

## ISOLAMENTO E SUSCEPTIBILIDADE *IN VITRO* DE *CANDIDA* E VARIÁVEIS ASSOCIADAS A CAC

ANDRESSA DA SILVA BARBOZA<sup>1</sup>; LEANDRO CALCAGNO REINHARDT<sup>2</sup>;  
PATRICIA DA SILVA NASCENTE<sup>3</sup>; JULIANA SILVA RIBEIRO<sup>4</sup>; ADRIANA  
ETGES<sup>5</sup>; RAFAEL GUERRA LUND<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – andressahb@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – leandrodentista@gmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – pattsn@gmail.com

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas – jujusilvaribeiro@gmail.com

<sup>5</sup> Universidade Federal de Pelotas – aetges@gmail.com

<sup>6</sup> Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A candidíase oral é uma condição crônica comum que afeta uma grande parte da população, em especial usuários de prótese. Candidíase atrófica crônica (CAC), também conhecida como estomatite por dentadura é a manifestação mais comum da infecção por *Candida* e afeta mais de 65% dos indivíduos de prótese parcial dos maxilares (GONÇALVES et al. 2013 e CHAMBO FILHO et al. 2014).

O diagnóstico de CAC é estabelecido por exame clínico, mas o uso de métodos microbiológicos como uma ferramenta de diagnóstico complementar, tal como o método de esfregaço oral é aconselhável (LUND et al. 2010). Os métodos disponíveis para a identificação de espécies de *Candida* incluem a reação em cadeia da polimerase (PCR), meio CHROMágar Cândida (com base na cor das colônias), além de novos métodos automatizados que permitem o teste simultâneo de susceptibilidade antifúngica (ALAM et al. 2014 e TELLAPRAGADA et al. 2014).

Deste modo, o estudo teve como objetivo avaliar a prevalência de *Candida spp.* isolada a partir de pacientes com candidíase atrófica crônica e algumas variáveis associadas à CAC, bem como para determinar a susceptibilidade destes isolados por um método automatizado bioquímico.

### 2. METODOLOGIA

Os participantes foram recrutados entre os pacientes adultos que procuraram atendimento odontológico no Centro de Diagnóstico de Doenças da Boca na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), a partir de abril de 2014 à março de 2015. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (protocolo nº. 033/2006) e conduzida de acordo com as disposições da Declaração de Helsinki. O consentimento informado por escrito foi obtido de todos os participantes individuais antes da sua inclusão no estudo.

Os participantes elegíveis foram todos os pacientes com idade  $\geq 18$  anos usuários de próteses totais ou parciais que tiveram diagnóstico clínico de CAC e foram capazes de compreender e preencher o questionário do estudo. O diagnóstico clínico de CAC baseou-se em achados intra-orais (difusa ou focal, eritematosa, lesões micropapular na mucosa do palato e/ou sobre o dorso da

língua) que foram clinicamente consistente com CAC. Os critérios de exclusão foram a presença de outras condições orais que impediram o diagnóstico micológico imediato e ausência de manifestações clínicas compatíveis com CAC. Todos os pacientes que concordaram em participar do estudo foram submetidos a um exame intraoral para manifestações clínicas da CAC e depois preencheram um questionário padronizado. Um único examinador, que tinha sido previamente treinado e calibrado por um patologista oral, realizou todos os exames.

O estado de CAC foi categorizado de acordo com a classificação de Newton (NEWTON 1962), que divide a condição em três tipos, com base na aparência clínica das lesões: tipo I - identifica hiperemia ou inflamação localizada, com pequenas áreas de inflamação normalmente encontrado em torno das glândulas salivares menores palatinas; tipo II - hiperemia difusa caracterizada por inflamação generalizada na área dentadura e superfície lisa da mucosa; e tipo III - hiperplasia/nodular inflamatória papilar. As seguintes variáveis foram consideradas na análise: aparência clínica das lesões (classificação de Newton); local de envolvimento (palato, língua, ou ambos); presença de doença sistêmica, tipo de prótese; tempo de uso de prótese ( $\leq 1$  ano, 2-5 anos, 6-10 anos, ou  $> 10$  anos); conformidade com as instruções de higiene dentadura; remoção das próteses à noite; a história de tratamento antifúngico; e tabagismo atual.

Usando cotonetes estéreis, as amostras foram recolhidas a partir da mucosa oral dos pacientes selecionados. As culturas foram cultivadas a 30°C por 48h em placas de Petri contendo meio CHROMagar Candida (Probac do Brasil, São Paulo, SP, Brasil). O material foi em seguida congelado para identificação. As espécies foram identificadas utilizando o sistema automatizado Vitek 2 compacto (BioMérieux, Brasil), e cartões Vitek 2 YST ID foram usadas para a identificação de fungos. A identificação dos microorganismos foi realizada utilizando ensaios bioquímicos. A análise estatística foi realizada usando STATA, versão 13.1. As variáveis foram testadas quanto à sua associação com os três tipos de Newton usando teste do qui-quadrado de Pearson. O nível de significância foi fixado em 5% ( $p \leq 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 44 pacientes com diagnóstico clínico de CAC foram elegíveis e concordaram em participar do estudo. As amostras foram colhidas a partir de todos os 44 pacientes, mas as leveduras foram isoladas em 38 casos. Os restantes 6 casos não exibiu crescimento após 48 h de incubação.

As características da amostra estão apresentados na Tabela 1. O palato foi o local mais comum de envolvimento, sendo responsável por 43 casos (97,7%). Em um caso (2,3%), a lesão estava localizada sobre o rebordo superior. No que diz respeito à presença de doenças sistêmicas, 15 pacientes (34,1%) relataram ter uma doença sistêmica (Tabela 1).

Tabela 1 - Características da amostra (n= 44 doentes).

Variável	N	%
Classificação de Newton		
I	8	18,2

Variável	N	%
II	33	75,0
III	3	6,8
Tipo de prótese		
Prótese total	28	63,6
PPR	6	13,6
Ambos	10	22,7
Tempo de uso da prótese (anos)		
≤ 1	1	2,3
2 a 5	9	20,5
6-10	20	45,5
> 10	14	31,8
Conformidade com as instruções de higiene da prótese		
Sim	43	97,7
Não	1	2,3
Remoção de próteses durante a noite		
Sim	27	61,4
Não	17	38,6
Terapia antifúngica antes		
Sim	20	45,5
Não	24	54,6
Tabagismo atual		
Sim	10	22,7
Não	34	77,3
Sítio de envolvimento		
Palato	43	97,7
Língua	0	0
Ambos	1	2,3
Doença Sistêmica		
Presente	15	34,1
Ausente	29	65,9

As doenças mais comuns foram a hipertensão arterial, diabetes, e depressão; todos os pacientes relataram controlar as doenças através de medicação. Seis *Candida spp.* isoladas (15,8%) foram associadas com lesões do tipo I, 29 (76,3%) com lesões do tipo II, e 3 (7,9%) com lesões do tipo III (Figura 2).

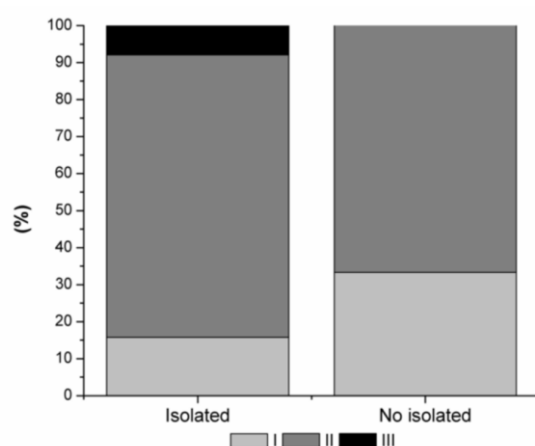


Fig. 2 - Associação entre o isolamento, classificação de Newton I, II, III e lesões.

A classificação mais comum de Newton CAC é do tipo II (CHAMBO FILHO et al, 2014; NEWTON 1962) consistente com a maior prevalência de lesões do tipo II observada no presente estudo. Esta distribuição ocorre mais porque provavelmente os pacientes com CAC muitas vezes usam próteses totais, o que implica uma maior área de superfície de contato entre a prótese e o palato. Assim,

a eficácia do tratamento depende de uma variedade de fatores, incluindo a cooperatividade do paciente, a dosagem adequada e a duração do tratamento adequado. Por isso, a estratégia de tratamento ótimo para CAC deve ser escolhida numa base de caso-a-caso (CHAMBO FILHO et al. 2014). Uma alternativa para uma melhor solução de casos de CAC é introduzir o uso de antifúngicos testados no sistema VITEK 2 como parte da manutenção de rotina em laboratórios, centros médicos, clínicas ou hospitais.

#### 4. CONCLUSÕES

Em conclusão, a forma mais prevalente de CAC na nossa amostra foi Newton tipo II, e as espécies mais comuns foi a *C. albicans*. portadores de prótese total foram o grupo mais comumente afetados e o palato foi o local predominante de envolvimento. Nenhuma das espécies identificadas foram resistentes aos antifúngicos. Estas descobertas sugerem que as indicações atuais para estes agentes antifúngicos são apropriadas e que o teste antifúngico susceptibilidade fúngica e identificação adequada pode ajudar dentistas determinar o curso ótimo de tratamento para CAC.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, M.Z.; ALAM, Q.; JIMAN-FATANI, A.; KAMAL, M.A.; ABUZENADAH, A.M., CHAUDHARY, A.G.; AKRAM, M.; HAQUE, A. Candida identification: a journey from conventional to molecular methods in medical mycology. **World J Microbiol Biotechnol**, v.30, p.1437-1451, 2014.

CHAMBO FILHO, A.; SOUZA FILHO, J.B.; PIGNATON, C.C.; ZON, I.; FERNANDES, A.S.; CARDOSO, L.Q. Chronic mucocutaneous candidiasis: a case with exuberant cutaneous horns in nipples. **An Bras Dermatol**, v.89, p.641-644, 2014.

GONÇALVES, L.S.; JÚNIOR, A.S.; FERREIRA, S.M.; SOUSA, C.O.; FONTES, T.V.; VETTORE, M.V.; TORRES, S.R. Factors associated with specific clinical forms of oral candidiasis in HIV-infected Brazilian adults. **Arch Oral Biol**, v.58, p.657-263, 2013.

LUND, R.G.; NASCENTE, P.S.; ETGES, A.; RIBEIRO, G.A.; ROSALEN, P.L.; DEL PINO, F.A. Occurrence, isolation and differentiation of *Candida* spp. and prevalence of variables associated to chronic atrophic candidiasis. **Mycoses**, v.53, p.232-238, 2010.

SANTOS, A.L.; CARVALHO, I.S.; PRATA, J.M.; MARTINS, M.B.; SOUZA, L.O.; GALDINO, A.C. *Candida albicans* involvement in denture-related stomatitis: a serious and real clinical concern. **J Infect Dis Diagn**, v.1, n.104, p.2, 2016.

TELLAPRAGADA, C.; ESHWARA, V.K.; JOHAR, R.; SHAW, T.; MALIK, N.; BHAT, P.V.; KAMATH, A.; MUKHOPADHYAY, C. Antifungal susceptibility patterns, in vitro production of virulence factors, and evaluation of diagnostic modalities for the speciation of pathogenic *Candida* from blood stream infections and vulvovaginal candidiasis. **J Pathog**, v.2014, p.142864, 2014.