

# Presença de *Candida* sp em sítios doentes e saudáveis em pacientes com Periodontite Crônica

Recebido em: mar/2014

Aprovado em: mai/2014

*Presence of *Candida* sp in diseased and healthy sites in patients with Chronic Periodontitis*

**Vivian Siqueira Barbosa** – Graduada  
8º Período em Odontologia na  
Universidade Veiga de Almeida (UVA)/  
RJ – Brasil

**Valentina Pereira Gomes** – Cirurgiã-  
Dentista – Mestre em Periodontia pela  
UVA/RJ – Brasil

**Carla Renata Petillo** – Mestranda em  
Periodontia pela UVA/RJ – Professora do  
curso de graduação em Odontologia da  
UVA/RJ – Brasil

**Antônio Canabarro** – Doutor em  
Periodontia pela Universidade do Estado  
do Rio de Janeiro (UERJ) – Professor do  
programa de Mestrado em Periodontia  
na UVA/RJ – Brasil

Suporte Financeiro: Bolsa de Iniciação  
Científica da FAPERJ  
CEP/FIOCRUZ nº 0020.0.325.009-08

Autor de correspondência:  
Vivian Siqueira Barbosa  
Av. Maracanã, 894 - apto 603  
Tijuca - Rio de Janeiro/RJ  
20511-001  
Brasil  
vsbodonto@gmail.com

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a presença de *Candida* sp em sítios de pacientes com Periodontite Crônica (PC) e controle, buscando correlacionar a presença deste microrganismo com a presença da doença em 13 pacientes com PC, escolhidos aleatoriamente, 7 sítios foram avaliados: 3 com PC, 3 sem PC e o dorso da língua. Também foram selecionados 7 pacientes sem doença (grupo controle). Quatro sítios foram avaliados: 3 sítios saudáveis e o dorso da língua. Nestes sítios, foram inseridos cones de papéis estéreis por 30 segundos. Na língua, o cone era passado em seu dorso 5 vezes. O exame micológico foi realizado no laboratório de micologia do Ipec/Fiocruz. Dos 20 pacientes, 8 apresentaram fungos, sendo 6 do grupo com pc e 2 no grupo controle. Na avaliação por sítios, verificou-se que apenas 10,71% dos sítios do grupo controle e 10,99% do grupo com PC apresentaram *Candida*. Estas diferenças não foram significativas ( $p > 0,05$ ). Os sítios mais afetados no grupo controle e com pc foram respectivamente a língua (66,67%) e sítios profundos (50%). Conclui-se que, embora a *Candida* esteja presente na cavidade bucal de pacientes com PC e saudáveis, é encontrada em proporções distintas nos diferentes sítios avaliados.

**Descritores:** contagem de colônia microbiana; periodontite crônica; *candida albicans*; fungos

## ABSTRACT

The aim of this study was to verify the presence of *Candida* sp in sites of patients with chronic periodontitis (CP) and control, to correlate the presence of this microorganism with the presence of the disease. 7 sites were evaluated in 13 CP patients: 3 sites with PC, 3 sites without PC and dorsum of the tongue. 7 patients without disease (control group) were also selected; four sites were evaluated: 3 healthy sites and the dorsum of the tongue. In all sites, sterile paper points were inserted for 30 seconds. In tongue, the point was passed 5 times. Mycological examination was performed in the laboratory of mycology of IPEC / Fiocruz. Of the 20 patients, 8 had fungi; 6 of CP group and 2 of control group. In the evaluated sites, it was found that only 10.71 % and 10.99% of control and CP groups showed *Candida*, respectively. These differences were not significant ( $p > 0.05$ ). The most affected sites in the control and CP groups were tongue (66.67 %) and deep sites (50 %), respectively. In conclusion, although the *Candida* is present in the oral cavity of healthy and PC patients, it is found in different proportions according to the evaluated sites.

**Descriptors:** chronic periodontitis; *candida albicans*; yeasts colony count, microbial

## RELEVÂNCIA CLÍNICA

Correlacionar a presença de *cândida* com a gravidade da doença periodontal aumentando o conhecimento sobre a possível participação dos fungos na doença periodontal.

## INTRODUÇÃO

Infecções causadas por leveduras do gênero *Candida* afetam frequentemente o ser humano. As leveduras estão amplamente distribuídas na natureza podendo ser encontradas em diversos locais como solo, água, vegetais e ambientes hospitalares. Sua incidência tem aumentado com o crescente uso de antibióticos, agentes imunossupressores e com a epidemia da AIDS.<sup>1</sup> Leveduras de *Candida* são patógenos oportunistas que causam doença em hospedeiros que estão comprometidos local ou possui patologia sistêmica.<sup>2</sup> A *Candida* é um aeróbico comensal, o qual pode ser cultivada na cavidade oral por quase todos os adultos.<sup>3</sup> Essas leveduras têm sido recuperadas de bolsas periodontais em grande número (7.1 – 19,6%) de pacientes com Periodontite Crônica (PC).<sup>4</sup> A capacidade do ambiente subgingival de abrigar uma comunidade microbiana tão variada e complexa torna um grande desafio o estabelecimento dos verdadeiros agentes causais das doenças periodontais.<sup>5</sup>

A gengivite e a periodontite são doenças que afetam os tecidos gengivais e de suporte dentários, respectivamente. Enquanto a gengivite caracteriza-se por uma inflamação marginal reversível, a periodontite provoca uma destruição irreversível nos tecidos de inserção (ligamento periodontal, cemento radicular e osso alveolar), resultando na formação de bolsas periodontais e, eventualmente, na perda dentária.<sup>6</sup> Na periodontite, os microrganismos, organizados em um biofilme subgingival aderido a superfície dentária, liberam um grande número de mediadores inflamatórios nos tecidos periodontais adjacentes, promovendo uma inflamação que, em muitos casos resulta na destruição destes tecidos.<sup>7</sup> As bolsas periodontais podem abrigar mais de 500 espécies bacterianas que são, na sua grande maioria, espécies residentes. Uma parte, porém, é composta de patógenos oportunistas<sup>8</sup> que podem, em certas circunstâncias, provocar uma infecção mesmo geralmente se apresentando presentes em baixo número no ambiente subgingival.<sup>9</sup> Apesar das bactérias gram-negativas terem supostamente um papel fundamental na patogênese das doenças periodontais, parece não existir um agente etiológico único nas doenças periodontais inflamatórias. Acredita-se que a periodontite resulta da interação de uma microbiota complexa, do ambiente subgingival e do hospedeiro.<sup>10</sup> Bactérias gram-positivas, organismos anaeróbios e facultativos além de vírus e fungos, também têm sido associados à periodontite.<sup>11</sup>

O objetivo do presente trabalho foi verificar a frequência de *Candida* em diferentes sítios da cavidade bucal de pacientes com PC e indivíduos saudáveis, avaliando possíveis nichos preferenciais destes microrganismos de acordo com a presença ou não da doença.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Pacientes:** O desenho da pesquisa foi um estudo de caso-controle. Foram selecionados das clínicas de Odontologia da Universidade Veiga de Almeida (UVA) 7 pacientes sem doença periodontal para o grupo controle (G-C) e 13 com indicação para tratamento periodontal. Todos os dentes foram examinados com periograma. O exame clínico periodontal foi feito usando-se uma sonda periodontal padrão por um examinador calibrado. Todos os participantes foram recrutados à medida que che-

gavam à clínica para tratamento e preenchiam os critérios de inclusão do estudo. Após responderem à anamnese, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética na pesquisa em humanos da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil, sob o número 0020.0.325.009-08. Os pacientes foram incluídos no estudo em conformidade com o acordo de Helsinki. O grupo com doença periodontal foi selecionado a partir da classificação de PC moderada e grave. A PC moderada é classificada quando há existência de perda de inserção clínica proximal  $>2$  e  $\leq 5$  mm em dois dentes não adjacentes, enquanto a PC grave é classificada quando há existência de perda de inserção clínica proximal  $> 5$  mm em dois dentes não adjacentes, sangramento e profundidade de bolsa à sondagem também deveriam estar presentes (TONETTI et al. 2005). Os participantes com perda de inserção clínica proximal menor que 2 mm foram inseridos no grupo controle. Os critérios de exclusão para o grupo com doença periodontal foram: tratamento periodontal há pelo menos um ano, periodontite agressiva, gravidez, lactação, uso de próteses, condições médicas que pudessem afetar a existência de fungos e os tecidos periodontais (p.ex., HIV, terapia com antibiótico ou anti-inflamatório não esteroide, há pelo menos seis meses).

**Coleta da amostra:** Foi realizado isolamento relativo com roletes de algodão, os dentes foram secos, e colhidas amostras de biofilme subgingival usando 1 cone de papel estéril tamanho 45 (DENTISPLY, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil) de 3 sítios (com bolsa periodontal) aleatórios, 3 sítios saudáveis de cada paciente e esfregou com o cone por 5 vezes no dorso da língua, o cone permaneceu no local por 30 segundos. O mesmo procedimento foi usado no grupo controle, porém, foram selecionados apenas 3 sítios saudáveis e dorso da língua. Os cones, com material coletado, eram retirados um a um e cortados diretamente nos meios de cultura Sabouraud com cloranfenicol, Mycosel e CHROMagar *Candida* (DIFCO, Detroit, Michigan, EUA) e submetidos à técnica de rolamento com alça Drigalski, em torno da placa. As amostras de material foram armazenadas em caixa de isopor e encaminhadas até 24 horas para o exame micológico no Laboratório de Micologia do Instituto de Pesquisa Evandro Chagas, (IPEC/FIOCRUZ/ Rio de Janeiro).

### Cultura dos fungos

As amostras foram cultivadas como parte dos procedimentos diagnósticos de rotina do laboratório de micologia do IPEC/FIOCRUZ. Cada amostra foi cultivada aerobicamente no Mycosel Agar (DIFCO), Sabouraud Agar (DIFCO) e CHROMagar *Candida* (CHROMagar, Paris, França), incubada a 37° C por 48 horas e mais cinco dias à temperatura ambiente. Quando as colônias estavam presentes, eram transferidas para o Agar para obtenção de culturas puras e posterior identificação através de reações bioquímicas (API 20C Aux system, bioMérieux Vitek, inc., Hazelwood, Mo., EUA). As culturas que não apresentaram qualquer crescimento foram consideradas negativas.

### Análise estatística

A avaliação estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS 17.0. Inicialmente, foi verificada a normalidade de distribuição dos dados com o teste de Kolmogorov-Smirnov. Poste-

riormente, foram aplicados os testes paramétricos “t de Student”, para amostras independentes, pra avaliar as diferenças entre as médias dos dois grupos, e os testes Qui-Quadrado e Exato de Fischer, usados para verificar se a frequência absoluta observada para a presença de Candida era significativamente diferente da distribuição da frequência absoluta esperada. Foi estabelecido como nível de significância o valor de 5%.

RESULTADOS

Foram avaliados 20 pacientes, sendo 13 com PC e 7 controle. No grupo controle eram 6 (85,71%) mulheres e 1 (14,29%) homem, e no grupo com PC, 9 (69,23%) mulheres e 4 (30,77%) homens. A média de idade no grupo controle foi de 37,00 (±10,30) e no grupo com PC foi de 51,50 (±14,24). Esta diferença entre as idades não foi significativa (Teste t, p= 0,127). Na avaliação geral, 8 (40%) pacientes apresentaram positividade para Candida em pelo menos 1 sítio, enquanto 12 (60%) pacientes não apresentaram este microrganismo (Tabela 1 e Gráfico 1). Entre os pacientes com PC, 6 (46,15%) apresentaram Candida, enquanto apenas 2 (28,57%) pacientes do grupo controle apresentaram esta espécie de fungo (Tabela 1). Esta diferença não foi significativa.

Na avaliação por sítios, verificou-se que apenas 3 (10,71%) do grupo controle e 10 (10,99%) do grupo com PC apresentaram Candida (Tabela 2 e gráfico 2). Esta diferença não foi significativa.

Dos 3 sítios com positividade no grupo controle, 2 foram a língua (66,67%). Já no grupo com PC, dos 10 sítios positivos, a língua aparece apenas 2 vezes (20%), enquanto os sítios controle aparecem 3 vezes (30%), e os sítios profundos aparecem com maior frequência (5 vezes, 50%).

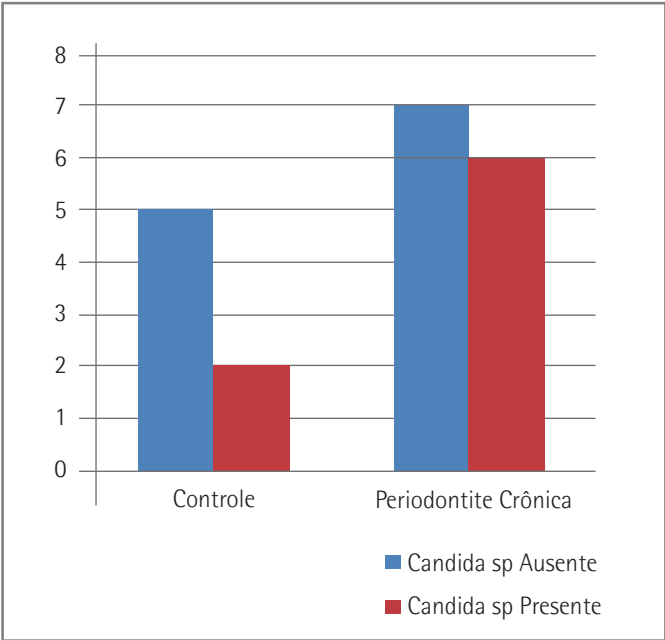


GRÁFICO 1  
Presença de Candida sp em pacientes controle em Periodontite Crônica

DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho mostraram que 40% dos pacientes avaliados apresentaram Candida em pelo menos um sítio avaliado. Este percentual pode ser considerado baixo, se levarmos em consideração a ideia estabelecida pela comunidade científica de considerar o fungo como um microrganismo onipresente na cavidade bucal. Vale destacar que no presente estudo foram avaliados 7 sítios por paciente com PC e 4 sítios dos indivíduos controle, o que aumenta a chance dos fungos serem encontrados.

Na comparação entre os pacientes, 28,57% no grupo controle e 46,15% no grupo com PC apresentaram positividade para Candida. Esta diferença, embora grande, não foi significativa, talvez pelo baixo número de pacientes avaliados. Em trabalho anterior, mostrou-se que existe diferença entre pacientes com PC grave e controle.<sup>13</sup> Mais pacientes deverão ser avaliados em estudo em preparação, buscando um maior poder estatístico.

Na avaliação dos sítios positivos para Candida, a língua aparece com maior frequência no grupo controle (66,67%), enquanto no grupo com PC a língua apareceu apenas 2 vezes (20%). Assim, 80% dos fungos foram encontrados nos sítios gengivais, especialmente os mais profundos (acima de 5 mm, 50%). Estes resultados parecem indicar que os sítios subgengivais de pacientes com PC são nichos preferenciais da Candida; e são particularmente interessantes, pois, como já foi dito, alguns artigos relatam que as espécies de Candida são onipresentes na cavidade bucal.

O presente estudo não mostrou a presença de fungos na cavidade bucal de forma significativa, porém, em 1995 relataram que as leveduras são de ocorrência comum na cavidade bucal de

|             | Controle   | Periodontite Crônica | Total    |
|-------------|------------|----------------------|----------|
| Candida (+) | 2 (28,57%) | 6 (46,15%)           | 8 (40%)  |
| Candida (-) | 5 (71,43%) | 7 (53,85%)           | 12 (60%) |
| Total       | 7          | 13                   | 20       |

Obs: Sem Diferença Estatística (Teste Exato de Fischer, p= 0, 642).

TABELA 1  
Presença de Candida sp em Pacientes controle e com Periodontite Crônica

|                                                                   | Controle |       | Periodontite Crônica |       |       | Total        |
|-------------------------------------------------------------------|----------|-------|----------------------|-------|-------|--------------|
|                                                                   | Língua   | Sulco | Língua               | Sulco | Bolsa |              |
| <b>Candida (+)</b>                                                | 2        | 1     | 2                    | 3     | 5     | 13 (10,92%)  |
| <b>Candida (-)</b>                                                | 5        | 20    | 12                   | 36    | 34    | 106 (89,08%) |
| <b>Total</b>                                                      | 7        | 21    | 13                   | 39    | 39    | 119          |
| Obs: Sem Diferença Estatística (Teste Qui-Quadrado, $p > 0,05$ ). |          |       |                      |       |       |              |

TABELA 2  
Presença de *Candida* sp. em sítios de pacientes controle e com Periodontite Crônica.

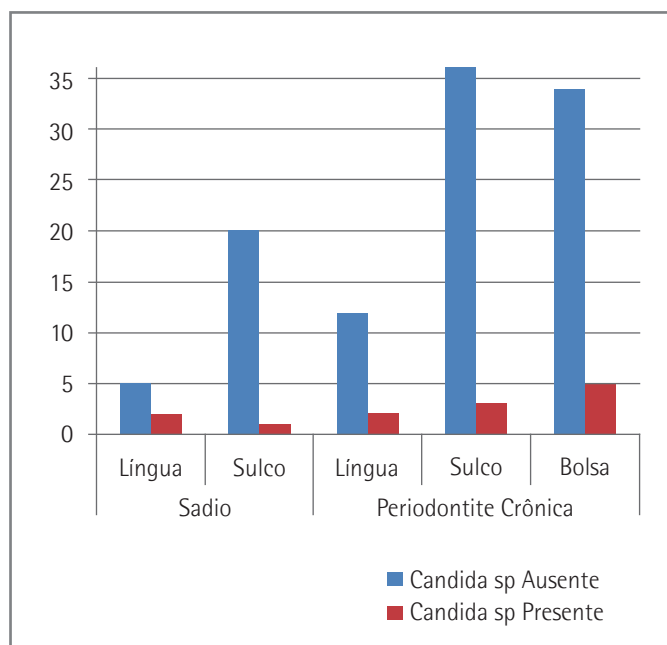


GRÁFICO 2  
Presença de *Candida* sp em sítios de pacientes controle e com Periodontite Crônica

indivíduos saudáveis, sendo a *Candida albicans* a espécie predominante na microbiota bucal, constituindo 60 a 70% do total de isolamento, seguido pela *Candida Tropicalis* e *Candida Glabrata*.<sup>14</sup> Como foram demonstradas altamente prevalentes em populações saudáveis e assintomáticas, o isolamento da *Candida* da cavidade bucal não implica necessariamente, na ocorrência de infecções.<sup>15</sup>

Sendo a periodontite uma doença multifatorial, o biofilme dental é considerado o iniciador desta doença, onde sua manifestação e progressão são influenciadas por vários fatores, como: pessoais, sociais, comportamentais, sistêmicos, genéticos, composição microbiana do biofilme dental e outros. Centenas de espécies de microrganismos reconhecidas e algumas ainda não identificadas habitam o sulco gengival. Contudo, tem sido mostrado que apenas poucas espécies desempenham papel significativo na etiologia da doença periodontal. A mera presença de periodontopatógenos putativos no sulco gengival não é suficiente para causar inflamação periodontal.<sup>16</sup>

Diversos fungos são habitantes normais da cavidade bucal, mas são mantidos em equilíbrio pela competição com bactérias e pelos mecanismos de defesa do hospedeiro. As alterações de qualquer destes fatores podem resultar do desenvolvimento de uma infecção fúngica.<sup>17</sup>

Ao ocorrer a quebra do equilíbrio biológico, normalmente resultante predisponentes, como fisiológicos, patológicos e imunológicos, há um aumento na multiplicação e/ou invasão destes microrganismos em tecidos, instalando-se a infecção.<sup>18</sup>

A utilização de antibacteriano de amplo espectro como auxiliares no tratamento periodontal tem sido um dos mais relevantes fatores para o desenvolvimento de infecções por bactérias resistentes e por leveduras do gênero *Candida*,<sup>19</sup> inclusive em pacientes portadores de HIV, que além de terem sua imunidade comprometida, são submetidos a tratamentos prolongados com antibacterianos para curar infecções bacterianas.<sup>20</sup>

A porcentagem de isolamento do gênero *Candida* a partir da cavidade bucal apresenta uma variação de 30 a 60%,<sup>21</sup> sendo a *Candida Albicans* o que possui maior fator de patogenicidade, o que possibilitaria o agravamento da doença periodontal com a capacidade de invadir o epitélio do sulco, inibição de função dos polimorfonucleares, lisar monócitos, presença de endotoxinas e produção de enzimas. A produção de fosfolipase juntamente com a proteinase parece exercer papel importante na invasão da célula do hospedeiro.<sup>22</sup>

Em 2003, foi realizada uma análise da microbiota subgingival de pacientes com periodontite. Dentre os diferentes microorganismos existentes nos sítios subgingivais, fungos foram encontrados

em 18% dos indivíduos com doença periodontal e 25% dos indivíduos periodontalmente saudáveis, não havendo diferença estatística significativa.<sup>23</sup> Verificaram a prevalência de material contendo levedura nas bolsas periodontais examinadas superior a 15,6%.<sup>24</sup>

## CONCLUSÃO

*Candida* sp foi encontrada na cavidade bucal de pacientes com Periodontite Crônica e indivíduos saudáveis, porém em proporções distintas de acordo com os diferentes sítios avaliados.

## APLICAÇÃO CLÍNICA

Associar a presença de fungos em Pacientes saudáveis, na língua e em pacientes com Doença Periodontal nas bolsas profundas.

## AGRADECIMENTOS

FAPERJ – Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, Nº processo: E-26.102.754.2013 Bolsa de Iniciação Científica.

## REFERÊNCIAS

- MARTINS, C. A. P. et al. Presença *Candida* spp. Em Pacientes com Periodontite Crônica. *Cienc Odontol Bras*, 5: 75-83, 2002.
- RICHARDSON M. D., WARNOCK D. W., *Fungal infection diagnosis and management*. Oxford Blackwell Scientific; 1993.
- ARENDORF T. M., WALKER D. M., Oral Candidal populations in health and disease. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 147: 267-272, 1979.
- ARENDORF T. M., WALKER D. M., The prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol*. 25: 1-10, 1980.
- SLOTS J., RAMS T.E., LISTGARTEN M. A., Yeasts enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 3: 47-52, 1988.
- DARBY I., CURTIS M., Microbiology of periodontal disease in children and young adults. *Periodontol* 2000. 26: 33-53, 2001.
- PIHLSTROM, B. L., AMMONS, W. F. Treatment of gingivitis and periodontitis. Research, science and therapy Committee of the American Academy of Periodontology. *J Periodontol*, 68: 1246- 1253, 1997.
- CHEN H., COX S. W., ELEY B. M., MANTYLA P., RONKA H., SORSA T., Matrix metalloproteinase 8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J clin Periodontol*. 27: 366-369, 2000.
- JARVENSIVU, A., HIETANEN, J., RAUTEMAA, R., SORSA, T., RICHARDSON M., *Candida* yeasts in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms in vivo. *Oral Disease*. 10: 106- 112, 2004.
- DAHLEN G., WILKSTRON M., Occurrence of enteric rods, staphylococci and *Candida* in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol*. 10: 42- 46, 1995.
- LINDHE J., KARRING T., LANG N. P., *Tratado de Periodontia clínica e implantodontia oral*. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
- KOSHY G., CORBET E. F., ISHIKAWA I., A full-mouth disinfection approach to nonsurgical periodontal therapy – prevention of reinfection from bacterial reservoirs. *Periodontol* 2000. 36: 166-178, 2004.
- TONETTI, M. S., CLAFFEY, N.; European Workshop in Periodontology Group C. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*. 32: 210-213, 2005.
- CANABARRO A., VALLE C., FARIAS M. R., SANTOS F.B., LAZERA M., WANKE B., Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis. *Journal of Periodontology Research*. 2012.
- JORGE, A. O. C., Presença de *Candida* spp e Anticorpos Anti-*Candida albicans* na Cavidade Bucal de Pacientes com Periodontite Crônica do Adulto. *Rev Odontol UNESP*, São Paulo, 26: 03-218, 1997.
- Samaranayake YH, Samaranayake LP. Experimental oral candidiasis in animal models. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(2):398-429.
- OLIVEIRA L. F., JORGE A. O. C., SANTOS S. S. F., In vitro Minocycline Activity on Superinfecting Microorganisms Isolated from Chronic Periodontitis Patients. *Braz Oral Res*. 20: 202-206, 2006.
- JARVENSIVU, A., HIETANEN, J., RAUTEMAA, R., SORSA, T., 17. RICHARDSON M., *Candida* yeasts in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms in vivo. *Oral Disease*. 10: 106- 112, 2004.
- GHANNOUM, M.A.; ABU-ELTEEN, K.H. Pathogenicity determinants of *Candida*. *Mycoses*, v.33, n. 6, p. 265-82, June 1990.
- DAHLEN G., WILKSTRON M., Occurrence of enteric rods, staphylococci and *Candida* in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol*. 10: 42- 46, 1995.
- RYDER M. I., Periodontal management of HIV-infected patients. *Periodontology* 2000. 23:85-93, 2000.
- WRAY D., FELIX D. H., CUMMING C.G., Alteration of humoral responses to *Candida* in HIV infection. *British Dental Journal*, 168: 326-329, 1990.
- POLAK A., Virulence of *Candida albicans* mutants. *Mycoses*. 35: 9-16, 1992.
- DOGAN B., ANTINHEIMO J., CETINER D., BODUR A., EMINGIL G., BUDUNELI E., UYGUR C., FIRATLI E., LAKIO L., ASIKAINEN S., Subgeival microflora in Turkish Patients with periodontitis. *J Periodontol* 14: 176-182, 1999.
- REYNAUD A. H., NYGAARD-OSTBY B., BOYGARD G-K et al. Yeasts in Periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 28: 860-864, 2001.