T. et al. (1997) **Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1.** *The New England Journal of Medicine*, [s.l.], v. 336, n. 19, p. 1337-42.

Silva-Boghossian, C., Castro, G. F., Teles, et al (2008). **Salivary microbiota of HIV-positive children and its correlation with HIV status, oral diseases, and total secretory IgA.** *International Journal of Paediatric Dentistry / the British Paedodontic Society [and] the International Association of Dentistry for Children*, 18(3), 205–16.

Silva, JV, Dourado IB and Silva, CAL. (2015). **Factors associated with non-adherence to antiretroviral therapy in adults with AIDS in the first six months of treatment in Salvador, Bahia State, Brazil.** *Cadernos de Saúde Pública*, 31(6), 1188-1198. Epub June 00, 2015

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, et al. (1998) **Microbial complexes in subgingival plaque.** *J Clin Periodontol*;25:134-144.

Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. (1991) **Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled .** *J Clin Periodontol.* Nov;18(10):766-75

Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Martin L, et al. (2004). **Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems.** *Oral Microbiol Immunol.* Dec;19(6):352-62.

Socransky SS, Smith C, Martin Let al.(1994) **Checkerboard" DNA-DNA hybridization.** *Biotechniques.* Oct;17(4):788-92.

UNAIDS BRASIL (2015) **Uma meta ambiciosa de tratamento para contribuir para o fim da epidemia**

de AIDS pg 7-9

- UNAIDS Gap Report (2014). Available at: www.unaids.org/en/resources/documents/2014/name,97466,en.asp (Accessed on may 23, 2016).
- Vernon LT, Demko CA, Babineau DC, et al. (2013) **Effect of Nadir CD4+ T Cell Count on Clinical Measures of Periodontal Disease in HIV+ Adults before and during Immune Reconstitution on HAART**. PLoS ONE 8(10): e76986
- Vernon LT, Demko CA, Whalen CC, et al. (2009). **Characterizing traditionally defined periodontal disease in HIV+ adults**. Community DentOral Epidemiol. 37(5):427-437.
- Vieira AR, de Souza IP, Modesto A, et al. (1998) **Gingival status of HIV+Children and the correlation with caries incidence and immunologic profile** Pediatric Dent. May-Jun;20(3):169-72
- World Health Organization **Global health sector response to HIV, 2000-2015: focus on innovations in Africa** (2015) ISBN: 978 92 4 150982 4
- World Health Organization. **Adolescent Health and Development**. (2013). Available at http://www.searo.who.int/en/Section13/Section1245_4980.htm. (Accessed on may 21, 2016)
- Yengopal V, Bhayat A, Coogan M (2011). **Pediatric oral HIV research in the developing world**. Adv Dent Res 23: 61–66.

Tables

Table 1. Demographic and oral clinical data of the study population.

Parameters	HIV- (n=36)	HIV+ (n=34)
Mean (SD) Age (years) *	21.2 (1.6)	18.9 (3.1)
Gender		
% Males	38.9	55.9
% Females	61.1	44.1
Race		
% White †	74.3	26.5
% African-American †	5.7	17.6
% Others †	20.0	55.9
% Monthly family income (US\$) †		
≤ 580	88.9	61.7
> 580	11.1	38.3
% Education †		
Middle School	0	17.6
High School	16.7	70.6
Higher Education	83.3	11.8
Mean (SD) full-mouth		
DMFT	NE	5.38 (3.9)
Missing teeth	0.5 (1.2)	1.1 (2.5)
PD (mm) *	1.5 (0.3)	2.2 (0.3)
CAL (mm) *	1.5 (0.3)	2.2 (0.3)
% sites with BOP *	4.6 (8.0)	18.5 (11.0)
% sites with PL *	12.7 (19.3)	50.7 (34.4)
% sites with GI *	5.4 (10.8)	6.6 (16.8)
% sites with PD < 4 mm *	99.8 (0.6)	89.4 (11.0)
% sites with PD 4-6 mm *	0.2 (0.6)	10.6 (11.0)
% sites with CAL < 4 mm *	99.8 (0.7)	89.2 (11.0)
% sites with CAL 4-6 mm *	0.2 (0.7)	10.8 (11.0)

*Significant differences between groups (Mann-Whitney test; $p < 0.05$); †Significant differences among groups (Chi-square test). DMFT: decayed, missing, filled teeth; PD: probing depth; CAL: clinical attachment level; BOP: bleeding on probing; PL: supragingival biofilm; GI: gingival bleeding index; SD: standard deviation; NE: not evaluated.

Table 2. HIV-related characteristics of the HIV+ adolescents and young adults infected by vertical transmission.

Parameters	HIV+ (n=34)	Reference Value*
Mean number (SD)		
T CD4+ (cells/mm ³)	674.8 (359.3)	400-1600
T CD8+ (cells/mm ³)	1,219.8 (668.4)	150-1000
CD45+ (cells/mm ³)	2,566.2 (1,165.9)	3,800-12,000**
Neutrophils (cells/mm ³)	4,089.3 (3,587.5)	1,500-8,000
Viral load (copies/mL)	46,407.7(154,051.0)	≤ 40-75***
CDC classification (%)		
A3	6.1	
B1	6.1	
B2	27.3	
B3	18.2	
C1	3.0	
C3	39.4	
Oral manifestation at examination (%)	47.1	

*(MS, 2014); ** Total leucocytes; *** Undetectable levels. CDC: Center of Disease Control; TCD4+: T Helper lymphocyte cells; TCD8+: Cytotoxic T lymphocyte cells; CD45+: Leukocyte common antigen.

Table 3. Correlation analysis (rho) between HIV-related parameters and microbial mean counts on the subgingival biofilm of HIV+ adolescents and young adults infected by vertical transmission.

Microbial counts	HIV-related parameters				
	TCD4	TCD8	CD45	Neutrophils	Viral Load
<i>C. rectus</i>	0.475	-	-	-	-
<i>E. nodatum</i>	0.424	-	-	-	-0.461
<i>F. nuc ss. Nucleatum</i>	0.400	-	-	-	-0.406
<i>P. gingivalis</i>	0.447	-	-	-	-
<i>S. constellatus</i>	0.557	0.408	0.558	-	-0.457
<i>S. sanguinis</i>	0.409	-	-	-	-
<i>T. denticola</i>	0.424	-	-	-	-
<i>T. forsythia</i>	0.470	-	-	-	-
<i>Enterics</i>	0.400	-	-	-	-
<i>H. pylori</i>	0.447	0.424	0.434	-0.423	-0.562

TCD4: T Helper lymphocytes (cells/mm³); TCD8: Cytotoxic T lymphocytes (cells/mm³); CD45: Leukocyte common antigen (cells/mm³). Neutrophils were presented as cells/mm³ and viral load as copies/mL. Values on the cells represent the Spearman correlation coefficient (rho). All correlations presented were significant (p<0.05).

Figure legends

Figure 1. Bar chart of frequency(A) and mean levels (B) of microbial species in saliva samples from HIV+ adolescents.

Figure 2. Mean prevalence (A) and counts (B) of microbial species in subgingival biofilm samples from HIV- and HIV+ youngsters. * Refers to significant differences between groups (Mann-Whitney test, $p < 0.05$). † Refers to significant differences between groups, after adjustment for multiple comparisons (Mann-Whitney test, $p < 0.0013$).

Figure 1.

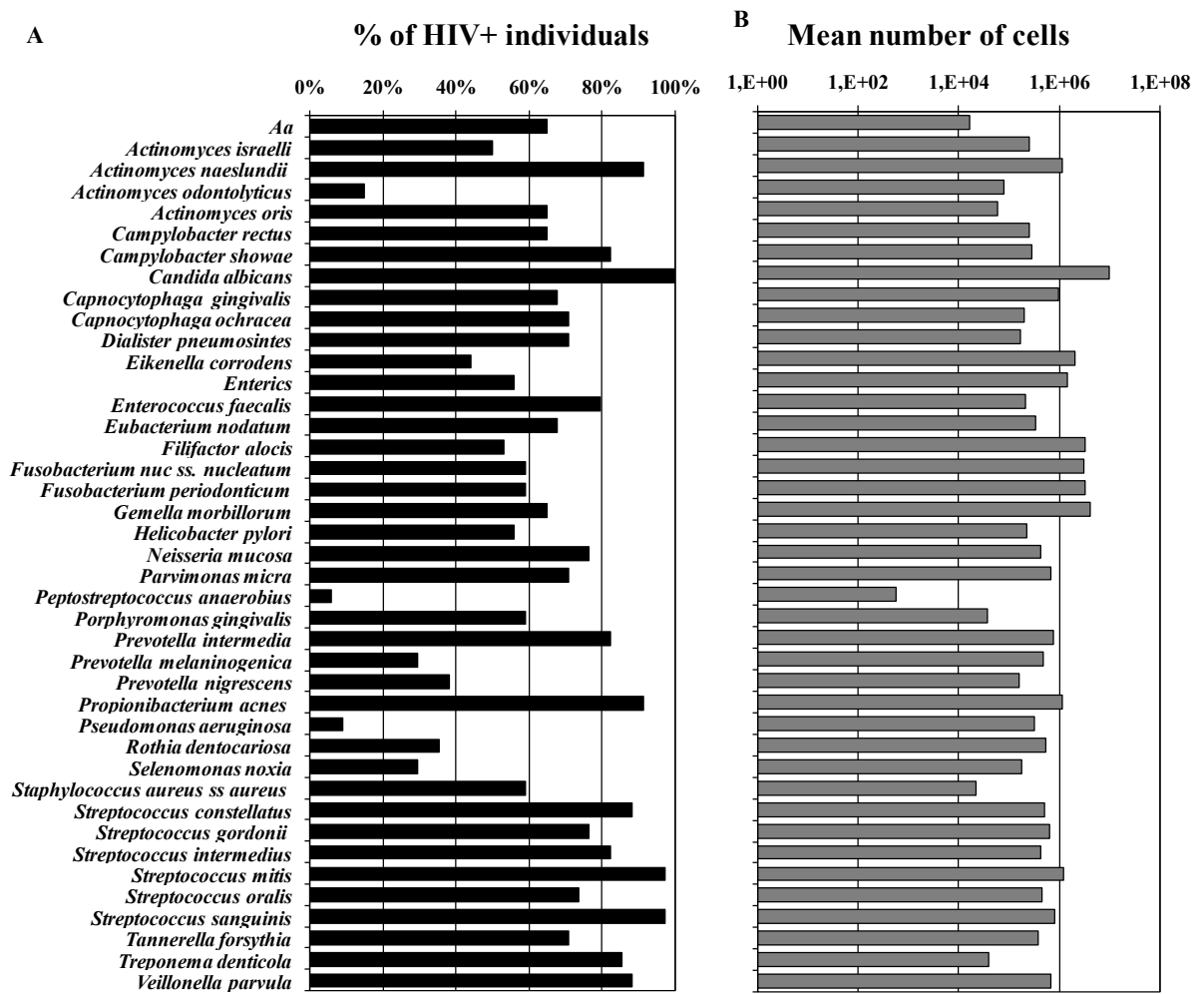
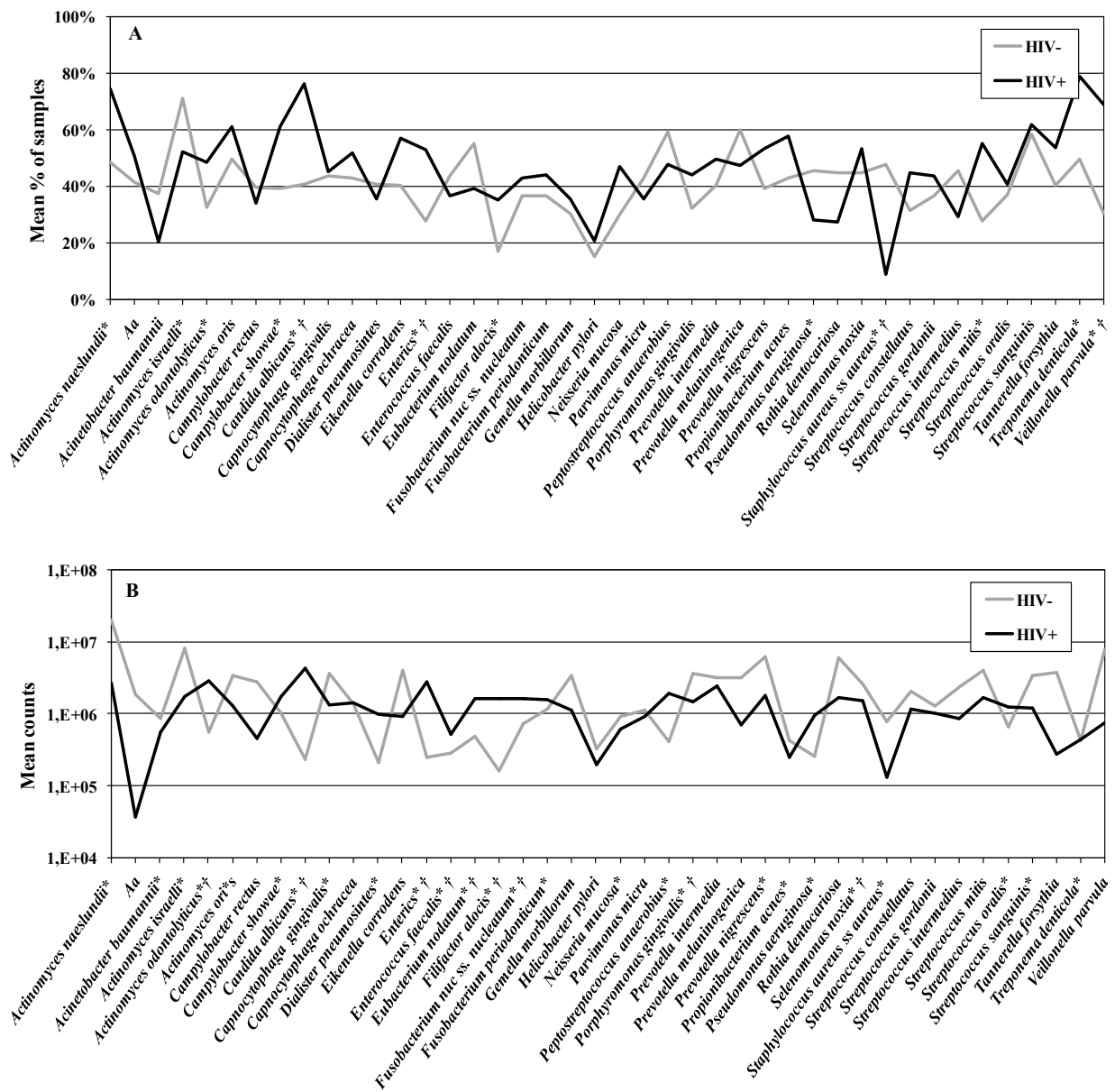


Figure 2.



Appendix

Appendix Table 1. Microbial strains used for the whole genomic DNA probes.

Taxa	Strain ^a	Taxa	Strain ^a
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans a</i>	43718	<i>Gemella morbillorum</i>	27824
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans b</i>	29523	<i>Helicobacter pylori</i>	43504
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans c</i>	625 ^b	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
<i>Acinetobacter baumannii</i>	19606	<i>Klebsiella oxytoca</i>	12833
<i>Actinomyces israelii</i>	12102	<i>Neisseria mucosa</i>	19696
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929	<i>Parvimonas micra</i>	33270
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	12104	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337
<i>Actinomyces naeslundii II (A.viscosus) oris</i>	43146	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624	<i>Prevotella intermedia</i>	25611
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563
<i>Candida albicans</i>	10231	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145
<i>Campylobacter showae</i>	51146	<i>Propionibacterium acnes I</i>	11827
<i>Dialister pneumosintes</i>	GBA27 ^b	<i>Propionibacterium acnes II</i>	11828
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099	<i>Rothia dentocariosa</i>	17931
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	<i>Selenomonas noxia</i>	43541
<i>Enterococcus faecalis</i>	10100	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823
<i>Enterobacter agglomerans</i>	27155	<i>Streptococcus mitis</i>	49456
<i>Enterobacter cloacae</i>	10699	<i>Streptococcus oralis</i>	35037
<i>Enterobacter sakazakii</i>	12868	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558
<i>Enterobacter gergoviae</i>	33028	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Escherichia coli</i>	10799	<i>Staphylococcus aureus ss. aureus</i>	33591
<i>Filifactor alocis</i>	35896	<i>Tannerella forsythia</i>	43037
<i>Fusobacterium nucleatum ss. nucleatum</i>	25586	<i>Treponema denticola</i>	B1 ^b
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693	<i>Veillonella parvula</i>	10790

^a ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD); ^b The Forsyth Institute, Cambridge, MA

5. DISCUSSÃO

Segundo relatório da UNAIDS (2015), a epidemia da infecção pelo HIV/AIDS tem declinado no mundo desde a década de 2000, e a meta das organizações mundiais envolvidas é de que a epidemia da AIDS seja extinguida em 2030. Os números indicam que houve uma redução de 35% no número de novos casos (sendo 58% em crianças), e de 42% no número de mortes relacionadas a complicações da AIDS. Além disso, houve um aumento relevante de 84% no acesso à terapia antirretroviral e cerca de 15,8 milhões de indivíduos HIV+ tem acesso à terapia. Entretanto, 17,1 milhões de pessoas HIV+ não sabem que têm o vírus e cerca de 22 milhões ainda não tem acesso ao tratamento, incluindo 1,8 milhões de crianças (UNAIDS, 2015). No Brasil, ao contrário da tendência mundial, houve um aumento no número de novos casos de infecção pelo HIV (11%) e de mortes associadas à doença (7%) entre 2003-2015. Em relação a gestantes, um modesto aumento na taxa de grávidas HIV+, de 2,0/1.000 nascimentos para 2,5/1.000 nascimentos, foi observado na última década. Em adolescentes e adultos jovens (15-19 anos de idade), houve um aumento de casos de 53% para homens e 10% para mulheres entre 2004-2013. Em 2013, o número de órfãos (0-17 anos de idade) devido a AIDS variava entre 60.000 e 1.000.000 de casos (UNAIDS Brasil). Logo, o número estimado de pessoas, particularmente muito jovens, vivendo com AIDS no país é ainda muito elevado.

Apesar da principal via de infecção pelo HIV no Brasil de muitos adolescentes e jovens (>13 anos de idade) ocorrer através de relações sexuais, muitos desses indivíduos adquiriram a doença pela via vertical (UNAIDS, 2015). Esses adolescentes e adultos jovens podem ter o diagnóstico no início de suas vidas ou ao manifestarem algum quadro grave de comprometimento sistêmico sem causa aparente (MS, 2013). Crianças e Adolescentes HIV+ infectados por transmissão vertical apresentam variações no comprometimento imunológico e na resposta ao HAART (MS, 2006). Em relação ao impacto da infecção pelo HIV na saúde bucal e na microbiota oral dessa população jovem, a literatura disponível ainda é relativamente escassa. No presente estudo, foi levantada a hipótese de que jovens HIV+ infectados por via vertical apresentariam uma condição de saúde bucal precária, bem como uma microbiota oral com perfil mais patogênico quando comparados a jovens sistemicamente saudáveis não infectados pelo HIV. Os pacientes HIV+ dessa amostra

populacional eram bem jovens e a grande maioria estava sob HAART, apesar de metade deles ser classificada como tendo AIDS. Um dado marcante foi o fato de todos os jovens terem mudado o regime terapêutico em algum momento durante o tratamento da doença. Quanto aos dados laboratoriais, esses indivíduos apresentavam níveis relativamente normais de linfócitos e neutrófilos, porém a carga viral média detectada era muito elevada. Esses dados indicam que essa população apresenta uma certa resistência ao tratamento, e que a frequente falha terapêutica observada com a frequente mudança de regime terapêutico pode ter contribuído para a persistência de altos níveis de carga viral e alta prevalência de AIDS. Alguns autores relatam que existe sim, nessa população jovem, uma maior dificuldade de adesão ao esquema terapêutico proposto, o que pode levar ao insucesso terapêutico. As dificuldades associadas ao tratamento desses indivíduos estão relacionadas ao desenvolvimento de reações adversas aos medicamentos, bem como a fatores de natureza psicossocial, incluindo a não compreensão sobre a necessidade da adesão correta ao tratamento; o receio de sofrer preconceito em seu meio de relacionamento social pelo uso desses medicamentos em horários de atividades diárias desses jovens; o desenvolvimento de atitudes de revolta em relação ao diagnóstico de uma doença a eles imposta (MS, 2013); a convivência em um ambiente familiar instável, e um nível sócio-econômico baixo (HOBDELL *et al.*, 2003; CASOTTI *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2015). Outros autores também têm relatado uma forte associação entre menor eficácia e acesso à ART e raça/cor negra e/ou parda (FONSECA *et al.*, 2007). De fato, o grupo de adolescentes e jovens HIV+ do presente estudo apresentou uma condição sócio-econômica inferior, bem como menor proporção de indivíduos brancos em relação ao grupo de jovens HIV-.

Em relação às condições de saúde bucal, cerca de 47% desses indivíduos apresentavam lesões orais ao exame inicial. A manifestação oral mais comum foi o eritema linear gengival. Achados similares foram reportados em crianças e adolescentes HIV+, com ou sem HAART, ou apresentando falha terapêutica (OLADOKUN *et al.*, 2013; GAITÁN-CEPEDA *et al.*, 2015). Manifestações na cavidade oral são de fundamental importância para o diagnóstico da infecção pelo HIV e a progressão da replicação viral, podendo ser um bom marcador para indicação de leve imunodeficiência e alta carga viral (GREENSPAN *et al.*, 2001, 2002; LEWIS, 2003).

Mesmo na fase pós-HAART, o eritema gengival linear, juntamente com a candidíase são as lesões mais frequentes em pacientes HIV+ (PATTON *et al.*, 2000; NASSER *et al.*, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2009; BRASILEIRO *et al.*, 2014).

Além da alta frequência de lesões orais, esse grupo de jovens HIV+ apresentou mais inflamação periodontal e perda de inserção, pior higiene oral e maior perda dentária do que o grupo controle, apesar deste grupo não infectado ter apresentado uma média de idade relativamente maior que os pacientes HIV+. Da mesma forma, os pacientes HIV+ apresentaram um alto índice CPOD (5.38) se comparado aos dados da população brasileira nessa faixa etária (4.25) (SUS, 2010). Trabalhos que avaliaram a condição de saúde bucal de crianças e adolescentes HIV+ observaram resultados similares, como um maior índice de cárie e inflamação gengival nesses pacientes HIV+ quando comparadas ao grupo controle HIV- (RIBEIRO *et al.*, 1998; VIEIRA *et al.*, 1998; HICKS *et al.*, 2000; CASTRO *et al.*, 2004; CERQUEIRA *et al.*, 2007; OBLIEYE *et al.*, 2009; DÁVILA & GIL, 2011; MACHADO *et al.*, 2011; LIBERALI *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Outros estudos reportaram uma relação entre alto índice de CPOD e maior prevalência de lesões orais em adolescentes HIV+ (KRISDAPONG *et al.*, 2012; 2013; 2014). Em um trabalho de revisão, BUCZYNSKI *et al.* (2008) argumentam que a alta prevalência de lesões e infecções orais em crianças e jovens HIV+ pode estar relacionada a alguns aspectos da cronicidade da infecção pelo HIV, como o uso prolongado de medicações açucaradas, presença de uma dieta rica em carboidratos, higiene oral deficiente, alterações no fluxo salivar pelo uso de medicamentos da ART, repeditos episódios de internação, e imunodeficiência persistente ocasionada pelo HIV (SOUZA *et al.*, 1996; RIBEIRO *et al.*, 2002; BAGHIRATH *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2014). Esses autores reforçam ainda que o comprometimento da saúde bucal dessas crianças e adolescentes tem um impacto significativo, com repercussão a longo prazo, na qualidade de vida desses futuros adultos (BUCZYNSKI *et al.*, 2008).

Em relação às doenças periodontais, as formas necrozantes destacavam-se como uma manifestação comum da AIDS no início da epidemia da infecção pelo HIV (PINHEIRO *et al.*, 2009). Com a introdução da HAART, os casos de doenças necrozantes diminuiriam significativamente (RAYDER *et al.*, 2012; OKUNSERI *et al.*, 2003). Por exemplo, PHIRI *et al.* (2010) reportaram uma maior prevalência de doenças necrozantes em adolescentes e adultos HIV+ em relação a indivíduos HIV-,

principalmente no grupo que não utilizava a terapia antirretroviral. Evidências indicam que o uso prolongado da HAART em adultos pode resultar em uma redução na gravidade das doenças periodontais, particularmente das formas crônicas (GONÇALVES *et al.*, 2004; VERNON *et al.*, 2013). Por outro lado, indivíduos adultos sob HAART que têm uma queda marcante no número de células TCD4 apresentam piores índices periodontais quando comparados a indivíduos com níveis maiores dessas células (VERNON *et al.*, 2013). Outros estudos que avaliaram adultos HIV+ infectados por outras vias que não a vertical, e sob HAART não observaram uma maior prevalência de parâmetros de inflamação e destruição periodontais do que indivíduos não infectados pelo HIV (GONÇALVES *et al.*, 2005; 2009; ROBINSON *et al.*, 1996; MCKAIG *et al.*, 2000; INDUCHODAN, 2008; JONH *et al.*, 2013).

Além de impactar o sucesso da ART, o baixo nível sócio-econômico também está fortemente correlacionado a uma maior prevalência de doenças orais e consequente perda dentária, e uma pior qualidade de vida, não somente de indivíduos HIV+, mas da população em geral (POUL & OGAWA, 2012; ROVARIS *et al.*, 2014; YANGOPAL *et al.*, 2016). Logo, a condição precária de saúde bucal evidenciada nos jovens HIV+ analisados nesse estudo pode também refletir a condição bucal da população geral do país. Geralmente, a população atendida em centros públicos de referência de HIV no Brasil compreende indivíduos de baixa renda e escolaridade (ROVARIS *et al.*, 2014), o que pode ter limitado nosso recrutamento de adolescentes e jovens com melhores condições sócio-econômicas.

A fim de se avaliar a composição da microbiota oral de adolescentes e jovens HIV+, a prevalência e os níveis de microrganismos orais e patógenos oportunistas de relevância médica foram determinados na saliva e no biofilme subgingival através de um método molecular baseado na hibridização de DNA genômico, o checkerboard (SOCRANSKY *et al.*, 1994; 2004). O grupo controle de jovens HIV- selecionado de bancos de dados clínico e microbiológico não apresentava dados referentes à composição microbiana da saliva, mas sim do biofilme subgingival. Logo, comparações entre os grupos foram realizadas apenas para os dados da microbiota periodontal.

A grande maioria das espécies avaliadas na saliva foi detectada em mais de 60% dos indivíduos HIV+, incluindo microrganismos comensais e patógenos orais, bem como espécies patogênicas de importância médica e oportunistas, tais como *C.*

albicans, *E. faecalis*, *H. pylori* e *S. aureus*. Utilizando a mesma metodologia, SILVA-BOGHOSSIAN *et al.* (2008) também encontraram níveis elevados de várias das espécies orais e não orais aqui avaliadas na saliva de crianças HIV+ infectadas por via vertical. Entretanto, em comparação com um grupo controle de crianças HIV-, as crianças HIV+ apresentaram menores frequências e níveis de bactérias orais, mas não de espécies oportunistas como a *C. albicans*.

Algumas espécies detectadas na saliva apresentaram correlações positivas moderadas com níveis de linfócitos e neutrófilos, enquanto níveis salivares de *F. nucleatum ss. nucleatum* tiveram uma relação inversa com níveis de carga viral plasmática. *C. ochracea* e *G. morbillorum* foram detectados em níveis mais elevados em pacientes com AIDS, enquanto *N. mucosa* e *E. faecalis* estavam mais elevados em pacientes HIV+ que apresentaram lesões orais. Essas relações são complexas e de difícil interpretação, pois além da infecção pelo HIV (carga viral e imunodeficiência), vários outros fatores locais e sistêmicos podem influenciar a microbiota oral, incluindo a presença de infecções orais, inflamação e higiene oral deficiente (TELES *et al.*, 2011). Os parâmetros clínicos orais avaliados foram semelhantes entre indivíduos com e sem AIDS, e portanto as diferenças microbiológicas não podem ser atribuídas exclusivamente por diferenças nesses parâmetros. Tanto *C. ochracea* quanto *G. morbillorum* são espécies residentes da microbiota oral, normalmente relacionadas à saúde bucal (GOLDBERG *et al.*, 2015). Entretanto, essas espécies podem ser oportunistas e causar infecções sistêmicas graves e invasivas em pacientes imunodeprimidos (ZAKIR *et al.*, 2004; ZAURA *et al.*, 2009; JIANG *et al.*, 2014), justificando seus níveis mais elevados nos jovens HIV+ com AIDS. Em relação às lesões orais, é possível que pacientes com essas manifestações tenham maior descolamento de *N. mucosa* e enterococos do epitélio oral para a saliva. Várias espécies de *Neisseria* são membros comensais da microbiota oral e colonizam diversos nichos da boca (XU *et al.*, 2015). *N. mucosa*, bem como *E. faecalis* são considerados patógenos oportunistas em pacientes imunodeficientes (GONÇALVES *et al.*, 2009; RAMOS *et al.*, 2012). A associação dessas espécies na saliva com parâmetros da infecção pelo HIV sugere que determinados microrganismos poderiam funcionar como indicadores de gravidade e progressão ou melhora e remissão da infecção pelo HIV nesses jovens, assim como tem sido investigado para outras doenças (MICHAUD *et al.*, 2013; PATRONE *et al.*,

2016; PRATS-PUIGS *et al.*, 2016). Entretanto, estudos mais profundos sobre essas interações, e envolvendo um número mais amplo de microrganismos são necessários para a determinação desses marcadores microbiológicos em potencial.

A microbiota periodontal subgingival desses adolescentes e adultos jovens infectados pelo HIV apresentou frequência e níveis mais elevados de patógenos periodontais e oportunistas em relação ao biofilme subgingival de jovens HIV-. É possível que a maior detecção dessas espécies nesse grupo HIV+ seja um reflexo da pior condição periodontal desses indivíduos em relação ao grupo controle HIV-. Por outro lado, esse perfil mais patogênico pode ter sido favorecido pela infecção viral e imunodeficiência de longa duração, assim como pela persistência de uma carga viral elevada (GAITAN-CEPEADRA *et al.*, 2014; RAVI & RAO, 2015). Por exemplo, Pereira *et al.* (2014) avaliaram a microbiota periodontal de adultos HIV+ e reportaram que indivíduos com carga viral plasmática detectável apresentavam maiores níveis de patógenos periodontais e *C. albicans* do que pacientes HIV+ com carga viral indetectável.

Apesar dos pacientes HIV+ do presente estudo não terem feito uso de antimicrobianos sistêmicos ou tópicos nos últimos 6 meses anteriores ao início do trabalho, o uso repetido de antimicrobianos ao longo dos anos, e a introdução da HAART ainda nos primeiros anos de vida nessa população também podem ter selecionado espécies patogênicas periodontais e oportunistas no biofilme subgingival. Outra característica importante que pode ter impactado a microbiota oral dessa amostra populacional se refere à repetida falha da terapia antirretroviral. A persistência da infecção pelo HIV, geralmente revelada pela persistência de alta carga viral, indica uma maior susceptibilidade desses indivíduos à infecção pelo HIV, o que pode resultar num maior comprometimento da imunidade desses jovens a diversas doenças infecciosas, facilitando a colonização por espécies mais patogênicas (BARLETT *et al.*, 2009).

A maioria dos trabalhos que avaliou a condição periodontal e a microbiota subgingival de pacientes HIV+ se limitou a pacientes adultos. Vários desses estudos relataram menores frequências de patógenos periodontais no biofilme subgingival de pacientes HIV+ comparados a indivíduos não infectados, apesar de terem demonstrado que microrganismos oportunistas eram mais prevalentes no grupo HIV+

(PATEL *et al.*, 2003; GONÇALVES *et al.*, 2004; 2005; 2007; 2009; ASS *et al.* 2005; BOTERO *et al.*, 2007). Dados semelhantes aos nossos foram reportados em alguns trabalhos, porém todos realizados em populações compostas por indivíduos HIV+ adultos (SCULLY *et al.*, 1999; JABRA-RIZK *et al.*, 2001; ALPAGOT *et al.*, 2003). Já GOLDBERG *et al.* (2015) não encontraram diferenças significativas na composição da microbiota periodontal de crianças bem controladas para infecção pelo HIV em comparação a indivíduos HIV-.

É importante ressaltar que esses dados contraditórios sobre a microbiota periodontal em indivíduos HIV+ podem resultar de diferenças metodológicas relevantes, tais como o método de detecção microbiana, o background genético da população, se são indivíduos adultos infectados por via horizontal ou crianças e jovens infectados por via vertical, se estão fazendo uso de HAART e por quanto tempo, o tempo de exposição ao vírus, e obviamente a presença de doença periodontal e higiene oral inadequada.

Ao contrário do que foi observado para microrganismos detectados na saliva, não foram encontradas associações entre nenhuma espécie microbiana do biofilme subgengival com o diagnóstico de AIDS ou a presença de lesões orais. Entretanto, alguns patógenos periodontais dos complexos laranja e vermelho (SOCRANSKY *et al.* 1998), estreptococos, *H. pylori* e espécies entéricas apresentaram correlações positivas moderadas com níveis de linfócitos, em particular TCD4. As espécies *S. contellatus* e *H. pylori* mostraram correlações com vários parâmetros laboratoriais relacionados à infecção, enquanto níveis de neutrófilos e carga viral tiveram somente correlações inversas com níveis microbianos de algumas dessas espécies. (DANG *et al.*, 2012; VERNON *et al.*, 2013). Essas correlações entre espécies do biofilme periodontal e características relacionadas à infecção HIV/AIDS foram moderadas e devem ser interpretadas com cautela, pois muitas dessas espécies interagem entre si, desenvolvendo relações antagônicas ou sinérgicas que podem mascarar essas correlações. Essas espécies do biofilme subgengival, juntamente com espécies detectadas na saliva, deveriam ser investigadas mais detalhadamente como possíveis marcadores para avaliação da progressão da infecção pelo HIV nesses jovens.

Sem dúvida, mais pessoas infectadas pelo HIV, particularmente crianças e jovens HIV+ submetidos ao HAART, estão vivendo por mais tempo (UNAIDS, 2014).

Entretanto, informação sobre o impacto da infecção pelo HIV e da ART de longa duração sobre as condições de saúde, bem como sobre a qualidade de vida e desenvolvimento de adolescentes e jovens HIV+ infectados desde a vida intra-uterina ainda é muito incipiente. Apesar das limitações do presente estudo, nossos dados demonstram que esses jovens HIV+ apresentam uma saúde bucal precária, incluindo a presença de lesões orais, alto índice de cárie, higiene oral inadequada, inflamação e perda de inserção periodontal significativas, associada a um perfil microbiológico oral patogênico. Esses achados sugerem que esses jovens podem apresentar um maior risco para o desenvolvimento e progressão de doenças orais em idade mais avançada, o que poderia levar à perda dentária precoce e todas as complicações a ela relacionadas. Assim, é importante que estudos e programas eficientes de atenção à saúde geral e bucal sejam realizados e/ou reforçados no Brasil e no mundo, a fim de se promover melhores condições de saúde e qualidade de vida a esses adolescentes e jovens na sua vida adulta.

6. CONCLUSÃO

Adolescentes e adultos jovens infectados pelo HIV por transmissão vertical possuem uma precária saúde oral associada a uma microbiota oral composta por alta prevalência e níveis de patógenos periodontais e oportunistas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alpagot T, Font K, Lee A (2003). **Longitudinal evaluation of GCF IFN-gamma levels and periodontal status in HIV+ patients.** J Clin Periodontol 30: 944–948.
- Arirachakaran P, Poovorawan Y, Dahlén G. **Highly-active antiretroviral therapy and oral opportunistic microorganisms in HIV-positive individuals of Thailand.** J Investig Clin Dent. 2016 May;7(2):158-67. Epub 2014 Dec 24
- Baghirath PV, Krishna AB, Gannepalli A, Ali MM (2013). **Oral manifestations of HIV in children receiving anti-retroviral therapy in Hyderabad, India.** Eur Arch Paediat Dent 14.6: 389–395.
- Bartlett, JG; **Medical management of HIV infection– 2009-2010.** USA, Johns Hopkins University School of Medicine, 2009.
- Bekker, Linda-Gail, and Sybil Hosek. **“HIV and Adolescents: Focus on Young Key Populations.”** Journal of the International AIDS Society 18.2Suppl 1 (2015): 20076. PMC. Web. 23 May 2016.
- Brasil, **Resolução nº 01/88 - CNS/MS, de 14 de janeiro de 1987.** Disponível em: conselho.saude.gov.br/resolucoes/1988/Reso01.doc. Acesso em: 21/03/2014.
- Brasileiro CB, Abreu MH, Mesquita RA (2014). **Critical review of topical management of oral hairy leukoplakia.** World J Clin Cases 2: 253–256.
- Brenchley, J. M., D. A. Price, T. W. Schacker, T. E. Asher, G. Silvestri, S. Rao, Z. Kazzaz, E. Bornstein, et al 2006. **Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection.** Nat. Med. 12:1365–1371.
- Buczynski, Ana Karla; CASTRO, Glória Fernanda; SOUZA, Ivete Pomarico Ribeiro de. **The impact of oral health on the quality of life of HIV infected children: a literature review.** Ciênc. saúde coletiva, Rio de Janeiro, v. 13, n. 6, p. 1797-1805, Dec. 2008. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232008000600014&lng=en&nrm=iso>. access on 24 May 2016.
- Casotti Janaina Aparecida S, Amanda Aparecida S Mendes, Blenda N Endlich, Murillo D Queiroz, Rafael S Tartaglia, Tânia QR Motta Factors associated with adherence to haart in Patients with hiV/aids DST - J bras Doenças Sex Transm 2011;23(4):215-221
- Casotti JAS, Mendes AAS, Endlich BN, Queiroz MD, Tartaglia RS, Motta TQR. **Factors Associated with Adherence to HAART in Patients with HIV/Aids.** DST j. bras. doenças sex. transm., v.23, n.4, p.215-221, 2011.
- Castro GF, Souza IPR, Lopes S, Stashenko P, Teles RP. **Salivary IgA to cariogenic bacteria in HIV-positive children and its correlation with caries prevalence and levels of cariogenic microorganisms** Oral Micro- biol Immunol 2004; 19: 281–288.
- Castro, K.G; Ward, J.W; Slutsker, L; Buehler, J.W; Jaffe H.W; Berkelman R.L.; Curran, J.W. **Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults (1992).**

- Center for Disease Control Working Group on **Antiretroviral Therapy of HIV-Infected Children**. Center for Disease Control. EUA Dez 18, 1992
- Cerqueira DF, Portela MB, Pomarico L, *et al.* (2007) **Examining dentinal carious lesions as a predisposing factor for the oral prevalence of *Candida spp* in HIV-infected children**. J Dent Child (Chic). May-Aug;74(2):98-103
- Cheng VC, Yuen KY, Chan WM, Wong SS, Ma ES, Chan RM. **Immuno restitution disease involving the innate and adaptive response (2002)**. Clin Infect Dis 2000, 30: 882–92.
- Clavel, F., Guyader, M., Guetard, D., Salle, M., Montagnier, L., Alizon, M. **Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2**. Nature 1986, 324: 691-695.
- Cobb CM, Ferguson BL, Keselyak NT, Holt LA, MacNeill SR, Rapley JW. **A TEM/SEM study of the microbial plaque overlying the necrotic gingival papillae of HIV-seropositive, necrotizing ulcerative periodontitis**. J Periodontal Res. 2003 Apr;38(2):147-55.
- Coffin, J.M. Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L., Monath, T.P., Roizman, B., Straus, S.E. **Retroviridae: The Viruses and their Replication**. In: **Fundamental Virology**. Lippincott Raven, Philadelphia 1996, p. 763-843.
- Cross DL, Smith GL. **Comparison of periodontal disease in HIV seropositive subjects and controls. (II)** Microbiology, immunology and predictors of disease progression. J Clin Periodontol 1995;22:569-577.
- Dang Angeline, Sean Cotton, Sumathi Sankaran-Walters, Chin-Shang Li, Chia-Yuan Michael Lee, Satya Dandekar, Bruce J Paster and Michael D George **Evidence of an increased pathogenic footprint in the lingual microbiome of untreated HIV infected patients** MC Microbiology 2012, 12:153 <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/12/153>
- Domaneschi C, Massarente DB, de Freitas RS *et al* (2011). **Oral colonization by *Candida* species in AIDS pediatric patients**. Oral Dis4: 393–398.
- Dos Santos Pinheiro, R., França, T. T., Ribeiro, C. M. B., Leão, J. C., de Souza, I. P. R., Castro, G. F. **Oral manifestations in human immunodeficiency virus infected children in highly active antiretroviral therapy era**. Journal of Oral Pathology & Medicine 2009, 38(8), 613–22.
- Feller L, Lemmer J **Necrotizing periodontal diseases in HIV-seropositive subjects: pathogenic mechanisms**. J Int Acad Periodontol 2008;10:10-5. 37.
- Fonseca EM, Nunn A, Souza-Junior PB, Bastos FI, Ribeiro JM. **Decentralization, AIDS, and harm reduction: the implementation of public policies in Rio de Janeiro, Brazil**. Cad Saude Publica. 2007 Sep;23(9):2134-44. Portuguese
- Fox, A. **Physicians barriers to successfull transitional care**. Int. J. Adolesc. Med. Health, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 3-7, 2002.
- Freed, E. O. **HIV-1 replication**. Somat Cell Mol Genet 2001. 26(1-6): 13-33.
- Fujita M, Otsuka M, Miyoshi M, Khamisri B, Nomaguchi M, Adachi A. **Vpx is critical for**

reverse transcription of the human immunodeficiency virus type 2 genome in macrophages. J Virol 2008, 82(15): 7752-6.

Fujita M1, Otsuka M, Nomaguchi M, Adachi A **Multifaceted activity of HIV Vpr/Vpx proteins: the current view of their virological functions.** Rev Med Virol 2010, 68-76

Gabriel Birkus, Michael J. M. Hitchcock, and Tomas Cihlar **"Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors."** Antimicrob Agents Chemother **46** (3): 716–23. March 2002.

Gaitan-Cepeda LA, Dominguez, S anchez A, Pavia-Ruz N et al (2010). **Oral lesions in HIV+/AIDS adolescents perinatally infected undergoing HAART.** Med Oral Pathol Oral Cir Bucal **15**: e545–e550.

Gaitan-Cepeda LA, Sanchez-Vargas O, Castillo N (2015). **Prevalence of oral candidiasis in HIV/AIDS children in highly active antiretroviral therapy era.** A literature analysis. Int J STD AIDS **26**: 625–632.

Giacaman, R. A., Nobbs, A. H., Ross, K. F. , Herzberg, M. C. **Porphyromonas gingivalis selectively up-regulates the HIV-1 coreceptor CCR5 in oral keratinocytes.**J Immunol 2007, **179**, 2542–2550

Goldberg BE, Mongodin EF, Jones CE, Chung M, Fraser CM, Tate A, (2015) **The Oral Bacterial Communities of Children with Well- Controlled HIV Infection and without HIV Infection.** PLoS ONE **10**(7): e0131615

Gonçalves L de S, Ferreira SM, Silva A Jr, Villoria GE, Costinha LH, Colombo AP. **Association of T CD4 lymphocyte levels and chronic periodontitis in HIV-infected Brazilian patients undergoing highly active anti-retroviral therapy.** Clinical results. J Periodontol. 2005;**76**(6):915-22.

Gonçalves LS1, Ferreira SM, Silva A Jr, Villoria GE, Costinha LH, Souto R, Uzeda MD, Colombo AP **Association of TCD4 lymphocyte levels and subgingival microbiota of chronic periodontitis in HIV-infected Brazilian under HAART.**Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod **2004**;97:196-203.

Gonçalves LS1, Soares Ferreira SM, Souza CO, Souto R, Colombo AP.**Clinical and microbiological profiles of human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive Brazilians undergoing highly active antiretroviral therapy and HIV-seronegative Brazilians with chronic periodontitis.**J Periodontol. 2007, **78**(1):87-96.

Goujon C, Arfi V, Pertel T, Luban J, Lienard J, Rigal D, Darlix JL, Cimorelli A.**Characterization of simian immunodeficiency virus SIVSM/human immunodeficiency virus type 2 Vpx function in human myeloid cells.** J J Virol 2008 **82**(24): 12335-45.

Goujon C, Rivière L, Jarrosson-Wuilleme L, Bernaud J, Rigal D, Darlix JL, Cimorelli A..**SIVSM/HIV-2 Vpx proteins promote retroviral escape from a proteasome-dependent restriction pathway present in human dendritic cells.** Retrovirology 2007 **4**: 2..

Hallal R, Ravasi G, Kuchenbecker R, Greco D, Simão M. **O acesso universal ao tratamento**

antirretroviral no Brasil. Revista Tempus Actas em Saúde Pública 2010; 4:53-66.

Hammer SM1, Squires KE, Hughes MD, Grimes JM, Demeter LM, Currier JS, Eron JJ Jr, Feinberg JE, Balfour HH Jr, Deyton LR, Chodakewitz JA, Fischl MA. **"A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less."**. *N. Engl. J. Med.* **337** (11): 725–33. Sep 1997..

Heller D, Silva-Boghossian CM, do Souto RM, Colombo AP. **Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases.** *Arch Oral Biol.* 2012;57:973–80.

Hobdell M1, Petersen PE, Clarkson J, Johnson N. **Global goals for oral health 2020.** *Int Dent J.* 2003 Oct;53(5):285-8.

Hodgson TA, Greenspan D, Greenspan JS. **Oral lesions of HIV disease and HAART in industrialized countries.** *Adv Dent Res* 2006; **19**: 57–62.

Hoffman NG, Seillier-Moiseiwitsch F, Ahn J, Walker JM, Swanstrom R. **Variability in the human immunodeficiency virus type 1 gp120 Env protein linked to phenotype-associated changes in the V3 loop.** *J Virol* 2002 76(8): 3852-64.

Hoffmann, E., Krauss, S., Perez, D., Webby, R. & Webster, R.G. **Eight-plasmid system for rapid generation of in uenza virus vaccines.** *Vaccine* **20**, 3165–3170 (2002).

Imai K, Asamitsu K, Victoriano AF, Cueno ME, Fujinaga K, Okamoto **Resistance to HIV-1 Infection in Caucasian Individuals Bearing Mutant Alleles of the CCR-5 Chemokine Receptor Gene.** *Nature.* 382: 722-5. 1996,76(8): 3852-64.

Induchoodan A: **Periodontal status in stages of HIV disease - A short- term clinical study.** *Perio* 2008, 5(4):247–250.

Jabra-Rizk MA, Falkler WA Jr, Enwonwu CO, Onwujekwe DI Jr, Merz WG, Meiller TF (2001). **Prevalence of yeast among children in Nigeria and the United States.** *Oral Microbiol Immunol* 16: 383–385.

Jabra-Rizk MA, Ferreira SM, Sabet M, Falkler WA, Merz WG, Meiller TF. **Recovery of Candida dubliniensis and other yeast from human immunodeficiency virus associated periodontal lesions.** *J Clin Microbiol* 2001;39:4520-4522.

Jiang W, Ling Z, Lin X, Chen Y, Zhang J, Yu J, Xiang C, Chen H. **Pyrosequencing analysis of oral microbiota shifting in various caries states in childhood.** *Microb Ecol* 2014;67:962-9

John Cathy Nisha, Lawrence Xavier Stephenand Charlene Wilma Joyce Africa.**Is human immunodeficiency virus (HIV) stage an independent risk factor for altering the periodontal status of HIV-positive patients? A South African study** .*JBMC Oral Health* 2013, 13:69

Johnson AA1, Ray AS, Hanes J, Suo Z, Colacino JM, Anderson KS, Johnson KA. **Toxicity of antiviral nucleoside analogs and the human mitochondrial DNA polymerase.** *J Biol Chem.* 2001 Nov 2;276(44):40847-57. Epub 2001 Aug 28.

- Kelvin, A. et al. Compliance in Adolescents with chronic Disease: A Review. **Journal of Adolescent Health**, Kidlington, UK. v. 26, p. 379-388, 2000
- Krisdapong S, Prasertsom P, Rattananangsim K, Sheiham A **Associations between perceived needs for dental treatment, oral health-related quality of life and oral diseases in school-aged Thai children.** (2014). *Community Dent Oral Epidemiol* 42: 323–332.
- Krisdapong S, Prasertsom P, Rattananangsim K, Sheiham A **Relationships between oral diseases and impacts on Thai schoolchildren's quality of life: Evidence from a Thai national oral health survey of 12- and 15-year-olds.** (2012). *Community Dent Oral Epidemiol* 40: 550–559.
- Krisdapong S, Prasertsom P, Rattananangsim K, Sheiham A. **Impacts on quality of life related to dental caries in a national representative sample of Thai 12- and 15-year-olds.** (2014). *Caries Res* 47: 9–17.
- Krisdapong S, Sheiham A, Tsakos G **Impacts of recurrent aphthous stomatitis on quality of life of 12- and 15-year-old Thai children.** (2012). *Qual Life Res* 21: 71–76.
- Kroidl A, Schaeben A, Oette M, Wettstein M, Herfordt A, Haussinger D **Prevalence of oral lesions and periodontal diseases in HIV-infected patients on antiretroviral therapy.***Eur J Med Res* 2005, 10(10):448-453
- Kumar S¹, Mishra P¹, Warhekar S¹, Airen B¹, Jain D¹, Godha S¹. **Oral Health Status and Oromucosal Lesions in Patients Living with HIV/AIDS in India: A Comparative Study.** *AIDS Res Treat.* 2014;2014:480247Epub 2014 Aug 20.
- Lee FJ1, Carr A. **Tolerability of HIV integrase inhibitors.** *Curr Opin HIV AIDS.* 2012 Sep;7(5):422-8. doi: 10.1097/COH.0b013e328356682a.
- Lewis DA: **Antiretroviral combination therapy for HIV infection.***Dental update* 2003, 30(5):242–247.
- Liberali SA, Coates EA, Freeman AD, Logan RM, Jamieson L, Mejia G. **Oral conditions and their social impact among HIV dental patients, 18 years on.** *Aust Dent J.* 2013 Mar;58(1):18-25. doi: 10.1111/adj.12031. Epub 2013 Jan 30.
- Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, MacDonald ME, Stuhlmann H, Koup RA, Landau NR: **Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multi-ply-exposed individuals to HIV-1 infection.** *Cell* 1996, 86(3):367-377.
- Llano M1, Saenz DT, Meehan A, Wongthida P, Peretz M, Walker WH, Teo W, Poeschla EM. **An essential role for LEDGF/p75 in HIV integration.** *Science* 2006 314(5798): 461-4.
- Loesche WJ, Lopatin DE, Stoll J, van Poperin N, Hujoel PP. **Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria: Can culture be considered the primary reference standard?** *J Clin Microbiol* 1992;30:418-426.
- Loos BG, van Winkelhoff AJ, Dunford RG, et al. **A statistical approach to the ecology of Porphyromonas gingivalis.** *J Dent Res* 1992;71:353-358.
- Machado FC1, de Souza IP, Portela MB, de Araújo Soares RM, Freitas-Fernandes LB, Castro

GF. **Use of chlorhexidine gel (0.2%) to control gingivitis and candida species colonization in human immunodeficiency virus-infected children: a pilot study.** *Pediatr Dent.* 2011 Mar-Apr;33(2):153-7.

MacNeil A, Sankalé JL, Meloni ST, Sarr AD, Mboup S, Kanki P. **Genomic sites of human immunodeficiency virus type 2 (HIV- 2) integration: similarities to HIV-1 in vitro and possible differences in vivo.** *J Virol* 2006 80(15): 7316-21

MacNeil A, Sankalé JL, Meloni ST, Sarr AD, Mboup S, Kanki P. **Genomic sites of human immunodeficiency virus type 2 (HIV- 2) integration: similarities to HIV-1 in vitro and possible differences in vivo.** *J Virol* 2006 80(15): 7316-21

Marshall W A, Tanner JM. **Variation in the pattern of pubertal changes in boys.** *Arch Dis Child.* 1970;45:13-23.

Marshall WA, Tanner JM. **Variation in the pattern of pubertal changes in girls.** *Arch Dis Child.* 1969;44:291-303

Mataftsi M, Skoura L, Sakellari D. 2011. **HIV infection and periodontal diseases: an overview of The post-HAART era.** *Oral Dis.* 17(1):13-25.

Merchant RH, Oswal JS, Bhagwat RV, Karkare J. **Clinical profile of HIV infection.** *Indian Pediatric* 2001; 38: 239–46.

Michaud DS1, Izard J, Rubin Z, Johansson I, Weiderpass E, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Dossus L, Kaaks R, et. al. **Lifestyle, dietary factors, and antibody levels to oral bacteria in cancer-free participants of a European cohort study.** *Cancer Causes Control.* 2013 Nov;24(11):1901-9.

Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites **Virais Boletim Epidemiológico - Aids e DST 2014** 1517-1159

Ministério da Saúde - **Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais Boletim epidemiológico HIV/AIDS (2014)** ISSN: 1517-1159

Ministério da Saúde - **Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais Boletim epidemiológico HIV/AIDS (2012)** ISSN 1517 1159

Ministério da Saúde **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV (2013)** ISSN: 15565

Ministério da saúde **Protocolo clinico e diretrizes terapeuticas para maejo da infecção pelo HIV em crianças e Adolescentes, pdf_25392.pdf, 2015**

Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Programa Nacional de DST e Aids **Crítérios de definição de casos de AIDS em adultos e criança (2004)**

Ministério da saúde, Secretaria de vigilância em saúde, Promgrama Nacional de DST e AIDS **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV 2008.** Brasília: MS, SVS, DST e AIDS 2008. Disponível em http://www.AIDS.gov.br/sites/default/files/consensoAdulto005c_2008montado.pdf Acessado em 12/03/2016.

- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. **Manual de rotinas para assistência a Adolescentes vivendo com HIV/AIDS**. Brasília, 2006.
- Miziara Id, Weber R (2008). **Oral lesions as predictors of highly active antiretroviral therapy failure in Brazilian HIV-infected children**. J Oral Pathol Med 37: 99–106.
- Molotsky B, "U.S Approves Drug to Prolong Lives of AIDS Patients". New York Times. 1987-03-21
- Moore LV, Moore WE, Riley C, Brooks CN, Burmeister JA, Smibert RM. **Periodontal microflora of HIV positive subjects with gingivitis or adult periodontitis**. J Periodontol. 1993 Jan;64(1):48-56.
- Murphy DA, Wilson CM, Durako SJ, Muenz LR, Belzer M, **Adolescent Medicine HIV/AIDS Research Network Antiretroviral medication adherence among the REACH HIV-infected adolescent cohort in the USA**. AIDS Care. 2001;13(1):27–40
- Nasi M, De Biasi S, Gibellini L, Bianchini E, Pecorini S, Bacca V, Guaraldi G, Mussini C, Pinti M, Cossarizza A **Aging and inflammation in patients with HIV infection**. Clin Exp Immunol. 2016 May 20. doi: 10.1111/cei.12814
- Nasser M, Fedorowicz Z, Khoshnevisan MH, Shahiri Tabarestani M (2008). **Acyclovir for treating primary herpetic gingivostomatitis**. Cochrane Database Syst Rev 4: CD006700.
- NIH **"Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents" (PDF)**. US Department of Health and Human Services. 2015-04-08.
- Nittayananta W, Talungchit S, Jaruratanasirikul S et al (2010). **Effects of long-term use of HAART on oral health status of HIV-infected subjects**. Oral Pathol Med 39: 397–406.
- Obileye MF, Agbelusi GA, Orenuga OO, Temiye EO (2009). **Dental caries of HIV infected children in Nigeria**. Nig Q J Hosp Med. Sep-Dec;19(4):210-3.
- Odden K, Schenck K, Koppang H, Hurlen B. **Candidal infection of the gingiva in HIV-infected persons**. J Oral Pathol Med 1994, 23: 178-183.
- Okunseri C, Badner V, Wiznia A, Rosenberg M. **Prevalence of oral lesions and percent CD4⁺ T-lymphocytes in HIV-infected children on antiretroviral therapy**. AIDS Patient Care STDS 2003,17:5-11. 38.
- Oliveira CA, Tannure PN, de Souza IP, Maia LC, Portela MB, Castro GF. **Is dental caries experience increased in HIV-infected children and adolescents? A metaanalysis**. Acta Odontol Scand. 2015;73(7):481-7.. Epub 2015 Mar 12.
- Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, Aschman DJ, Holmberg SD. **Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection**. J Med 1998, 338:853-860.
- Patel M, Coogan M, Galpin JS. **Periodontal pathogens in subgingival plaque of HIV-positive subjects with chronic periodontitis**. Oral Microbiol Immunol 2003, 18: 199-201.

- Patrone V, Vajana E, Minuti A, Callegari ML, Federico A, Loguercio C, Dallio M, Tolone S, Docimo L, Morelli L. **Postoperative Changes in Fecal Bacterial Communities and Fermentation Products in Obese Patients Undergoing Bilio-Intestinal Bypass.** *Front Microbiol.* 2016 Feb 23;7:200. doi: 10.3389/fmicb.2016.00200. eCollection 2016.
- Patton LL, McKaig R, Strauss R, Rogers D, Eron JJ, Jr. **Changing prevalence of oral manifestations of human immuno-deficiency virus in the era of protease inhibitor therapy.** *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; **89**: 299–304.
- Patton LL, van der Horst C. **Oral infections and other manifestations of HIV disease.** *Infect Dises Clin North Am* 1999;13:879-900. 33.
- Pereira VT, Pavan P, Souza RC, Souto R, et al(2014). **The association between detectable plasmatic human immunodeficiency virus (HIV) viral load and different subgingival microorganisms in Brazilian adults with HIV: a multilevel analysis.** *J Periodontol.* May;85(5):697-705z
- Permanyer M, Ballana E, Esté JA. **Endocytosis of HIV: anything goes.** *Trends Microbiol* 2010 18(12): 543-51.
- Phiri R1, Feller L, Blignaut E. **The severity, extent and recurrence of necrotizing periodontal disease in relation to HIV status and CD4+ T cell count.** *J Int Acad Periodontol.* 2010 Oct;12(4):98-103.
- Piot P, Bartos M, Ghys PD, Walker N, Schwartländer B. **The global impact of HIV/AIDS.** *Nature.* 2001 Apr 19;410(6831):968-73.
- Poul E. Petersen and Hiroshi Ogawa **The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control Periodontology 2000 Volume 60, Issue 1, pages 15–39, October 2012**
- Prats-Puig A, Gispert-Saüch M, Carreras-Badosa G, Osiniri I, Soriano-Rodríguez P, Planella-Colomer M, de Zegher F, Ibáñez L, Bassols J, López-Bermejo **A α -Defensins and bacterial/permeability-increasing protein as new markers of childhood obesity.** *Pediatr Obes.* 2016 Mar 1. doi: 10.1111/ijpo.12118.
- Rachid, M. AND Schechter, M. **Manual de HIV/AIDS. Rio de Janeiro.** Ed.Revinter, 9a Ed. Revisada e Ampliada, 2008.
- Ramirez-Amador V, Esquivel-Pedraza L, Sierra-Madero J, Anaya-Saavedra G, Gonzalez-Ramirez I, Ponce-De-Leon S: **The changing clinical spectrum of human immunodeficiency virus (HIV)-related oral lesions in 1,000 consecutive patients: a 12-year study in a referral center in Mexico.** *Medicine* 2003, 82(1):39-50.
- Ramos MP, Ferreira SM, Silva-Boghossian CM, Souto R, Colombo AP, Noce CW, Gonçalves LS. **Necrotizing periodontal diseases in HIV-infected Brazilian patients: a clinical and microbiologic descriptive study.** *Quintessence Int.* 2012 Jan;43(1):71-82.
- Rams TE, Andriolo M Jr, Feik D, Abel SN, McGivern TM, Slots J. **Microbiological study of HIV-related periodontitis.** *J Periodontol* 1991; 62: 74-81.

- Rao D1, Kekwaletswe TC, Hosek S, Martinez J, Rodriguez F. **Stigma and social barriers to medication adherence with urban youth living with HIV.** *AIDS Care.* 2007 Jan;19(1):28-33
- Ravi JR, Rao TR **Estimation of prevalence of periodontal disease and oral lesions and their relation to CD4 counts in HIV seropositive patients on antiretroviral therapy regimen reporting at District General Hospital, Raichur.** *J Indian Soc Periodontol.* 2015 Jul-Aug;19(4):435-9.
- Ribeiro AA, Bunzman ER, Castro GF, Nishio C, Souza IP. **Relation between salivary flow, medicines and caries in HIV + children.** *J Dent Res* 1998; 77:841.
- Ribeiro AA, Portela M, Souza IP. **Relação entre biofilme, atividade de cárie e gengivite em crianças HIV+.** *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16(2):144-150.
- Romito GA, Garcia DB, Pustiglioni FE. **Periodontites necessidade de um diagnóstico precoce.** *Rev Periodontia SOBRAPE* 2002;13:5-10.
- Rovaris NS, Galato D, Schuelter-Trevisol F, da Silva J, Linhar Lda S, Nickel DA, Traebert J1. **Oral health status and its impact on the quality of life of children and adolescents living with HIV-1.** *BMC Res Notes.* 2014 Jul 28;7:478
- Ruoff, Katheryn L. (2011). **Aerococcus, Abiotrophia, and other Aerobic Catalase-Negative, Gram Positive Cocci in Manual of Clinical Microbiology 10th Ed.** Washington DC: ASM Press. pp. 365–376.
- Rwenyonyi MC, Muwazi AKL, Okullo I, Kasangaki A, Kekit-inwa A (2011). **Oral Manifestations in HIV/AIDS Infected Children.** *Eur J Dent* 5: 291–295.
- Ryder MI, Nittayananta W, Coogan M, Greenspan D, Greenspan JS. 2012. **Periodontal disease in HIV/AIDS.** *Periodontol* 2000. 60(1):78-97.
- Sales-Peres SH, Mapengo MA, de Moura-Grec PG, Marsicano JA, Sales-Peres Ade C, Sales-Peres A **(Oral manifesta- tions in HIV+ children in Mozambique.** *Ciencia Saude Coletiva* (2012). 17: 55–60.
- Samji H, Cescon A, Hogg RS, *et al.* **Closing the Gap: Increases in life expectancy among treated HIV-positive individuals in the United States and Canada.** *PLoS One.* 2013 18;8(12):e81355.
- Schmidt-Westhausen AM, Pripke F, Bergmann FJ, Reichart PA: **Decline in the rate of oral opportunistic infections following introduction of highly active antiretroviral therapy.** *J Oral Pathol Med* 2000, 29(7):336-341.
- Schröder AR1, Shinn P, Chen H, Berry C, Ecker JR, Bushman F. **HIV-1 integration in the human genome favors active genes and local hotspots.** *Cell* 2002 110(4): 521-9.
- Schröder AR1, Shinn P, Chen H, Berry C, Ecker JR, Bushman F. **HIV-1 integration in the human genome favors active genes and local hotspots.** *Cell* 2002 110(4): 521-
- Scully C, Porter SR, Mutlu S, Epstein JB, Glover S, Kumar N (1999). **Periodontopathic bacteria in English HIV- seropositive persons.** *AIDS Patient Care STDS* 13: 369– 374.

- Sharon V, Fazel N **Oral candidiasis and angular cheilitis**. *Dermatol Ther* 23: 230–242. (2010).
- Shearer, W. T. *et al.* Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. *The New England Journal of Medicine*, [s.l.], v. 336, n. 19, p. 1337-42, 1997.
- Silva-Boghossian, C., Castro, G. F., Teles, R. P., De Souza, I. P. R., & Colombo, A. P. V. (2008). **Salivary microbiota of HIV-positive children and its correlation with HIV status, oral diseases, and total secretory IgA**. *International Journal of Paediatric Dentistry / the British Paedodontic Society [and] the International Association of Dentistry for Children*, 18(3), 205–16.
- Silva, José Adriano Góes, Dourado, Inês, Brito, Ana Maria de, & Silva, Carlos Alberto Lima da. (2015). **Factors associated with non-adherence to antiretroviral therapy in adults with AIDS in the first six months of treatment in Salvador, Bahia State, Brazil****Factors associated with non-adherence to antiretroviral therapy in adults with AIDS in the first six months of treatment in Salvador, Bahia State, Brazil**. *Cadernos de Saúde Pública*, 31(6), 1188-1198. Epub June 00, 2015
- Socransky SS and Haffajee AD **Dental biofilms: difficult therapeutic targets** *Periodontology* 2000, Vol. 28, 2002, 12–55 SSN 0906-6713
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. **Microbial complexes in subgingival plaque**. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-144.
- Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Martin L, Haffajee JA, Uzel NG, Goodson JM. **Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems**. *Oral Microbiol Immunol*. 2004 Dec;19(6):352-62.
- Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. **Checkerboard" DNA-DNA hybridization**. *Biotechniques*. 1994 Oct;17(4):788-92.
- Sonza S1, Mutimer HP, O'Brien K, Ellery P, Howard JL, Axelrod JH, Deacon NJ, Crowe SM, Purcell DF **Selectively reduced tat mRNA heralds the decline in productive human immunodeficiency virus type 1 infection in monocyte-derived macrophages**. *J Virol* 200276(24): 12611-21.
- Souza IPR, Teles GS, Castro GF, Guimarães L, Viana RBC, Peres M. **Prevalência de cárie em crianças infectadas pelo HIV**. *Rev Bras Odontol* 1996; 53(1):49-51
- SUS **Pesquisa Nacional de saúde bucal- SB Brasil 2010** (2011), pg 34
- Tanner, JM. **Growth at adolescence**. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific; 1962.
- Teles FR, Teles RP, Uzel NG, Song XQ, Torresyap G, Socransky SS, Haffajee AD. **Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease**. *J Periodontal Res*. 2012 Feb;47(1):95-104.
- Tenenbaum H, Elkaim R, Cuisinier F, Dahan M, Zamanian P, Lang JM. **Prevalence of six periodontal pathogens detected by DNA probe method in HIV vs non-HIV periodontitis**. *Oral Dis* 1997;3(Suppl. 1):S153- S155.
- The National Institutes of Health **Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection**. The National Institutes of Health, 2008.
- The World Health Report **Reducing Risks, Promoting Healthy Life**. Geneva: WHO, 2002.

- Tilton, J. C. and R. W. Doms. **Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection.** *Antiviral Res* 2010 85(1): 91-100.
- Tsang CS, Samaranayake LP. **Predominant cultivable subgingival microbiota of health and HIV-infected ethnic Chinese.** *APMIS* 2001;109:117-126.
- Turville SG, Cameron PU, Handley A, Lin G, Pöhlmann S, Doms RW, Cunningham AL. **Diversity of receptors binding HIV on dendritic cell subsets** *Nat Immunol.* **2002** Oct;3(10):975-83. Epub **2002** Sep 23
- UNAIDS BRASIL (2015) **Uma meta ambiciosa de tratamento para contribuir para o fim da epidemia de AIDS** pg 7-9
- UNAIDS. Global summary of the AIDS epidemic 2010.
- Usach, Iris, Virginia Melis, and José-Esteban Peris. **“Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors: A Review on Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Safety and Tolerability.”** *Journal of the International AIDS Society* 16.1 (2013): 18567. PMC. Web. 23 May 2016.
- Vandegraaff, N., Devroe E, Turlure F, Silver PA, Engelman A.. **Biochemical and genetic analyses of integrase-interacting proteins lens epithelium-derived growth factor (LEDGF)/p75 and hepatoma-derived growth factor related protein 2 (HRP2) in preintegration complex function and HIV-1 replication.** *Virology* 2006 346(2): 415-26.
- Vernon LT, Demko CA, Babineau DC, Wang X, Toossi Z, Weinberg A, Rodriguez B. 2013. **Effect of Nadir CD4+ T cell count on clinical measures of periodontal disease in HIV+ adults before and during immune reconstitution on HAART.** *PLoS One.* 8(10):e76986.
- Vernon LT, Demko CA, Whalen CC, Lederman MM, Toossi Z, Wu M, Han YW, Weinberg A. 2009. **Characterizing traditionally defined periodontal disease in HIV+ adults.** *Community Dent Oral Epidemiol.* 37(5):427-437.
- Vieira AR, de Souza IP, Modesto A, Castro GF, Vianna R. **Gingival status of HIV+ Children and the correlation with caries incidence and immunologic profile** *Pediatric Dent.* 1998 May-Jun;20(3):169-72
- Walmsley S1. **Protease inhibitor-based regimens for HIV therapy: safety and efficacy.** *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007 Jun 1;45 Suppl 1:S5-13; quiz S28-31.
- Wolff, L.; Dahle`n, G. .; Aeppli, D. **Bacteria as risk markers for periodontitis.** *J. of Periodontology* 1994;65 (suppl.), 498–510.
- World Health Organization. **Adolescent Health and Development.** 2007. Disponível em: http://www.searo.who.int/en/Section13/Section1245_4980.htm. Acesso em: 21/03/2014
- Xu, He J, Xue J, Wang Y, Li K, Zhang K, et al. **Oralcavity contains distinct niches with dynamic microbial communities.** *Environ Microbiol.* Volume 17, Issue 3 March 2015 Pages 699–710
- Yengopal V, Bhayat A, Coogan M (2011). **Pediatric oral HIV research in the developing**

world. Adv Dent Res 23: 61–66.











Zakir, R. M.; Al-Dehneh, A.; Dabu, L.; Kapila, R.; Saric, M. (7 October 2004). "**Mitral Bioprosthetic Valve Endocarditis Caused by an Unusual Microorganism, Gemella morbillorum, in an Intravenous Drug User**". *Journal of Clinical Microbiology* 42 (10): 4893–4896.

Zaura E, Keijsers BJ, Huse SM, Crielaard W. **Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities.** BMC Microbiol 2009;9:259.






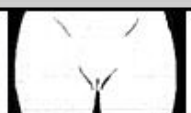




Zhu P1, Liu J, Bess J Jr, Chertova E, Lifson JD, Grisé H, Ofek GA, Taylor KA, Roux KH. **Distribution and three-dimensional structure of AIDS virus envelope spikes.** Nature 2006 441(7095): 847-52.

Anexo I- Estágios de Puberdade

Estágios de Tanner -Desenvolvimento Puberal Masculino

Genitália		
	G1 (pré-adolescência)	Pênis, testículo e escroto de aparência e tamanho infantis.
	G2 (9-14 anos)	Início de aumento de testículos e escroto cuja a pele se torna mais fina e avermelhada; não há aumento do pênis.
	G3 (10 ^{1/2} -15 anos)	Continua o crescimento escrotal e o pênis aumenta principalmente em comprimento.
	G4 (11 ^{1/2} -16 anos)	Continua o crescimento de testículos e escroto. Há aumento do pênis em comprimento e em diâmetro tornando-as a glândula evidente.
	G5 (12 ^{1/2} -17 anos)	Genitais adultos em tamanho e forma.
Pêlos		
	P1 (não há pelagem)	Ausência de pêlos pubianos.
	P2 (11-15 ^{1/2} anos)	Crescimento asperso de pêlos finos, longos discretamente pigmentados, lisos ou discretamente encaracolados ao longo dos grandes lábios.
	P3 (11 ^{1/2} -16 anos)	Os pêlos tornam-se mais escuros, mais espessos e mais encaracolados, distribuindo-se na sínfise púbica.
	P4 (12-16 ^{1/2} anos)	Pêlos do tipo adulto porém ainda em quantidade menor, não atingindo a superfície interna das coxas.
	P5 (15-17 anos)	Pêlos adultos em tipo e quantidade, atingindo a superfície internada coxa.

Estágios de Tanner - Desenvolvimento Puberal Feminino

Mamas		
	M1 (mamas infantis)	Estádio de mamas pré-adolescentes. Há somente elevação das papilas.
	M2 (8-13 anos)	Estádio de broto mamário, com pequena elevação de mama e da papua e aumento do diâmetro da aréola.
	M3 (10-14 anos)	Crescimento da mama e da aréola parecendo uma pequena mama adulta. Não há separação dos contornos da mama e da aréola.
	M4 (11-15 anos)	Crescimento e projeção da aréola e da papua formando uma elevação acima do corpo da mama
	M5 (13-18 anos)	Estádio adulto com projeção apenas da papua, pois a aréola retorna para o contorno geral da mama.
Pêlos		
	P1 (pré-adolescência)	Ausência de pêlos pubianos.
	P2 (9-14 anos)	Crescimento asperso de pêlos finos, longos discretamente pigmentados, lisos ou discretamente encaracolados ao longo dos grandes lábios.
	P3 (10-14 ^{1/2} anos)	Os pêlos tornam-se mais escuros, mais espessos e mais encaracolados, distribuindo-se na sínfise púbica.
	P4 (11-15 anos)	Pêlos do tipo adulto porém ainda em quantidade menor, não atingindo a superfície interna das coxas.
	P5 (12-16 ^{1/2} anos)	Pêlos adultos em tipo e quantidade, atingindo a superfície internada coxa.

Fonte: Marshall & Turner, 1970.

Anexo II

Colocar aqui o termo de aprovação do CEP