

EPIDEMIOLOGIA DA COLONIZAÇÃO DE LEVEDURAS *CANDIDA* DA CAVIDADE BUCAL EM PACIENTES DIABÉTICOS

Gheniffer Fornari¹, Patricia Fernanda Herkert¹, Daiany Darlly Bello Redivo¹, Volmir Pitt Benedetti², Chirlei Glienke³.

RESUMO

As micoses podem ser causadas por fungos patogênicos ou fungos oportunistas. Entre os agentes oportunistas mais frequentes envolvidos em infecções da mucosa bucal, destacam-se as leveduras do gênero *Candida*. Este trabalho teve como objetivo realizar um estudo epidemiológico de leveduras do gênero *Candida* isolados da cavidade bucal de pacientes diabéticos, através da determinação das espécies mais frequentes e do número de unidades formadoras de colônias. Foram analisadas leveduras isoladas a partir de 50 amostras de saliva, sendo 25 do grupo controle e 25 de um grupo de diabéticos. Em seguida, as amostras foram semeadas em CHROMagar *Candida*® por 48 horas a 36°C e posteriormente fez-se a identificação das espécies e a quantificação das colônias. As análises mostraram que entre os diabéticos a espécie mais frequente foi a *C. albicans* (48,4%), seguida da *C. tropicalis* (22,6%). Entre os pacientes do grupo controle a mais frequente foi a *C. tropicalis* (68%). Em relação à quantificação, entre os pacientes diabéticos a média de unidade formadora de colônia foi de 1380 UFC/mL, porém entre o grupo controle este índice foi de 519,6 UFC/mL. A interpretação dos resultados sugere um maior número de unidade formadora de colônias no grupo dos diabéticos e que houve distinção no predomínio de espécies entre os grupos.

Palavras-chave: *Candida sp*; diabéticos; candidíase bucal.

EPIDEMIOLOGY OF ORAL CAVITY COLONIZATION BY YEAST *CANDIDA* IN DIABETIC PATIENTS

ABSTRACT

Fungal infections may be caused by pathogenic fungi or opportunistic fungi. Among the opportunistic agents involved in infection of oral mucosa are *Candida sp*. This research aimed to perform an epidemiological study of *Candida* species isolated from oral cavity of diabetic patients by determining the most frequent species and the number of colony-forming units. Yeasts were isolated from 50 samples of saliva, 25 of control group and 25 of a diabetic group. Samples were plated on CHROMagar *Candida*® and incubated for 48 hours at 36°C. Subsequently, species were identified and colonies were quantified. Results show that *C. albicans* was the most frequent specie among diabetics (48.4%), followed by *C. tropicalis* (22.6%). In patients of control group, *C. tropicalis* was the most frequent (68%). Regarding to quantification, in diabetic group the average of colony-forming unit was 1380 CFU/mL, while in control group this index was 519.6 CFU/mL. Thus, results show a greater number of colony-forming units in diabetic group, and no difference in predominance of species between the two groups.

Keywords: *Candida sp*; diabetics; oral candidiasis.

¹ Acadêmicas do Curso de Biomedicina da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus de Francisco Beltrão – PR.

² Farmacêutico, Professor Adjunto da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus de Francisco Beltrão – PR.

³ Professora do Programa de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Federal do Paraná- UFPR.

INTRODUÇÃO

As micoses podem ser manifestadas por fungos patogênicos ou fungos oportunistas. Os patogênicos invadem tecidos do homem imunocompetente e os oportunistas ocorrem pela imunodeficiência apresentada pelo paciente. Estes fungos são influenciados por fatores intrínsecos e extrínsecos, podendo provocar lesões, infecções sistêmicas ou até ficarem inertes no organismo (1).

A incidência é maior em imunocomprometidos, já que o tratamento utilizado facilita a colonização, como no caso de pacientes sob quimioterapia, transplantados, em casos de HIV pela depleção de CD4, *Diabetes mellitus*, uso de cateteres, cirurgias extensas, queimaduras, ventilação assistida, hemodiálise ou diálise peritoneal, quadros de desnutrição, uso prolongado de antibióticos e corticosteróides e extremos etários (2).

Um dos fungos oportunistas mais frequentes são as leveduras do gênero *Candida*, que podem se tornar patógenos em meio a alterações do organismo, como a depleção do sistema imunológico. Trata-se de um fundo de grande importância médica, pois desenvolve desde infecções superficiais e cutâneas (como a candidíase intertriginosa, a bucal e a vaginal) até infecções mais graves e fatais (como a candidemia sistêmica). Tais infecções podem ser transitórias, como no caso do uso de algumas drogas (antibióticos ou corticóides) ou permanecerem por um período prolongado, como no caso de pacientes em que o sistema imune se encontra comprometido (3, 4).

Estas leveduras apresentam uma estrutura oval ou alongada, com formação de hifas e pseudo-hifas. Suas colônias, em geral, possuem formato circular com textura cremosa, membranosa e úmida, tendo a superfície lisa ou rugosa com aspecto brilhante ou opaca (4,5). Seu poder patogênico pode ser atribuído pela capacidade de crescer a 37°C, de formação de estruturas filamentosas que representam um obstáculo à fagocitose e à produção de alguns metabólitos que são capazes de desencadear manifestações alérgicas, além da produção de enzimas como lipase e proteinase, variação fenotípica e a capacidade de aderência (mananoproteínas) (3).

Um grupo de pacientes que apresenta complicações com este tipo de fungo são os

diabéticos. O diabetes causa um distúrbio metabólico da glicose, podendo ser do tipo I, onde o quadro de deficiência de insulina é total, tendo origem autoimune. No diabetes tipo II, a deficiência de insulina é parcial (6).

O desenvolvimento da candidíase bucal pode estar relacionado a vários fatores como a xerostomia, que é a diminuição do fluxo salivar, doenças imunossupressoras e tratamentos quimioterápicos (7). Ainda o mau controle glicêmico associado à prótese dentária, pH salivar, fluxo salivar e os hábitos de fumo podem contribuir com as manifestações (8).

A candidíase bucal apresenta formas clínicas como pseudomembranosa conhecida como "sapinho", caracterizado por placas brancas na cavidade bucal, atingindo principalmente pacientes com quadros de imunodepressão. Outra forma clínica é a quelite angular, que se caracteriza como um processo inflamatório no ângulo do lábio, manifestando um edema discreto ou fissura (9).

A virulência deste microrganismo está relacionada com a sua capacidade de adesão e secreção de diversas enzimas, que hidrolisam as proteínas do hospedeiro e contribuem para o rompimento de barreiras de tecidos conjuntivos, provocando lesões celulares. Já a sua patogenicidade está relacionada à transformação de um morfotipo a outro, no caso, levedura a hifas. Estas mudanças fenotípicas contribuem para a virulência, pois permitem uma rápida adaptação a alterações em seu microambiente facilitando a sobrevivência, a invasão de tecidos e o escape do sistema imunológico (2).

Assim sendo, o estudo analisou a colonização de leveduras *Candida sp* isoladas da cavidade bucal de pacientes diabéticos, determinando as unidades formadoras de colônia e a frequência das espécies, frente ao grupo controle.

MATERIAL E MÉTODOS

As leveduras foram isoladas a partir de 50 amostras de saliva. Destas, 25 amostras pertenciam ao grupo controle, constituído de estudantes com idade entre 18 a 22 anos. As demais 25 amostras pertenciam a um grupo de diabéticos atendidos em uma unidade básica de saúde do Município de Francisco Beltrão – PR.

Os grupos foram orientados a, no período de uma hora antes da coleta, não ingerirem alimentos, bebidas, fumo ou goma de mascar. Todos foram recomendados a bochechar água potável por cinco segundos, por três vezes. Em seguida aconselhou-se a não deglutirem a saliva por um período de três minutos, de modo a estimular a salivação. Foram identificados e entregues tubos de ensaio a cada voluntário, orientando-os a depositar o conteúdo salivar no interior do tubo (10). As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense.

As amostras que apresentavam alto grau de viscosidade foram diluídas em soro fisiológico a 0,9%, na proporção de 1:2. Na sequência, pipetou-se 100 ml de saliva de cada amostra e inoculou-se em placas de Petri contendo CHROMagar *Candida*® com o auxílio de uma alça de platina, incubando-as em estufa a 36°C por 48h.

Após o período de incubação, identificou-se as amostras pela coloração expressa no meio de cultura e a quantificação das mesmas através da determinação das Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/mL). Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Humanos - CEPEH da Universidade Paranaense, sob protocolo 17557.

RESULTADOS

Os resultados obtidos neste estudo epidemiológico de leveduras do gênero *Candida* isolados da cavidade bucal de 50 pessoas, que foram divididas em 25 pacientes diabéticos e 25 não diabéticos, estão apresentados na Tabela 1 e Figura 1.

Tabela 1. Percentual de espécies de *Candida* nos grupos pesquisados.

ESPÉCIES	GRUPOS		TOTAL
	CONTROLE	DIABÉTICOS	
<i>C. albicans</i>	13,6% (3)	62,5% (15)	39,2% (18)
<i>C. tropicalis</i>	77,3% (17)	29,2% (7)	52,1% (24)
<i>Candida</i> sp	9,1% (2)	8,3% (2)	8,7% (4)

Nas 25 amostras analisadas do grupo controle, a frequência de isolamento das espécies foi de *Candida tropicalis* (77,3%), *C. albicans* (13,6%) e *Candida* sp (9,1%), já no grupo dos diabéticos a espécie mais frequente foi *C. albicans* (62,5%), seguida de *C. tropicalis* (29,2%) e *Candida* sp (8,3%). Porém não houve crescimento de leveduras do gênero *Candida* em 12% das amostras do grupo controle e em 22,6% nos diabéticos.

Os resultados encontrados neste trabalho assemelham-se aos encontrados por Menezes et al. (11), que estudou a frequência de espécies e o perfil enzimático em pacientes diabéticos, determinando que entre suas 15 amostras positivas para *Candida* 80% foram de *C. albicans*, 13,3% *C. tropicalis* e 6,7% *C. guilliermondi*. Já no trabalho realizado por Jorge et al. (12), que analisou tanto a saliva de

peças com fatores predisponentes quanto imunocompetentes o grupo controle apresentou um percentual de 73,75% de *C. albicans* divergindo dos resultados encontrados nesta pesquisa.

Segundo Walther e Wendland (13), um dos aspectos que justifica a maior frequência da espécie *Candida albicans* se deve à expressão de genes na fase específica, que contribuem para a colonização, como a produção de enzimas hidrolíticas, adesão e a formação de biofilme, fatores estes que contribuem para a sua patogenicidade, dificultando assim a capacidade do hospedeiro em combater a infecção devido ao comprometimento do sistema imunológico (14).

A média das unidades formadoras de colônias de leveduras entre os diferentes

grupos encontra-se demonstrado na Figura abaixo.

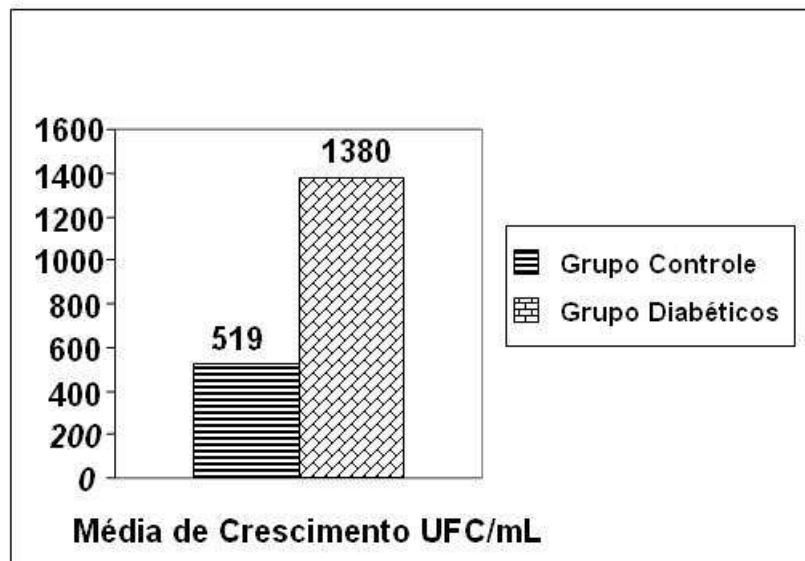


Figura 1. Média de Unidade Formadora de Colônia (UFC) entre as amostras isoladas.

Na determinação das unidades formadora de colônia por mL (UFC/mL) de saliva, o grupo controle apresentou uma média de 519 UFC/mL. Já no grupo de diabéticos encontrou-se uma média de 1380 UFC/mL. Através deste gráfico é possível observar que a diferença entre os grupos foi de 861 UFC/mL, ou seja, o crescimento do grupo de diabéticos foi de 165,58% a mais que o grupo controle.

Devido à frequência das afecções bucais em pacientes diabéticos é relevante que haja um conhecimento abrangente sobre as alterações da mucosa oral destes pacientes. Estudos com este tipo de enfoque auxiliam a suprir lacunas importantes para a melhor compreensão destas patologias. Ainda, segundo Gonçalves et al. (15), a falta de conhecimento sobre a microbiota dos diabéticos no Brasil dificulta a determinação da causa provável da infecção que é de extrema relevância para a elaboração de uma conduta adequada de tratamento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio deste trabalho foi possível concluir que houve uma diferença significativa no nível de colonização de leveduras na

cavidade bucal, sendo significativamente superior entre os pacientes diabéticos, demonstrando alguns dos aspectos que podem contribuir para a maior suscetibilidade ao desenvolvimento destas infecções oportunistas.

Em relação à frequência das espécies, pode-se verificar que neste estudo não houve uma predominância de *Candida albicans* em ambos os grupos estudados.

Volmir Pitt Benedetti.

Endereço para correspondência: Universidade Paranaense –
UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - Av. Júlio Assis
Cavalheiro, 2000 - Bairro Industrial - 85601-060 – Francisco
Beltrão – PR. Fone: (46) 3520-2800.
E-mail: volmir@unipar.br

Recebido em 25/05/2011

Revisado em 23/02/2012

Aceito em 15/08/2012

REFERÊNCIAS

- (1) MEZZARI, A. **Micologia no laboratório**. 2º ed. Porto Alegre: Sagra Luzzatto, 2001. p. 83.
- (2) MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 5º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p 760.
- (3) SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 265-274.
- (4) LACAZ, C. S. et al. **Tratado de Micologia Médica Lacaz**. 9º ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p 220-245.
- (5) ODDS, F. C. Ecology and epidemiology of *Candida* species. **Zbl. Bakt. Hyg A.**, Stuttgart, v. 257, n. 2, p. 207-212, 1984.
- (6) FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. M. L. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 414-430.
- (7) CAVASSANI, V. G. S. et al. Candidíase oral como marcador de prognóstico em pacientes portadores do HIV. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**. v. 68, n. 5, p. 630-634, 2002.
- (8) MANFREDI, M. et al. In vitro antifungal susceptibility to six antifungal agents of 229 *Candida* isolates from patients with diabetes mellitus. **Oral Microbiology Immunology**, v. 21, n. 3, p. 177-182, 2006.
- (9) PENNINI, S. N.; REBELLO, P. F. B.; RAMOS, M. S. Quelites. **Jornal Brasileiro de Medicina**. v. 78, n. 6, p. 104-108, 2000.
- (10) NAVAZESH, M.; KUMAR, S. K. S. Measuring salivary flow Challenges and opportunities. **Journal of American Dental Association**. v. 139, n. 5, p. 35S-40S, 2008.
- (11) MENEZES, E. A. et al. Frequência e atividade enzimática de *Candida spp.* na cavidade oral de pacientes diabéticos do serviço de endocrinologia de um hospital de Fortaleza-CE. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 4, p. 241-244, 2007.
- (12) JORGE, A. O. C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores

predisponentes e de indivíduos controle.
Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo, v. 11, n. 4, p. 279-285, 1997.

(13) WALTHER, A.; WENDLAND, J. Hyphal Growth and Virulence in *Candida albicans*. In: BRAKHAGE, A. A.; ZIPFEL, P. F. **The Mycota Human and Animal Relationships**. Berlin: Springer, 2008. p 95-114.

(14) NOUMI, E. Adhesive Properties and Hydrolytic Enzymes of Oral *Candida albicans* Strains. **Mycopathologia**. v. 169, n. 4, p. 269-278, 2010.

(15) GONÇALVES, R. H. P. et al. Species diversity of yeast in oral colonization of insulin-treated diabetes mellitus patients. **Mycopathologia**. v. 162, n. 2, p. 83-89, 2006.