

PREVALÊNCIA DE ESPÉCIES DE *Candida* spp. ISOLADAS DA CAVIDADE ORAL E PRÓTESES DENTÁRIAS REMOVÍVEIS DE PACIENTES ATENDIDOS EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

Raquel Soares da Silva, Rosana Soares da Silva, Caroline Lucio Moreira, Juliana Gomes Marques, Maikiane Aparecida Nascimento, Amanda Cristina Gomes Baruta, Keren Mayara Tambalo Brasileiro, Fabiana Gouveia Straioto, Sueli Cristina Schadeck Zago, Marcus Vinicius Pimenta Rodrigues, Daniela Vanessa Moris

Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente, SP. e-mail: raquel.soares02@outlook.com

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de colonização e infecção por *Candida* spp. de mucosas e próteses de pacientes atendidos na clínica odontológica de uma universidade. Foram utilizados métodos morfológicos e bioquímicos para a identificação das espécies de *Candida* spp, tais como, CHROMagar *Candida*, o microcultivo em *Cornmeal Agar* e o auxonograma. A prevalência de colonização por *Candida* spp. em usuários de próteses foi de 70,6%. Foram isoladas 101 amostras de *Candida* de 68 pacientes, das quais 69,31% foram identificadas como *C. albicans* e 30,69% como *Candida* não-*albicans*. A avaliação da prevalência de colonização da cavidade oral foi realizada em função do método de higienização da prótese e apresentou menor prevalência em pacientes que utilizavam a associação da escovação e molho no hipoclorito. A prevalência de *C. albicans* foi maior que *Candida* não-*albicans*, e a higienização adequada da prótese reduziu a prevalência de colonização da cavidade oral.

Palavras chave: prótese removível, *Candida*, estomatite protética, *Candida albicans*, prevalência.

PREVALENCE OF *CANDIDA* SPP. ISOLATED FROM THE ORAL CAVITY AND REMOVABLE DENTAL PROSTHESIS OF PATIENTS ATTENDED AT A DENTAL CLINIC

ABSTRACT

This study aimed to determine the prevalence of colonization and infection by *Candida* spp. in mucosal and prosthetics of patients attended at an odontology clinic in university. Morphological and biochemical methods were used to identify *Candida* spp species, such as, CHROMagar *Candida*, *Cornmeal Agar* microculture, and auxonogram. The prevalence of colonization by *Candida* spp. in prosthetics users was 70.6%. *Candida's* samples were isolated from 68 patients, which 69.31% were identified as *C. albicans* and 30.69% as *Candida* non-*albicans*. The oral's cavity evaluation of colonization prevalence was made according to the method of prosthetics hygiene and showed less prevalence in patients that used brushing and soak in hypochlorite in association. The prevalence of *Candida albicans* was higher than *Candida* non-*albicans* in prosthetics's users and the proper hygiene of the prosthetics reduced the prevalence of colonization.

Keywords: removable prosthesis, *Candida*, denture stomatitis, *Candida albicans*, prevalence.

INTRODUÇÃO

Aproximadamente metade da população adulta saudável abriga as espécies de *Candida* spp. na cavidade bucal, sendo que condições predisponentes como deficiências imunes¹, uso de próteses totais², desordens

endócrinas, lesões de tecidos moles, medicamentos como antibióticos e corticosteroides^{3,4}, tabagismo⁵ e infecção pelo HIV^{4,6,7} podem facilitar a invasão tissular dessa levedura⁵.

A estomatite protética, presente em

aproximadamente 75% dos usuários de prótese total⁸, é uma manifestação crônica atrófica causada por diversos fatores como higiene oral inadequada ou ao trauma mecânico causado por condições inadequadas da prótese à estrutura dentária e pela infecção por *Candida* spp. (candidíase oral)⁹. O material utilizado na fabricação das próteses dentárias (resina e/ou materiais metálicos) são superfícies que favorecem a formação de biofilmes que é considerada uma adaptação de micro-organismos para sua melhor viabilidade e multiplicação no ambiente bucal, além de importante fator de virulência dessas leveduras¹⁰.

Candida albicans é a espécie isolada com maior frequência infectando diferentes sítios anatômicos. Apresenta como principais fatores de patogenicidade e virulência a capacidade de aderência a diferentes mucosas e epitélios; o dimorfismo, com produção de pseudo-hifas que auxiliam na invasão tissular; a termotolerância e a produção de exoenzimas, como proteinases e fosfolipases. Apesar de predominância de *C. albicans*, a presença de outras espécies não-*albicans* em isolados da superfície de próteses dentárias e mucosa oral é um importante fator para a saúde do indivíduo¹¹, principalmente na população idosa^{12,13}. Levando em consideração as informações já descritas, o presente trabalho teve como objetivo determinar a prevalência de colonização e/ou infecção por *Candida* spp., assim como definir a prevalência de diferentes espécies de *Candida* colonizadoras das próteses e mucosas de pacientes atendidos em uma clínica de odontologia de uma universidade.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo prospectivo de prevalência-período, no qual foram estudados 68 pacientes usuários de próteses dentárias removíveis, atendidos em uma clínica de odontologia de uma universidade. Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Oeste Paulista sob protocolo Plataforma Brasil: 20741113.7.0000.5515.

Os pacientes que concordaram em participar do estudo e entenderam os objetivos da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre esclarecido, responderam a um questionário e foram submetidos à coleta

do material da cavidade oral e da prótese removível. Utilizaram-se critérios de inclusão e exclusão, sendo que a inclusão envolvia pacientes maiores de 18 anos e que fizessem uso de próteses removíveis e os de exclusão foram: indivíduos com HIV, uso de antifúngicos no período da coleta e menores de 18 anos.

O material da cavidade oral e da prótese foram colhidos com *swabs* estéreis umedecidos em solução salina e semeados em CHROMagarTM *Candida*, a reação colorimétrica do meio CHROMagar permitiu a identificação presuntiva de *Candida albicans* e confirmação de colônias puras. A identificação foi feita por avaliação da micromorfologia em *Cornmeal agar* acrescido de 1,0% de *tween* 80 e Auxonograma, assimilação de carboidratos convencionais.

Os dados foram apresentados em tabelas de frequências absolutas (n) e percentuais (%). As associações entre variáveis foram analisadas por meio do teste do *qui-quadrado*, teste *G* e teste exato de *Fisher*. As análises foram realizadas no programa BioEstat 5.3 utilizando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Foram estudados 68 pacientes em reabilitação atendidos em clínica de odontologia, cujas idades variavam de 44 a 89 anos, com média igual a 64,87 anos. Destes, 26 pacientes eram do sexo masculino e 42 do sexo feminino, a razão de feminilidade 1, 62:1,00 dos quais foram coletadas amostras da mucosa oral e da prótese, portanto para cada um dos pacientes foram coletadas duas amostras, totalizando 136 amostras.

Dos 68 pacientes, 76,47% (n=52) apresentaram-se positivo para presença de leveduras, em mucosa oral e/ou prótese. Dentre estes, 92,31% (n=48) eram colonizados e/ou infectados por espécies de *Candida*, enquanto em 7,69% (n=4) das amostras positivas houve presença de leveduras dos gêneros *Rhodotorula* e *Trichosporon*. A análise da prevalência de *Candida* spp. em todos os pacientes usuários de próteses removíveis evidenciou que 70,6% desses pacientes apresentam colonização por *Candida* spp.

A análise da prevalência de colonização por *Candida* spp. em função do método de

higienização da prótese removível, apresentou menor prevalência em pacientes que utilizavam a associação da escovação e molho no hipoclorito. Os fatores socioeconômicos e fatores socioambientais como sexo, idade, cor, tabagismo, etilismo, diabetes, uso de antisséptico bucal, uso anterior de antifúngicos e antibióticos não revelaram associação com a

colonização e/ou infecção da cavidade oral de usuários de prótese removível.

A análise da prevalência de *C. albicans* e *C. não-albicans* foi realizada em amostras isoladas das próteses; mucosas e próteses e mucosas e revelou menor colonização em mucosa por *C. albicans* (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação da colonização das amostras isoladas de próteses, mucosas e próteses e mucosas de 68 pacientes usuários de próteses removíveis.

| Amostras | <i>C. albicans</i> | | <i>C. não-albicans</i> | | <i>C. albicans</i> + <i>C. não-albicans</i> | | Não <i>Candida</i> | | p |
|-------------------------|--------------------|---------|------------------------|------|--|-------|--------------------|------|--------|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | |
| Prótese | 11 | 68,75 a | 0 | 0 | 3 | 18,75 | 2 | 12,5 | |
| Mucosa | 1 | 25,0 b | 2 | 50,0 | 0 | 0 | 1 | 25,0 | 0,0043 |
| Prótese + Mucosa | 17 | 53,12 a | 0 | 0 | 14 | 43,75 | 1 | 3,13 | |

Teste G $p < 0,05$. Letras diferentes na coluna indicam diferenças significativas.

Entre os pacientes colonizados por *Candida* spp., 33 (68,75%) eram colonizados por apenas uma espécie, 11 (22,93%) por duas

espécies e quatro (8,32%) por três espécies. As associações de espécies ocorreram conforme mostrado na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição de prevalência dos isolados em relação às associações de uma ou mais espécies em prótese e mucosas.

| Espécie | Prevalência | |
|--|-------------|-------|
| | N | % |
| <i>C. albicans</i> | 29 | 60,42 |
| <i>C. parapsilosis</i> | 3 | 6,25 |
| <i>Candida</i> spp | 1 | 2,08 |
| <i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> | 7 | 14,58 |
| <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i> | 1 | 2,08 |
| <i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> | 1 | 2,08 |
| <i>C. albicans</i> + <i>Candida</i> spp | 1 | 2,08 |
| <i>C. tropicalis</i> + <i>Candida</i> spp | 1 | 2,08 |
| <i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> + <i>C. tropicalis</i> | 1 | 2,08 |
| <i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> + <i>C. parapsilosis</i> | 2 | 4,16 |
| <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i> + <i>Candida</i> spp | 1 | 2,08 |
| Total | 48 | 100 |

A prevalência de cada espécie de *Candida* foi analisada de acordo com as 101 colônias isoladas de próteses e mucosas, onde 69,31% (n=70) das colônias eram de *C. albicans*,

13,86% (n=14) de *C. glabrata*, 6,93% (n=7) de *C. parapsilosis*, 5,94% (n=6) de *C. tropicalis* e 3,97% (n=4) de *Candida* spp. (Figura 1).

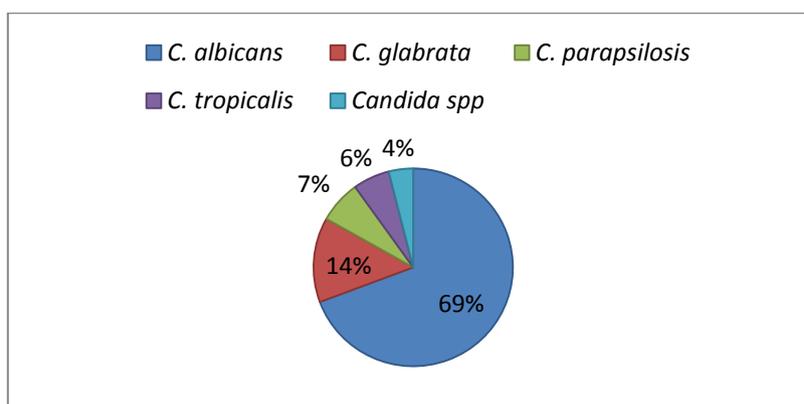


Figura 1. Distribuição de 106 isolados de próteses e mucosas obtidos de 68 pacientes usuários de próteses removíveis segundo espécie. Apresentação segundo prevalência, em porcentagem.

DISCUSSÃO

A *Candida spp.* é considerada uma levedura comensal da cavidade oral, a sua transformação em patógeno oportunista depende da combinação de fatores que estão relacionados ao hospedeiro, a sua atividade fúngica e alguns fatores que modificam a cavidade oral^{14,15,17}.

A estomatite protética que acomete cerca de 65,0% dos usuários de prótese total, é caracterizada por uma lesão observada sob a área chapavel da prótese^{17,18}, associada à alergia ao monômero residual, placa microbiana, trauma, uso contínuo da prótese, hipossalivação e principalmente pela infecção por *Candida spp.*¹⁷, especialmente em pacientes idosos, que tendem a ser edentados, e conseqüentemente, possuem a microbiota modificada decorrente da ausência dos dentes^{19,20}. A infecção por *Candida spp.* relaciona-se também à má adaptação, hipossalivação, desgaste pelo uso ou pela má higienização da prótese, circunstâncias essas que estão, na maioria das vezes, associadas aos indivíduos idosos^{19,20}. Os resultados obtidos no presente estudo indicam que o uso de próteses dentárias removíveis e a higienização deficiente das próteses entre pacientes idosos atendidos na clínica de odontologia predispõem a colonização e/ou infecção por *Candida spp.*, em concordância com os trabalhos revisados^{18,20,21}.

Neste trabalho, a idade dos pacientes variou de 44 a 89 anos, com mediana igual a 64,00, e média de 66,50, assim como os pacientes avaliados por Bianchi et al.²⁰, onde a idade média do paciente foi de 72,7 anos.

No presente estudo, pode-se observar a prevalência de fungos do gênero *Candida*, em concordância com Teixeira e Mezzari²². A *C. albicans* foi a espécie predominante na colonização tanto em amostras da cavidade oral (mucosas) quanto nas próteses, confirmando publicações prévias²⁰⁻²⁵. A frequência de *C. albicans* nos pacientes colonizados variou de 76,32 a 85,02% nos trabalhos publicados²⁰⁻²⁵ e foi igual a 69,0% no presente estudo. Essas frequências não diferem entre si. Deve-se registrar que o método utilizado para identificação de *C. albicans* não permitiu sua diferenciação da *C. dubliniensis* o que poderá alterar a frequência observada no presente estudo.

A prevalência de *Candida não-albicans* observada no presente estudo não diferiu das relatadas por outros autores²⁰⁻²⁵. As espécies mais frequentes isoladas foram *C. glabrata* seguida da *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *Candida spp*, além de outras leveduras de gênero não *Candida*. Estes resultados corroboram com estudos de Senna²¹. Por outro lado, Leite et al.²³ e Gaspareto et al.²⁴ referiram o isolamento de *C. tropicalis* como a segunda espécie mais frequente.

Sinais clínicos de candidíase foram observados em dez pacientes (15,62%); e de apenas um paciente (10,00%) não se obteve o isolamento de *Candida spp* nem da mucosa, nem da prótese, conforme também observado por Senna²¹, que relatou a não isolamento em 6,56% dos casos.

Muitos desinfetantes químicos são sugeridos para a higienização e desinfecção das próteses. O hipoclorito de sódio é de custo

acessível, tem um grande espectro de ação e requer um curto período de contato sendo que para além dos microrganismos do biofilme, têm capacidade de desinfecção dos microrganismos que ficam aderidos nos poros da superfície da prótese²⁵. No entanto, possui algumas desvantagens, destacando-se a atividade corrosiva da superfície dos metais, ação irritante das células e destruição de tecidos. Os desinfetantes que contêm glutaraldeído têm como vantagens o fato de não serem inativados no contato com substâncias orgânicas, não serem corrosivos, não degradarem materiais borrachóides, estando a sua eficácia associada com o período de exposição²⁵. No presente estudo observou-se menor prevalência de colonização em pacientes que fazem escovação associada ao molho no hipoclorito.

A associação de higienização inadequada de prótese e estomatite foi mostrada por Kim et al.²⁶, que constataram significativa melhora clínica após a substituição das próteses. Entre 39 indivíduos usando próteses totais e com estomatite protética, mais de 80% não realizavam higienização eficiente das próteses, e 100% apresentaram colonização de suas próteses por *C. albicans*. A estomatite protética foi eliminada em quase dois terços dos indivíduos após a troca das próteses e execução de práticas corretas de higiene²⁶.

A medida preventiva mais importante, talvez seja ao controle do ambiente oral, particularmente no que se refere às ações que tendem a diminuir a necessidade de próteses totais²⁰. A higienização diária e desinfecção das próteses dentárias removíveis é necessária para promover a saúde e conservação dos tecidos orais. O presente estudo também demonstrou maior colonização das próteses do que das mucosas orais, o que pode indicar que a manutenção da saúde da mucosa está relacionada com o grau de limpeza das próteses em contato com tecidos orais²⁰.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitem concluir que a prevalência de *Candida* spp foi de 70,6% entre os pacientes usuários de próteses removíveis; que a *C. albicans* apresenta maior prevalência em próteses e menor prevalência em mucosas

orais; e que as espécies mais prevalentes que colonizaram as próteses e mucosas, em ordem decrescente, foram: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, e *Candida* spp.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver qualquer potencial conflito de interesse que possa interferir na imparcialidade deste trabalho científico.

REFERÊNCIAS

1. Moreira D, Spolidório DM, Rodrigues JA, Boriollo MF, Pereira CV et al. *Candida* spp. biotypes in the oral cavity of school children from different socioeconomic categories in Piracicaba-SP, Brazil. *Pesqui Odontol Bras*. 2001;15(3):187-95. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-74912001000300003>
2. Willis AM, Coulter WA, Fulton CR, Hayes JR, Bell PM et al. Oral candidal carriage and infection in insulin-treated diabetic patients. *Diabet Med*. 1999;16(8):675-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1464-5491.1999.00134.x>
3. Mesquita RA, Aguiar MCF, Tarquino SBC. Candidiase oral com a infecção HIV. *Rev Gramg*. 1998;4:27-31.
4. Laskaris G, Hadjivassiliou M, Stratigos J. Oral signs and symptoms in 160 HIV – infected patients. *J Oral Pathol Med*. 1992;21:120-3. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.1992.tb00994.x>
5. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol*. 1980;(25):1-10. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9969\(80\)90147-8](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9969(80)90147-8)
6. Souza LB, Pinto LP, Medeiros AMC, Araújo Jr RF, Mesquita OJX. Manifestações orais em pacientes com AIDS em uma população brasileira. *Pesq Odont Bras*. 2000;4:79-85. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-74912000000100014>
7. Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. *Clin Infect Dis*. 1995;20:115-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/20.1.115>
8. Kirkpatrick WR, Lopez-Ribot JL, McAtee RK, Patterson TF. Growth competition between *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* under broth and

biofilm growing conditions. J Clin Microbiol. 2000;38(2):902-4.

9. El-Azizi MA, Starks SE, Khardori N. Interactions of *Candida albicans* with other *Candida* spp. and bacteria in the biofilms. J Appl Microbiol. 2004;96:1067-73. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02213.x>

10. Branting C, Sund ML, Linder LE. The influence of *Streptococcus mutans* on adhesion of *Candida albicans* to acrylic surfaces in vitro. Arch Oral Biol. 1989;34:347-53. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9969\(89\)90108-8](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9969(89)90108-8)

11. Li L, Redding S, Dongari-Bagtzoglou A. *Candida glabrata*: an emerging oral opportunistic pathogen. J Dent Res. 2007;86:204-15. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/154405910708600304>

12. Penha SS, Birman EG, Silveira FRX, Paula CR. Frequency and enzymatic activity (proteinase and phospholipase) of *Candida albicans* from edentulous patients, with and without denture stomatitis. Pesqui Odontol Bras. 2000;14:119-22, <https://doi.org/10.1590/S1517-74912000000200005>

13. Theilade E, Budtz-Jorgensen E. Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with denture-induced stomatitis. Oral Microbiol Immunol. 1988;3:8-13. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-302X.1988.tb00597.x>

14. Kokjonh K., Bradley, M., Griffitha, B., Ghannoum, M. Evaluation of in vitro activity of ciclopirox olamina, butenafine HCL and econazole against dermatophytes and bacteria. International Journal of Dermatology, 2003. 42, p.11-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-4362.42.s1.4.x>

15. Lacaz, CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de Micologia médica. 9.ed. São Paulo: Sarvier; 2002.

16. Urizar, JMA. Candidiasis orales. Rev Iber Micol. 2002;19:17-21.

17. Lemos MMC, Miranda JL.; Souza MSGS. Estudo clínico, microbiológico e histopatológico da estomatite por dentadura. Rev Bras Patol Oral. 2003;2(1):3-10.

18. Pereira-Cenci T, Fernandes FS, Skupien JA, Mesko ME, Straioto FG, Del Bel Cury AA. Can new dentures decrease *Candida* Levels? Int J Prosthodont. 2013;26(5):470-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.11607/ijp.3047>

19. Valentini F, Luz MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Biofilm formation on denture liners in a randomized controlled in situ trial. J Dentist. 2013;41(5):420-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2013.02.012>

20. Bianchi CMPC, Bianchi EA, Tadano T, Paula CR, Santos HDH, Leite Jr DP, Hahn RC. Factors related to oral candidiasis in elderly users and non-users of removable dental prostheses. Rev Inst Med Trop. 2016;58(17):1-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-9946201658017>.

21. Senna AM. Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana no Tratamento da Estomatite Protética. [Tese]. Universidade de São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Programa de Pós-graduação em Tecnologia Nuclear - Materiais, 2012.

22. Teixeira ML, Mezzari A. Prevalência de *Candida albicans* e *Candida* não-*albicans* em próteses dentárias. NewsLab. 2005;70:116-22.

23. Leite DP, Piva MR, Martins-Filho PRS. Identificação das espécies de *Candida* em portadores de estomatite protética e avaliação da susceptibilidade ao miconazol e à terapia fotodinâmica. Rev Odontol UNESP. 2015;44(1):12-7. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.1027>

24. Gasparetto A, Negri MFN, Paula CR, Svidzinski TIE. Produção de biofilmes por leveduras isoladas da cavidade bucal de usuários de prótese dentária. Acta Sci Health Sci. 2005;27(1):37-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actascihealthsci.v27i1.1437>

25. Gusmão JMR. Leveduras do gênero *Candida* na saliva de usuários de prótese parcial removível a grampo. [Dissertação]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Pós-graduação em Odontologia, 2007.

26. Kim E, Driscoll CF, Minah GE. The Effect of a denture adhesive on the colonization of *Candida* Species in vivo. J Prosthodont 2003;12:187-91. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1059-941X\(03\)00050-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1059-941X(03)00050-0)

Recebido para publicação em 16/08/2017

Revisado em 15/09/2017

Aceito em 17/09/2017