

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM ESTOMATITES POR PRÓTESE

**Rocha, K.C.P.; Baptista C.C.H.M.; Luz, L.N.M.; Silva, A.C.A; Khouri, S.;
Canettieri, A.C.V.**

Faculdade de Ciências da Saúde, Curso de Biomedicina,
NUFABI (Núcleo de Estudos Farmacêuticos e Biomédicos),
Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Brasil,
Fone: +55 12 3947 1000 Ramal: 2056
kkcristine@gmail.com; acanettieri@gmail.com

Resumo- A estomatite protética (EP) caracteriza-se pela presença de uma lesão eritematosa no palato duro do paciente sob a prótese removível. Apresenta causa multifatorial, sendo a candidose o fator mais importante para o seu surgimento. O presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida* em quadros clínicos de estomatite protética. Foram selecionados 24 idosos (acima de 60 anos) e coletadas amostras, com auxílio de swab, do palato duro do paciente e da base da prótese. Os resultados mostram a presença de leveduras do gênero *Candida* em 100% dos casos de estomatite, prevalecendo *C. albicans*. Para diferenciação entre leveduras *albicans* e não *albicans* foram realizadas as provas do tubo germinativo e microcultivo em ágar-fubá tween 80, tratando-se de 69,84% *albicans* e 30,16% não *albicans*. Sendo assim, nota-se a fundamental importância de diagnóstico e tratamento adequados para a melhoria da qualidade de vida destes pacientes.

Palavras-chave: candidose, prótese, análise microbiológica.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde.

Introdução

A cavidade bucal constitui um ecossistema microbiológico o qual, em princípio, mantém-se em harmonia e onde as formas de vida que o habitam se encontram em equilíbrio saprofítico (JORGE, 1997; PENHA, 1996; SHAFER, 1987). Entretanto, algumas condições podem acabar com esse equilíbrio, propiciando o surgimento de patologias.

O gênero *Candida* é caracterizado por leveduras, células arredondadas ou ovais com 2 a 4µm de diâmetro. Estes fungos habitam normalmente as mucosas e só causam doenças quando existem condições que favoreçam seu crescimento. A evidência clínica ou não de infecção depende provavelmente de três fatores gerais: o estado imunológico do hospedeiro; o meio ambiente da mucosa bucal e a resistência da *Candida albicans* (NEVILLE et al., 2004).

Dentre as infecções fúngicas que afetam a boca a principal é a candidose. Os fatores predisponentes podem ser locais ou sistêmicos e envolvem mais comumente próteses removíveis mal-adaptadas e mal higienizadas, mudanças na microbiota bucal, feridas crônicas de mucosa, uso sistêmico prolongado de antibióticos, uso de imunossuppressores, corticoterapia e doenças que causam imunodeficiência, como a AIDS (MUZYKA et al., 2005). A candidose oral pode apresentar formas clínicas variadas. Existem as formas agudas ou crônicas, assim como, formas brancas

ou eritematosas. Dentre as classificadas como brancas, existem a candidose pseudomembranosa e a crônica hiperplásica. Ambas caracterizadas como placas brancas, sendo a primeira removida à raspagem. Entre as formas vermelhas, destaca-se a de expressão aguda, como a candidose atrófica aguda, sendo comum o seu desenvolvimento após antibioticoterapia, manifestando-se como mancha vermelha no dorso da língua, com sintomatologia (sensação de queimação). As outras formas de candidose eritematosa são comumente crônicas (NEVILLE et al., 2004).

De acordo com Regezi e Sciubba (2000) esta infecção acomete preferencialmente as crianças e as pessoas idosas, numa frequência de 5% dos recém nascidos, 5% de pessoas com neoplasias e 10% dos pacientes idosos com saúde precária. A candidíase (candidose) é mais freqüente em pessoas nos extremos da idade (Sonis et al., 1996).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a participação das leveduras do gênero *Candida* na etiologia do quadro clínico denominado estomatite por prótese.

Metodologia

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP, sob protocolo de número H40/CEP/2010.

Os pacientes selecionados para essa pesquisa foram 24 idosos (indivíduos acima de 60 anos) que compareceram na UBS do Jardim Satélite, São José dos Campos, durante a campanha da vacinação anual contra a gripe. Foram selecionados 19 pacientes com diagnóstico clínico de estomatite por prótese (formando o grupo experimental) e 5 pacientes para o grupo controle, usuários de prótese removível que não apresentavam eritema e/ou petéquias no palato duro.

Para coleta das amostras, utilizaram-se dois swabs estéreis. Um swab, umedecido em solução fisiológica esterilizada, foi aplicado no palato duro do paciente com movimentos de vai e vêm (fricção), por 30 segundos, em toda área eritematosa. Logo após, o mesmo foi inserido em um tubo de ensaio com caldo Sabouraud para o transporte até o laboratório. O outro swab foi friccionado em toda base da prótese e imerso em outro tubo com caldo de Sabouraud.

No laboratório, com auxílio de uma alça descartável calibrada, as amostras de todos os pacientes foram semeadas em placas contendo ágar CHROMagar *Candida*tm. O meio CHROMagar *Candida*tm é um meio cromógeno que permite a identificação presuntiva das leveduras por conter vários substratos enzimáticos que, hidrolizados pelas hexoaminidases correspondentes, permitem a identificação da levedura de acordo com a pigmentação exibida pela colônia em um tempo de 24 a 48 horas (QUINDÓS et al., 2001). O meio utilizado indica colônias verde-claras para *C. albicans*, verde-escuras para *C. dubliniensis* e azuis para *C. tropicalis* (ODDS,1995; SULLIVAN, 1998), conforme Figura 1.

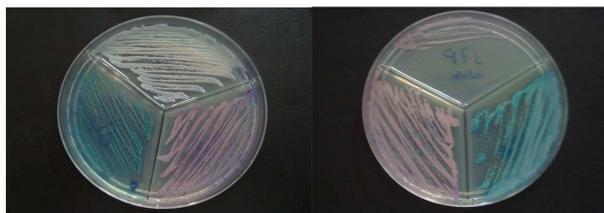


Figura 1: Identificação presuntiva de leveduras do gênero *Candida* através do meio CHROMagartm *Candida*.

Após o isolamento das espécies *Candida* em CHROMagar *Candida*tm, realizou-se a identificação das espécies. Esfregaços das colônias típicas de levedura foram corados pelo método de Gram. Quando, na microscopia, foram observadas células ovaladas, grandes, Gram-positivas, com ou sem brotamento, sugestivas de *Candida*, as colônias foram transferidas para tubos contendo ágar Sabouraud Dextrose inclinado, para identificação. As amostras foram identificadas como *albicans* ou não *albicans*, baseado na

produção de tubo germinativo em soro estéril de coelho e na presença de pseudo-hifas, leveduras e clamidósporos em ágar-fubá-tween 80 (JORGE, 1997; MOREIRA, 2002).

A prova do tubo germinativo é um teste rápido e simples que caracteriza presuntivamente a levedura da espécie *Candida albicans*. Baseia-se na produção do tubo germinativo após incubação de três horas em soro estéril a 37 °C. O teste de microcultivo em ágar-fubá fundamenta-se na capacidade que as leveduras apresentam de filantar-se, formando pseudo-hifas e/ou hifas verdadeiras, sugerindo a espécie da levedura.

Resultados

Após a análise das 48 amostras, através do meio CHROMagar *Candida*tm, tivemos 63 espécies de *Candida* isoladas presuntivamente, sendo 31 espécies oriundas das mucosas e 32 espécies isoladas das bases das próteses. Desse total, identificou-se nas amostras a presença de *Candida albicans* em 70% , de *C. tropicalis* em 11% , de *C. glabrata* em 3% e 16% de outras espécies de *Candida*, conforme demonstrado na Tabela 1 e na Figura 2.

Tabela 1: Espécies de *Candida* presentes nas amostras

| Espécie | Nº de amostras |
|----------------------|----------------|
| <i>C. albicans</i> | 44 |
| <i>C. tropicalis</i> | 7 |
| <i>C. glabrata</i> | 2 |
| <i>Candida spp</i> | 10 |

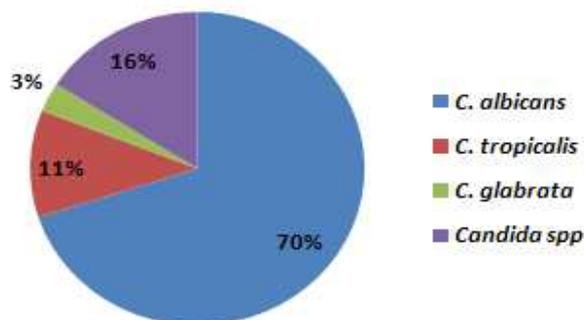


Figura 2: Gráfico representando a percentagem das espécies de *Candida* em relação ao total de amostras.

Os resultados obtidos para cada amostra analisada podem ser observados nas Tabelas 2 e 3. Mesmo nos cinco pacientes controles (pacientes 1, 2, 3, 7 e 8), os quais não apresentavam eritema e/ou petéquias no palato duro, podemos notar o crescimento de leveduras do gênero *Candida*.

Tabela 2: Espécies de *Candida* encontradas nas duas regiões pesquisadas nos cinco pacientes controles.

| Amostra | Mucosa | Prótese |
|---------|--------------------|--------------------------------------------|
| 1 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 2 | <i>C. glabrata</i> | <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i> |
| 3 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 7 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 8 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |

Tabela 3: Espécies de *Candida* encontradas nas duas regiões pesquisadas em cada paciente do grupo experimental.

| Amostra | Mucosa | Prótese |
|---------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 4 | <i>C. tropicalis</i> | <i>C. tropicalis</i> , <i>Candida spp</i> |
| 5 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 6 | <i>C. albicans</i> , <i>Candida spp</i> | <i>C. albicans</i> |
| 9 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 10 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 11 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 12 | <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>Candida spp</i> | <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>Candida spp</i> |
| 13 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 14 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 15 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 16 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 17 | <i>C. albicans</i> , <i>Candida spp</i> | <i>C. albicans</i> , <i>Candida spp</i> |
| 18 | <i>C. albicans</i> , <i>Candida spp</i> | <i>C. albicans</i> , <i>Candida spp</i> |
| 19 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 20 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 21 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 22 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |
| 23 | <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> | <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> |
| 24 | <i>C. albicans</i> , <i>Candida spp</i> | <i>C. albicans</i> , <i>Candida spp</i> |

As amostras que apresentaram colônias verdes em meio CHROMagar *Candida*tm, sugestivas de *C. albicans*, foram submetidas à prova do tubo germinativo e microcultivo em ágar-fubá-tween 80, e foram consideradas como sendo *Candida albicans*, devido à formação do tubo germinativo em soro, e presença de pseudo-hifas e clamidósporos em ágar-fubá-tween 80, conforme pode ser observado na Figura 3.

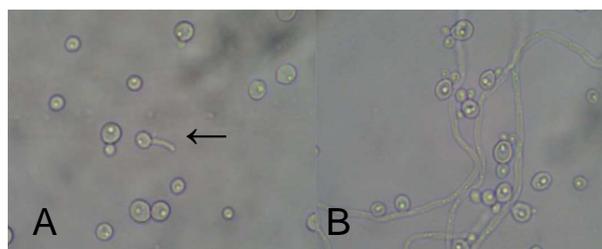


Figura 3: Formação do tubo germinativo (A); Formação do clamidósporo e pseudo-hifas em ágar-fubá (B). Aumento de 400x.

Discussão

A candidose é a mais comum das infecções fúngicas que afetam a boca. A alta prevalência da candidíase pode estar relacionada ao fato de que fungos da espécie *Candida sp* podem fazer parte da microbiota bucal de humanos, com 30 a 50% das pessoas apresentando estes microrganismos em sua boca, sem evidência clínica de infecção. A candidose pode desenvolver-se tanto em pessoas saudáveis, como se manifestar como infecção oportunista relacionada a fatores etiológicos predisponentes, locais e sistêmicos (REICHART, 2000; NEVILLE, 2004).

Fatores sistêmicos como diabetes melito, hipertensão arterial, artrose, osteoporose, anemia, leucemia, e uso de medicamentos como antibióticos, antiinflamatórios hormonais, tranqüilizantes, hipotensores e outros, podem aumentar a susceptibilidade para a instalação de candidose bucal (BUDTZ-JORGENSEN, 1981, 1990; GORLIN, 1973; LEITE, 2001; MORAES, 1994). Alguns fatores podem modular a adesão da *Candida albicans* à prótese; dentre eles a saliva. Além disso, a presença da prótese no meio bucal funciona como uma barreira física, bloqueando o fluxo de substâncias antifúngicas e anticorpos, o que propicia uma alteração da microbiota bucal e favorece a proliferação da *Candida albicans* (OLIVEIRA et al., 2000). Alguns autores garantem que o diagnóstico da candidose bucal é fundamentalmente clínico, uma vez que a presença de colônias de *Candida* no exame microbiológico não é conclusiva nos casos em que há ausência de sinais clínicos de infecção (LAZARDE et al., 2003), considerando que o fungo faz parte da microbiota bucal de pacientes

saudáveis (JORGE, 1997; PARDI, 2000). Em nosso trabalho, percebeu-se que *Candida spp* foi isolada da mucosa e da base da prótese em todos os pacientes do grupo controle, ou seja, sem sinais clínicos de estomatite. O diagnóstico clínico normalmente é confirmado pela resposta positiva ao tratamento antifúngico empregado (EPSTEIN et al., 1998). Contudo, outros autores afirmam que o diagnóstico de candidose deve ser feito com base nos sinais, sintomas e achados micológicos, ressaltando que nenhum exame pode ser conclusivo de modo isolado, embora lesões compatíveis clinicamente com candidose estejam associadas a culturas positivas de *Candida*, na grande maioria dos casos (LEMOS et al., 2003).

Em nosso estudo, pudemos observar a presença do gênero *Candida* em 100% das amostras de estomatite protética, o que sugere uma possível ligação entre as duas. Esta correlação positiva entre EP e a presença de leveduras do gênero *Candida* corrobora com os resultados encontrados por outros autores (FIGUEIRAL, 2007; OLIVEIRA, 2009). De forma concordante, foram relatadas a prevalência da espécie *albicans* e a colonização da mucosa palatal de indivíduos por mais de uma espécie de *Candida* simultaneamente, como encontrado neste trabalho (PEREIRA-CENCI et al., 2008).

Os pacientes que participaram da pesquisa serão tratados com antifúngicos (Nistatina 100.000UI, uso externo) e se houver a resolução clínica da estomatite, será confirmado o diagnóstico de candidose oral.

Conclusão

Através deste estudo, pode-se observar a presença de leveduras do gênero *Candida* em todos os pacientes diagnosticados clinicamente como estomatite por prótese, estabelecendo-se assim uma possível ligação entre *Candida spp* e estomatite protética. Como essa lesão é comumente assintomática torna-se de extrema importância a orientação do paciente sobre o porquê da existência dessa lesão, assim como a sua prevenção, pois, apesar de não causarem danos graves a pacientes saudáveis, estas leveduras podem acabar trazendo prejuízo para pacientes imunodeprimidos.

Agradecimentos

Ao Núcleo de Estudos Farmacêuticos e Biomédicos (NUFABI) da Faculdade de Ciências da Saúde da UNIVAP pelo apoio.

À Prefeitura Municipal de São José dos Campos pela autorização de coleta de material em pacientes participantes da Campanha da

vacinação contra gripe e Prevenção ao câncer de boca.

Referências

- BUDTZ-JORGENSEN, E. Etiology, pathology, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. **Acta Odontol Scand.** 1990; 48(1): 61-9.
- BUDTZ-JORGENSEN, E. Oral mucosal lesions associated with the wearing of removable dentures. **J Oral Pathol.** 1981; 10(2): 65-80.
- EPSTEIN, J.B.; POLSKY, B. Orofaryngeal candidiasis: a review of its clinical spectrum and current therapies. **Clin Ther.** 1998;20:40-57.
- FIGUEIRAL, M.H.; AZUL, A.; PINTO, E.; FONSECA, P.A; BRANCO, F.M.; SCULLY C. Denture-related stomatitis: identification of a etiological and predisposing factors – a large cohort. **J Oral Rehabil.** 2007;34:448-55.
- GORLIN, R.; GOLDMAN H. **Oral pathology.** Barcelona: Salvat, 1973.
- JORGE, A.O.C. et al. Presença de levedura do gênero cândidas na saliva de paciente de diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Revista Odontológica da USP.** São Paulo, v. 11, n. 4, p. 279-285, out-dez, 1997.
- LAZARDE, L.J.; ANES, O.A. Candidiasis multifocal bucal: reporte de um caso. **Acta Odontol Venez.** 2003;41:131-4.
- LEITE, R.A. Avaliação das condições sistêmicas e bucais de um grupo de idosos não institucionalizados de Franca: realidade e necessidade de reabilitação oral. Ribeirão Preto; 2001. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia da USP, 2001.
- LEMOS, M.M.C.; MIRANDA, J.L.; SOUZA, M.S.G.S. Estudo clínico, microbiológico e histopatológico da estomatite por dentadura. **RBPO.** 2003;2:3-10.
- MORAES, N.P. Estudo clínico e avaliação terapêutica com controle da dieta alimentar, higiene mecânica e desinfecção da prótese total superior na estomatite protética de humanos. Araçatuba; 1994. [Tese de Livre docente - Faculdade de Odontologia da Unesp].
- MOREIRA, et al. Isolamento de *Candida* parapsilosis em paciente com diagnóstico clínico de candidíase atrófica crônica. **R. Ci. Méd. Biol., Salvador,** v. 1, n. 1, p. 124-128, nov. 2002.

- MUZYKA, B.C. Oral fungal infections. **Dent Clin North Am.** 2005; 49:49-65.

- NEVILLE, B.W.; DAMM, D.D.; ALLEN, C.M.; BOUQUOT, J.E. **Patologia Oral e Maxilo-facial.** Trad., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

- ODDS, F.C.; BEMAERTS, R.; CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presuntive identification of clinically important *Candida* species. **J Clin Microbiol** 32: 1923-1929, 1995.

- OLIVEIRA, C.E. *Candida albicans* e estomatite por dentadura: avaliação da presença do fungo na lesão, na prótese total superior e no sangue. Bauru; 2009. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, 2009

- OLIVEIRA, T.R.E.; FRIGERIO, M.L.M.A.; YAMADA, M.C.M.; BIRMAN, E.G. Avaliação da estomatite protética em portadores de próteses totais. **Pesq Odontol Bras.** 2000; 14(3): 219-24.

- PARDI, G.; CARDOSO, E.I.; PERRONE, M.; SALAZAR, E. Detección de especies de *Candida* en pacientes con estomatitis sub-protésica. **Acta Odontol Venez.** 2000;39:32-44.

- PENHA, S. S. Freqüência e atividade enzimática da *Candida albicans* em pacientes desdentados totais com estomatite protética. 1996. P. 62. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

- PEREIRA-CENCI, T.; DEL BEL CURY, A.A.; CRIELAARD, W.; TEN CATE, J.M. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. **J Appl Oral Sci.** 2008;16:86-94.

- QUINDÓS, G.; ALONSO-VARGAS, R.; HELOU, S.; ARECHAVALA, A.; MAZUELOS, E.M.; NEGRONI, R. Evaluación de un nuevo medio de cultivo cromógeno (*Candida* ID) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico. **Rev Iberoam Micol** 18: 23-28, 2001.

- REGEZI JA, SCIUBBA JJ. **Patologia Bucal-Correlações Clinicopatológicas.** 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.0-25; 0-35; 76-80; 101.

- REICHART, P.A.; SAMARANAYAKE, L.P.; PHILIPSEN, H.P. Pathology and clinical correlates

in oral candidiasis and its variants: a review. **Oral Dis** 2000; .6:85-91.

- SHAFER, W.G. et al. **Tratado de patologia bucal: doenças de origem microbiana.** Rio de Janeiro: Guanabara, 1987. P. 363-367.

- SONIS ST, FAZIO RC, FANG L. **Princípios e Prática de Medicina Oral.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.440.

- SULLIVAN, D.; COLEMAN, D.; *Candida dubliniensis*: characteristic and identification. **J Clinical Microbiol** 36: 329-334, 1998.