



DETERMINAÇÃO DA PREVALÊNCIA E IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS DO GÊNERO *CANDIDA* EM PACIENTES USUÁRIOS DE PROTESE DENTÁRIA

Tamara Nascimento Ferreira¹, Aline Pereira¹; Ernesto Guilherme Kemmelmeier²; Mirian Ueda Yamaguchi³

RESUMO: A cavidade oral é colonizada por uma microbiota variada. Diversos micro-organismos, entre eles *Candida albicans*, merecem maior atenção, devido à prevalência, com forte representatividade em associações a prótese dentária. As leveduras do gênero *Candida* são frequentemente isoladas da mucosa oral de indivíduos saudáveis, porém em determinados indivíduos e em situações específicas podem assumir formas parasitárias produzindo doenças bucais conhecidas como candidose oral. Esta é considerada a infecção fúngica oportunista mais frequente nos humanos. Este trabalho teve como objetivo pesquisar leveduras presentes na cavidade oral de indivíduos que utilizam próteses dentárias. Para realização da pesquisa foram coletadas amostras de 40 pacientes que fazem uso de prótese dentária e que realizavam tratamento na clínica odontológica de uma instituição de ensino privada de Maringá. Foram utilizadas amostras coletadas a partir de swab oral. As amostras foram semeadas em Ágar Sabouraud + Clorofenicol. As colônias que se desenvolveram foram subcultivadas em CHROMagar® *Candida*. A identificação foi realizada através do micro cultivo para leveduras e do teste do tubo germinativo. Os resultados obtidos demonstram prevalência de *C. albicans* (94,12%), sendo de 47,05% *C. albicans* em cultura pura; 23,52% *C. albicans* e *C. glabrata*; 17,64% *C. albicans* e *C. tropicalis*; 5,88% *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. lusitanae* e 5,88% *C. glabrata*. Os resultados obtidos nesta pesquisa permitiram verificar a prevalência de *C. albicans* em próteses dentárias em relação às outras espécies de *Candida*. Dos pacientes que relataram ser tabagistas, 62,5% apresentaram colonização por *Candida spp.* na cavidade oral. O hábito de dormir com a prótese foi um dos fatores que mais contribuiu para esta colonização.

PALAVRAS CHAVES: *Candida spp.*, prótese dentária, candidose oral, colonização bucal.

1 INTRODUÇÃO

As leveduras do gênero *Candida* são habitantes inofensivos e comuns nas membranas da mucosa oral, de onde são frequentemente isoladas. Porém em determinados indivíduos e em situações específicas, podem assumir a forma parasitária, produzindo doenças bucais conhecidas como Candidose oral. As leveduras do gênero *Candida*, são agentes comensais que estão presentes na cavidade bucal de cerca de 30% a 35% da população adulta sem evidência de infecção (DALAZEN et al., 2011)

¹ Acadêmicas do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR, Maringá – Paraná. Bolsistas do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). tnascimento90@gmail.com, nina_cpereira@hotmail.com

² Co-orientador, Mestre, Docente do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR). ernesto_k@cesumar.br

³ Orientadora, Doutora, Docente do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR), Maringá – Paraná. mirianueda@gmail.com



Segundo Akpan e Morgan (2002), leveduras do gênero *Candida* são importantes agentes causadores de infecções na cavidade oral, sendo considerada a infecção fúngica oportunista mais frequente nos humanos. Pacientes imunodeprimidos, indivíduos que utilizam próteses dentárias, que fazem uso de corticóides e pacientes com diabetes são mais frequentemente acometidos. Os principais fatores relacionados com a infecção na cavidade bucal são prótese dentária mal-higienizada, tabagismo, hipossalivação, utilização de aparelhos ortodônticos e outras doenças imunossupressoras. Sendo que a utilização de artefatos protéticos, como próteses totais e aparelhos ortodônticos, favorecem significativamente a colonização e a consequente patogenicidade de leveduras na cavidade bucal (GASPARETTO et al., 2005; RODRIGUES et al., 2003). É importante lembrar que deficiências do sistema imune podem ser observadas em pessoas idosas com maior frequência (Silva et al., 2008).

A reabilitação oral através da utilização de prótese dentária visa restabelecer a funcionalidade e resgatar a auto-estima do paciente. Porém a utilização de aparelhos constituídos de resina acrílica é um sítio favorável à colonização por micro-organismos, devido a sua porosidade. Traumas causados por próteses mal colocadas, higienização inadequada, levam pesquisadores a associarem a presença de próteses a processos patológicos na cavidade oral, segundo Falcão et al. (2004). O uso noturno das próteses é um fator etiológico para estomatite protética, causada frequentemente por *Candida albicans*, como relatam Silva e Seixas (2008).

Falcão et al. (2004), relatam que entre os micro-organismos que colonizam a cavidade oral, a *Candida albicans*, merece maior atenção, devido à sua relativa prevalência, com forte representatividade em associações a próteses dentárias, principalmente próteses totais.

Segundo Akpan e Morgan (2002), as infecções causadas por fungos podem ser evitadas com boas práticas de higiene oral. Essas infecções podem se apresentar com sintomas e aparência macroscópica bastante variáveis (SCHECHTER e RACHID in WINGETER, 2007).

Segundo Stramandinoli et al. (2010), o conhecimento e o estudo aprofundado das diversas manifestações clínicas, identificação do agente causador da lesão e determinação da prevalência desse agente, são de fundamental importância para que o



cirurgião-dentista possa diagnosticar, tratar e orientar pacientes portadores de candidose bucal

O presente trabalho teve por objetivo identificar as leveduras na cavidade oral de indivíduos que utilizam próteses dentárias e determinar sua prevalência. Este tema ganha importância, pois o edentulismo precoce, ainda prevalece em nosso meio e isto leva parte da população à necessidade do uso de próteses totais ou parciais removíveis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado Comitê de Ética em Pesquisa do CESUMAR, sob protocolo 153/2011, parecer 153A/2011, CAAE 0152.0.299.00-11. Os pacientes avaliados assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Durante os meses de agosto e setembro de 2011, 40 pacientes que frequentavam a clínica odontológica de uma universidade privada de Maringá, de ambos os gêneros, portadores de prótese dentária total ou parcial removível, foram escolhidos por conveniência. Estes foram informados de forma verbal e escrita sobre os objetivos e a metodologia da pesquisa e, após aceitarem participar da pesquisa de forma voluntária, assinaram o Termo de Consentimento. Após preenchimento do questionário, foi realizada a coleta de *swab* oral. O critério de inclusão foi a utilização de prótese dentária, e o critério de exclusão foi a utilização de antibióticos.

As amostras coletadas foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose (ASD), acrescido de Cloranfenicol e incubadas em aerobiose a 37°C, por 24-48h.

As amostras que apresentaram crescimento de colônias de leveduras, foram subcultivadas em um meio diferencial de isolamento primário, o CHROMagar® *Candida* (Paris, França), que permite a identificação presuntiva rápida de *Candida spp.*, através de colônias que apresentam diferentes colorações. Este meio também permite detectar casos de associações de mais de uma espécie numa mesma amostra (ODDS; BERNAERDS, 1994).

Após seu isolamento no CHROMagar® *Candida*, as leveduras que produziram colônias sugestivas de *C. albicans*, foram submetidas ao teste do tubo germinativo, conforme descrito por Larone (2002). Todos os isolados, mesmo aqueles que formaram



tubos germinativos, foram submetidos a micro cultivo em Agar fubá/Tween 80®. Estas preparações, após incubação em temperatura ambiente, por três a cinco dias, foram examinadas ao microscópio e presuntivamente identificadas com auxílio de literatura especializada (LARONE, 2002; DE HOOG et al., 2000).

Os resultados obtidos das culturas de leveduras foram associados com os questionários aplicados aos voluntários. A análise dos dados foi feita através de estatística descritiva. E os resultados da pesquisa são expressos na forma qualitativa e quantitativa, determinando a prevalência e identificação de leveduras na cavidade oral.

3 RESULTADOS

Dos 40 pacientes analisados, 22 eram do gênero feminino e 18 do masculino, com média de idade 61 anos, sendo em sua maioria da cor parda (87,12%), seguido de negros 7,69%, brancos e amarelos representando 2,56% dos indivíduos. A média de anos de utilização de prótese dentária foi de 27,4 anos.

Dos 40 pacientes analisados, 17 tiveram amostras positivas, representando uma prevalência de 42,5% de pacientes com colonização de leveduras do gênero *Candida* na cavidade oral. Considerou-se o paciente “negativo” quando não se observou crescimento de leveduras no meio de crescimento primário, incubado a 37°C/48h.

Dos pacientes que apresentaram colonização por leveduras na cavidade oral, 11 (64,70%) eram do gênero feminino e 6 (35,29%) eram do gênero masculino.

Todos os pacientes relataram realizar higienização diária da prótese e da cavidade oral. Quanto ao uso da prótese para dormir, apenas 5 (12,5%) não a utilizam para dormir, e 35 (87,5%) dormem com a prótese, favorecendo a colonização por leveduras na cavidade oral. Nos pacientes que relataram não dormir com a prótese, não apresentaram leveduras na cavidade oral, todos os pacientes colonizados por leveduras, todos relataram dormir com prótese dentária, como mostra a tabela 1.



Tabela 1: Distribuição dos pacientes quanto ao hábito de dormir ou não com a prótese dentária.

Utilização da prótese para dormir	n=40	Amostras positivas
Sim	35	17 (48,57%)
Não	5	0

Hábitos como o tabagismo, que favorece a colonização por leveduras na cavidade oral foi observado em 8 pacientes (20%), dos quais 5 (62,5%) tiveram amostras positivas para leveduras do gênero *Candida*, como ilustra a tabela 2.

Tabela 2: Distribuição dos pacientes de acordo com presença de *Candida* e tabagismo.

Fumantes	n=40	Amostras Positivas
Sim	8 (20,0%)	5 (62,5%)
Não	32 (80,0%)	12 (37,5%)

Entre os pacientes analisados 87,5% utilizavam prótese total e 12,5% prótese parcial removível. Entre as amostras positivas para leveduras, houve uma predominância entre os pacientes que utilizam prótese total, como observado na tabela 3.

Tabela 3: Distribuição dos pacientes quanto ao uso de prótese e presença de *Candida* na cavidade oral.

	PT	PPR
PACIENTES (40)	35 (87,5%)	5 (12,5%)
AMOSTRAS POSITIVAS (17)	16 (94,11%)	1 (5,88%)

PT: prótese total; PPR: prótese parcial removível

Foram isoladas quatro espécies de leveduras das amostras cultivadas: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. lusitaniae*. Dos 17 pacientes colonizados 94,12% apresentaram *C. albicans*, e 47,05% (8/17) foi isolada apenas *C. albicans*; 23,52% (4/17) *C. albicans* e *C. glabrata*; 17,64% (3/17) *C. albicans* e *C. tropicalis*; 5,88% (1/17); *C.*



albicans, *C. glabrata* e *C. lusitaniae* e 5,88% (1/17) *C. glabrata*, como ilustrado no gráfico 1.

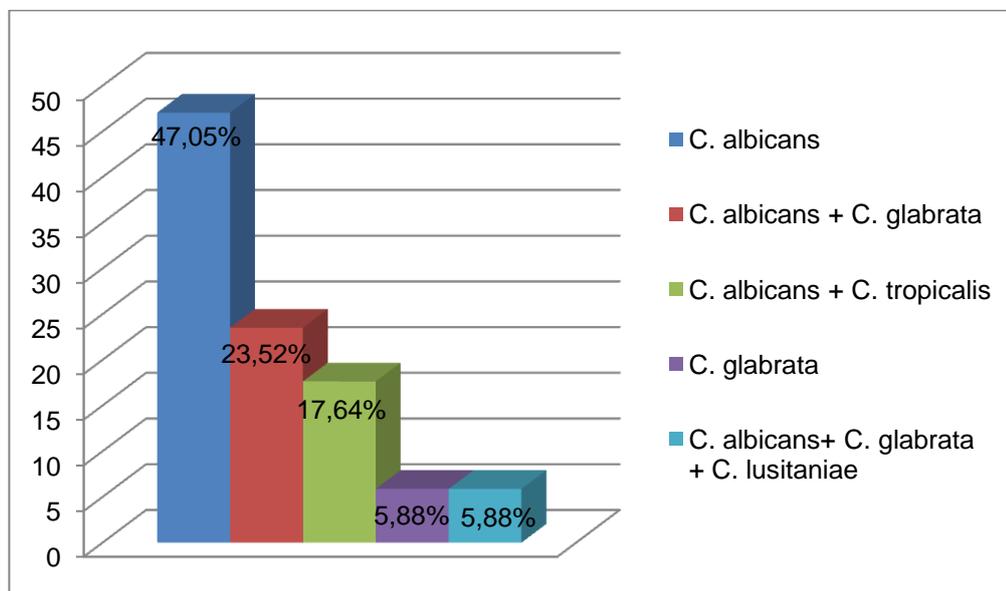


Gráfico 1: Análise de distribuição das espécies de leveduras do gênero *Candida* em pacientes com prótese dentária.

4 DISCUSSÃO

Múltiplos fatores acarretam o desenvolvimento de infecções fúngicas na cavidade bucal, sendo que a utilização de prótese dentária favorece a colonização por fungos, como relatam Gasparetto et al. (2005), além da colonização prévia da mucosa por microorganismos com potencial de virulência e a sua capacidade de aderência às células do hospedeiro.

A escolha da metodologia utilizada para identificação de leveduras na cavidade bucal deve ser direcionada pelo tipo de lesão a ser investigado, pois cada técnica apresenta vantagens e desvantagens (Costa e Candido, 2007). A técnica de *swab* oral foi utilizada, pois além de atender às necessidades da pesquisa, é uma técnica de fácil aceitação pelos pacientes, baixo custo, rápida e prática.

Os métodos utilizado, nesta pesquisa, para identificação de leveduras são clássicos, já bem estabelecidos na rotina da Micologia Médica (Teixeira e Mezzari, 2005;



Gasparetto et al., 2005), demonstrando baixo custo e boa eficiência na identificação das leveduras.

No presente trabalho foi encontrada uma prevalência de leveduras de gênero *Candida* de 42,5% em pacientes com prótese dentária resultado inferior encontrado em trabalhos realizados por Teixeira e Mezzari (2005), onde foi avaliada a prevalência de *Candida albicans* e não-*albicans* em 50 pacientes idosos portadores de prótese dentária, a prevalência de *Candida* foi de 84%.

A *C. albicans* é a espécie mais frequentemente isolada na cavidade bucal (Gusmão, 2007; Gasparetto et al., 2005; Teixeira e Mezzari, 2005). Os dados do presente trabalho confirmam a maior prevalência de *C. albicans* de 94,12%, em cultivo puro esta levedura foi observada em 47,05% das amostras, seguida por 23,52% *C. albicans* e *C. glabrata*; 17,64% *C. albicans* e *C. tropicalis*; 5,88% *C. glabrata* e 5,88% *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. lusitaniae*. Resultados que estão de acordo com outros trabalhos realizados. (Gasparetto et al., 2005; Gusmão, 2007).

Quanto aos índices de higienização oral, onde todos os pacientes analisados relataram realizar higienização diária da prótese e da cavidade oral, estão de acordo com o trabalho realizado por Gusmão (2007). Quanto à remoção noturna da prótese, apenas 5 (12,5%) não utilizam para dormir, e 35 (87,5%) dormem com a prótese, favorecendo a colonização por leveduras na cavidade oral, o que indica a necessidade de trabalhos educativos com intuito de orientar os pacientes quanto à remoção das próteses durante a noite. Os pacientes que relataram remover a prótese durante a noite, não apresentaram leveduras na cavidade oral, já os pacientes que tiveram colonização por leveduras na cavidade oral, todos relataram não remover a prótese durante a noite. Estes resultados são diferentes dos relatados por outro autor, onde pesquisa realizada com 39 pacientes, 7 pacientes (17,5%) responderam remover a prótese à noite; destes, seis (15%) eram positivos para *Candida*, e um (2,55), negativo. Dos 32 (82,5%) que afirmaram não remover a prótese à noite, 26 (65%) apresentaram leveduras do gênero *Candida* na saliva, e sete (17,5%) não.

O tabagismo também favorece a colonização por leveduras na cavidade oral, entre os pacientes analisados, 8 pacientes (20%) eram fumantes, entre os pacientes que fumam 5 (62,5%) tiveram amostras positivas para leveduras do gênero *Candida*. Como



em outros trabalhos realizados, não houve diferença estatisticamente significativa. (SILVA et al.,2008).

Gusmão (2007) observou que o envelhecimento da resina acrílica acarreta um processo de deterioração da prótese, que se caracteriza por aumento da porosidade, tornando a superfície mais rugosa, o que favorece a colonização por micro-organismos. A média de tempo de utilização da prótese foi de aproximadamente 28 anos, o que pode estar relacionado à prevalência de *Candida spp.* na cavidade oral.

A colonização por *Candida* pode ter origem na confecção inadequada dos aparelhos protéticos (que podem estar mal colocados ou pressionando a mucosa subjacente), higienização inadequada da prótese e da cavidade bucal ou ainda confundir-se com reações alérgicas à base da prótese. Deve-se salientar, ainda, que uma infecção fúngica pode ser ocasionada/facilitada por uma deficiência do sistema imune, fato este que pode ser observado em pessoas idosas (SILVA et al., 2008).

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa permitiram verificar a prevalência de *C. albicans* em próteses dentárias em relação às outras espécies de *Candida*.

É notória a relevância clínica da associação entre colonização por *Candida spp.* e o uso de Prótese Dentária, tanto parcial quanto a total. A prevalência de *Candida* na população estudada correspondeu aos achados de outros autores. *C. albicans*, como já esperado, foi a espécie prevalente, seguindo por *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. lusitaniae*, mesmo na ausência de lesões na cavidade oral.

O tempo de utilização da prótese e hábito de dormir com a mesma é um dos fatores que mais contribui para colonização por *Candida* na cavidade oral, fato que ficou claro nos resultados obtidos e que ressalta a necessidade de medidas educativas com pacientes que utilizam prótese dentária para reduzir a colonização, diminuindo assim a probabilidade de infecções fúngicas.



REFERÊNCIAS

Akpan, A.; Morgan, R.; Oral candidiasis. Postgrad Med J. 2002; v.78, p.455-9.

Alves, DLN. *Candida* spp. e Prótese Dentária Removível: Interações de Relevância Clínica – Revisão Bibliográfica. Porto: Universidade Fernando Pessoa; 2009.

Costa, KRC; Candido, RC. Diagnóstico Laboratorial da Candidíase Oral. Newslab. 2007 v. 83, p.138-145.

Dalazen, D; Zanrosso, D; Wanderley, L; Silva, NL; Alexandre Meneghello Fuentefria, AM. Comparação do perfil de suscetibilidade entre isolados clínicos de *Candida* spp. orais e vulvovaginais no Sul do Brasil. J Bras Patol Med Lab. 2011 Fev; v. 49, n. 1, p.33-38.

Falcão AFP; Santos, LB; Sampaio, NM. Candidíase associada a próteses dentárias. Sitientibus. 2004; Jan- Jun; n. 30, p.135 – 146.

Gasparetto, A; Negri,MFN; Paula, CR; Svidzinski, TIS. Produção de biofilme por leveduras isoladas de cavidade bucal de usuários de prótese dentária. Acta Scientiarum. Health Sciences. 2005; v. 27, n. 1, p.37-40.

Gusmão, JMR. Leveduras do gênero *candida* na saliva de usuários de prótese parcial removível a grampo [dissertação]. Taubaté (SP): Universidade de Taubaté; 2007.

Hoog. G. S. De. . Atlas of clinical fungi. 2. ed. Reus: Universitat Rovira I Virgili, 2000.

Larone, D H. Medically important fungi: a guide to identification. 4. ed. Washington: ASM Press, 2002.

Odds, FC; Bernaerts, R. CHROMagar *Candida*, a New Differential Isolation Medium for Presumptive Identification of Clinically Important *Candida* Species. Journal of Clinical Microbiology. 1994; 32 (8): 1923-1929.

Rodriguez, MC; Sotomayor,C; Costamagna, ME; Cabanillas,AM; Renteria,BS; Repiso, AMM; Correa, S. Immunocompetence of macrophages in rats exposed to *Candida albicans* infection and stress. Am. J. Physiol. Cell. 2003; v.284, p.111-118.

Silva, RJ; Seixas, Z. Materiais e métodos de higienização para próteses removíveis. Int J dent. 2008; 7(2): 125-132.

Silva, RJ; Seixas, Z. Materiais e métodos de higienização para próteses removíveis. Int J dent. 2008; 7(2): 125-132.



Stramandinoli RT, Souza PHC, Westphalen FH, Bisinelli JC, Ignácio SA, Yurgel LS. Prevalência de candidose bucal em pacientes hospitalizados e avaliação dos fatores de risco. Rev Sul-Bras Odontol. 2010 Mar; 7(1): 66-72.

Teixeira, M L; Mezzari, A. Prevalência de *Candida albicans* e *Candida não-albicans* em Próteses Dentárias. NewsLab. 2005; 70: 116-122.

Wingeter, MA; Guilhermetti, Shinobu, CS; Takaki, I; Terezinha Inez Estivalet Svidzinski, TIE. Identificação microbiológica e sensibilidade *in vitro* de *candida* isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2007 Mai- Jun; 40(3):272-276.