

CANDIDÍASE CRÔNICA ATRÓFICA. PESQUISA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS NO SORO E NA SALIVA

Carmelita Schmidt UNTERKIRCHER*
Augusto Escragnolle TAUNAY**
Augusta TAKEDA***

RESUMO: Os autores procuram estabelecer parâmetros para o diagnóstico de "estomatite por dentadura" induzida por algumas espécies do gênero *Candida*. Utilizam, para isso, a técnica de imunofluorescência indireta, cultura de saliva e biópsia da lesão. Observam que o isolamento de *C. albicans* é um achado quase constante nestes casos e que a pesquisa de anticorpos específicos na saliva é importante para o diagnóstico da doença.

UNITERMOS: Estomatite por dentadura; leveduras; anticorpos; saliva.

INTRODUÇÃO

A candidíase crônica atrófica é um quadro clínico freqüentemente observado na mucosa bucal, sob próteses totais ou parciais, caracterizado basicamente por eritema assintomático ou, raramente, acompanhado de ardor²⁴.

Clinicamente, podemos classificá-la em três tipos: inflamação localizada, eritema difuso e hiperplasia papilar inflamatória¹. Em alguns casos se observa queilite angular e glossite associados à lesão do palato.

O envolvimento de microrganismos do gênero *Candida* tem sido relacionado ao processo, a partir de 1936^{18,25,4,2} não se descartando, também, a influência da irritação mecânica¹⁹.

OLSEN²⁰ e OLSEN & BIRKELAND²¹ demonstraram que o fungo, quase sempre, estava presente na superfície de encaixe da dentadura e que dieta rica em carboidratos

poderia agravar ou mesmo iniciar um quadro de estomatite.

O diagnóstico das candidíases bucais baseia-se em critério clínico, micológico e anátomo-patológico⁸. Todavia, em certas ocasiões, é difícil estabelecer o diagnóstico de estomatite causada por leveduras⁹, pois esses microrganismos são habitantes normais da cavidade bucal humana^{5,10,23}.

Assim, numa tentativa de confirmar a verdadeira etiologia da lesão e de estabelecer fundamentos para a conduta do profissional diante de tais casos, nos propusemos a estudar o assunto.

MATERIAL E MÉTODOS

A população estudada consistiu de 20 indivíduos divididos em dois grupos: grupo "candidíase" e grupo controle. O grupo "candidíase" constou de 10 mulheres e 2 homens, adultos, com quadro sugestivo de cân-

* Departamento de Patologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 12.200 — São José dos Campos — SP.

** Seção de Bacteriologia — Instituto Adolfo Lutz — 01000 — São Paulo — SP.

*** Seção de Imunologia — Instituto Adolfo Lutz — 01000 — São Paulo — SP.

didíase crônica atrófica, enquanto que o grupo controle, de oito indivíduos, de ambos os sexos, com dentes naturais e mucosa bucal clinicamente normal. De ambos os grupos foram colhidas amostras de 10 ml de sangue e 5 a 10 ml de saliva total.

Cultura e identificação de C. albicans

A cultura de *C. albicans* foi realizada inicialmente com agar Sabouraud onde se utilizou cloranfenicol e a identificação foi baseada nos resultados das seguintes provas:

- 1 — Observação microscópica do crescimento obtido em agar Sabouraud e os esfregaços corados pelo método de Gram.
- 2 — Formação do tubo germinativo¹⁰.
- 3 — Crescimento em caldo Sabouraud.
- 4 — Formação de clamidósporo em agar farinha de milho com Tween 80.
- 5 — Zimograma¹⁰.
- 6 — Auxonograma¹².
- 7 — Cultivo em lâmina.
- 8 — Inoculação em camundongo¹⁰.

Tratamento histológico

Em cinco pacientes com quadro sugestivo de candidíase crônica atrófica foram tomadas biópsias incisionais do palato e os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina e ácido periódico de Schiff, para se proceder a análise histológica.

Pesquisa de anticorpos no soro e na saliva

Para a pesquisa de anticorpos no soro e na saliva, a reação escolhida foi a de imunofluorescência indireta, utilizando como antígeno a forma de levedura de *C. albicans* fixada na lâmina.

Diluições seriadas na razão dois, foram preparadas do soro e da saliva, em solução salina normal. Cada uma dessas diluições foi colocada sobre o antígeno fixado na lâmina e incubada a 37°C, por 30 minutos, em câmara úmida. O excesso de soro e saliva foram removidos com PBS pH 7.2 e as lâminas lavadas duas vezes na mesma solução por 20

minutos e deixadas secar à temperatura ambiente.

Em seguida, com pipeta Pasteur, foi depositada sobre o esfregaço uma gota do conjugado de anti- γ -humana marcada com isotiocianato de fluoresceína. Após incubação em câmara úmida por 30 minutos, as lâminas foram lavadas duas vezes em PBS por 20 minutos. Após secar em temperatura ambiente as lâminas foram montadas com glicerina tamponada pH 8,5, e cobertas com lamínulas e examinadas em microscópio de luz ultravioleta.

Os títulos do soro e saliva foram expressos como a recíproca da mais alta diluição que apresentava um halo fluorescente amarelo-esverdeado contínuo em torno do blastósporo de *Candida* ou como uma linha fluorescente contínua em torno das pseudohifas.

Para se testar a especificidade da reação utilizaram-se testes de bloqueio modificado e de absorção.

RESULTADOS

Distribuição das lesões

Os indivíduos do grupo candidíase eram todos portadores de prótese total superior, com exceção de um caso de prótese parcial removível. Apenas um destes pacientes apresentava queixa relativa à lesão (Quadro 1).

Cultura

Os Quadros 1 e 2 mostram, respectivamente, os resultados da cultura no grupo candidíase e as provas utilizadas para identificação.

No grupo controle, apenas um paciente era portador bucal de *C. albicans*, enquanto nos demais a cultura resultou negativa.

Tratamento histológico

Os cortes corados pela hematoxilina-eosina e o ácido periódico de Schiff não revelaram a presença do fungo. As biópsias que analisamos não revelaram invasão epite-

QUADRO 1 — Distribuição dos indivíduos pertencentes ao grupo “candidíase” segundo sexo, idade, tipo de lesão, queixa clínica e levedura isolada.

TIPO DE LESÃO

Casos	Sexo	Idade	Eritema Puntiforme	Eritema Difuso	Hiperplasia P.I.	Queilite Angular	Queixa Clínica	Levedura Isolada
1 JAS	M	39				+		—
2 ICGP	F	50	+					—
3 MFG	F	42	+					—
4 EOG	M	39			+	+		*
5 EVS	F	43			+			<i>C. albicans</i>
6 ASQ	F	33		+				*
7 CGR	F	34		+				<i>C. albicans</i>
8 ICS	F	26		+				<i>C. albicans</i>
9 RT	F	35		+				<i>C. albicans</i>
10 MLS	F	61		+				<i>C. albicans</i>
11 MAM	F	68		+		+	+	<i>C. tropicalis</i>
12 FAP	F	22						

— cultura negativa para *C. albicans*

* não foi feita cultura

QUADRO 2 — Provas utilizadas na identificação das espécies do gênero *Candida* (baseado no esquema apresentado por HUTNER & COOPER¹⁰) para o grupo “candidíase”.

N.º DA AMOSTRA	CRESCIMENTO a 37°C	PELÍCULA/CALDO	PSEUDOHIFA	CLAMIDÓSPORO	TUBO GERMINATIVO	AUXONOGRAMA							ZIMOGRAMA				UTILIZAÇÃO DO KNO ³	INOCULAÇÃO COM LESÃO RENAL ***	
						GLICOSE	MALTOSE	SACAROSE	LACTOSE	XILOSE	RAFINOSE	INOSITOL	GLICOSE	MALTOSE	SACAROSE	LACTOSE			
5 EVS	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	AG	AG	A	-	-	+
7 CGR	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	AG	AG	A	-	-	+
8 ICS	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	AG	AG	A	-	-	+
9 RT	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	AG	AG	A	-	-	+
10 MLS	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	AG	AG	A	-	-	+
11 MAM	+	+	*	+	**	-	+	+	+	-	+	-	+	AG	AG	AG	-	-	-
12 FAP	+	+	*	+	**	-	+	+	+	-	+	-	+	AG	AG	AG	-	-	-

* Película fina com bolhas

** Raros

A = ácido

AG = Ácido e Gás

*** Em todos os casos com lesão renal, a morte ocorreu em 1 semana.

lial e se caracterizaram por um intenso infiltrado inflamatório do tipo crônico.

Imunofluorescência

Nos Quadros 3 e 4 são apresentados os resultados da titulação das amostras do soro e da saliva.

QUADRO 3 — Título de anticorpos para *C. albicans* no soro e na saliva de pacientes do grupo "candidíase".

CASOS	Título de anticorpos para <i>C. albicans</i>	
	SORO	SALIVA
1 JAS	512	1
2 ICGP	128	—
3 MFG	64	—
4 EOG	1024	*
5 EVS	1024	2
6 ASQ	128	—
7 CGR	512	4
8 ICS	128	4
9 RT	512	1
10 MLS	1024	2
11 MAM	1024	**
12 FAP	256	4

— Negativo

* Paciente recusou coleta de saliva

** Paciente xerostômico (material insuficiente)

QUADRO 4 — Título de anticorpos para *C. albicans* no soro e na saliva de pacientes do grupo controle.

CASOS	Título de anticorpos para <i>C. albicans</i>	
	SORO	SALIVA
2 LSSR	64	—
3 NI	16	—
4 HK	64	—
6 IF	32	—
7 MNS	128	—
8 SF	64	—
9 CSC	128	—
10 JM	128	—

— Negativo

A especificidade da reação foi controlada por reações de bloqueio e absorção, sendo que o teste de bloqueio resultou em extinção total da fluorescência.

A absorção do soro com *C. albicans*, grupo A e com *C. tropicalis* resultou em extinção total da fluorescência; fato não constatado quando da absorção do soro com *C. stellatoidea*. Isto sugere certa semelhança entre os componentes antigênicos das duas espécies *C. albicans*, grupo A e *C. tropicalis*.

DISCUSSÃO

Quadro clínico

A "candidíase crônica atrófica" é referida por alguns autores como mais freqüente em mulheres; parece-nos, entretanto, que estes dados estejam relacionados com o fato de pacientes do sexo feminino procurarem com maior freqüência a Clínica para tratamento protético.

A lesão do palato poderá, em certos casos, estar condicionada a má adaptação da prótese, como foi verificado em dois dos nossos pacientes.

De fato, BUDTZ-JÖRGENSEN & BERTRAM³ demonstraram que o tipo simples localizado de estomatite é causado basicamente por irritação mecânica.

Como verificou RITCHIE *et alii*²⁴ muitos pacientes desconhecem que são portadores da lesão e não relatam qualquer queixa. De fato, apenas um dos nossos pacientes apresentava queixa relacionada à lesão.

Diversos trabalhos^{4, 6, 18, 24} relatam a freqüente coincidência entre "estomatite por dentadura" e queilite angular. Todavia, só encontramos dois casos de queilite angular (18,2%) simultaneamente com lesão de palato e um caso de queilite angular sem qualquer outra lesão.

Achados micológicos e histológicos

CAHN foi o primeiro a mencionar a possibilidade de que a estomatite por dentadura fosse induzida por espécies de *Candida*².

Vários pesquisadores^{4,6,17,18,26} isolaram *C. albicans* de pacientes com estomatite por dentadura.

Dos nossos pacientes com lesões dos tipos eritema difuso e granular (9 casos), isolamos *C. albicans* em cinco (55%) e outras leveduras do gênero *Candida* em dois casos (22%).

Os achados histológicos, que encontramos, concordam com os de outros autores^{11,13,22,24}, que observaram alterações semelhantes nos cortes que examinaram.

Resposta imunológica à C. albicans

Em todos os nossos casos de “estomatite por dentadura”, atribuídos à *C. albicans*, anticorpos específicos estiveram sempre presentes na saliva. Em nenhum dos pacientes controle, ou nos pacientes com inflamação localizada (atribuída a trauma), foi possível detectar anticorpos específicos para *C. albicans*.

A nosso ver, a reação de imunofluorescência indireta na saliva é especialmente útil para diagnóstico da doença. Nos casos que estudamos, apenas aqueles indivíduos com lesão bucal e com cultura positiva para *C. albicans* apresentavam anticorpos na saliva.

Se compararmos os resultados obtidos na titulação das amostras de soro, observa-

remos que não há um limite nítido de separação entre controles e indivíduos doentes. Encontramos títulos de 32, 64 e 128 no grupo controle, com cultura negativa para *C. albicans* e num portador, com cultura positiva, um título de 128.

Resultados semelhantes foram encontrados por TASCHDJAN *et alii*²⁵ e DOLAN & STRIED⁷, mas não por LEHNER^{14,15,16}.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos através da metodologia adotada nesta pesquisa fundamentam as seguintes conclusões: 1. Nos portadores de próteses totais ou parciais, apenas os casos de eritema difuso e de hiperplasia papilar inflamatória devem ser considerados como quadros de candidiase bucal; 2. Para o diagnóstico da candidiase crônica atrófica é importante incluir, nos exames de rotina, a pesquisa de anticorpos anti*Candida* na saliva; 3. A especificidade da reação pode ser facilmente comprovada por reações de bloqueio e absorção; 4. A reação de imunofluorescência só foi positiva na saliva daqueles indivíduos com títulos séricos superiores a 128; 5. O exame histológico das biópsias da mucosa palatina não mostraram invasão do epitélio pelo fungo.

UNTERKIRCHER, C.S. *et alii* — Atrophic chronic candidiasis. Investigation of specific antibodies in sera and saliva. *Rev. Odont. UNESP, São Paulo, 12(1/2):77-82, 1983.*

ABSTRACT: The authors try to establish parameters for the diagnosis of denture stomatitis induced by some species of the *Candida* genus. They use, for that purpose, the techniques of indirect immunofluorescence, saliva culture and lesion biopsy. They notice that the isolation of the *C. albicans* is an almost constant finding in these cases and that the detection of specific antibodies in the saliva is relevant for the diagnosis of the illness.

KEY-WORDS: Antibody; saliva; yeast; denture stomatitis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. — Clinical aspects of *Candida* infection in denture wearers. *J. am. dent. Ass.*, 96: 474-479, 1978.
2. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. — The significance of *C. albicans* in denture stomatitis. *Scand. J. dent. Res.*, 82: 151-190, 1974.
3. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. & BERTRAM, U. — Denture stomatitis. I. The etiology in relation to trauma and infection. *Acta odont. scand.*, 28: 71-92, 1970.
4. CAWSON, R.A. — Denture sore mouth and angular cheilitis. *Br. dent. J.*, 115: 441-449, 1963.
5. CRUICKSHANK, R. — *Microbiologia médica*. 3. ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1973. p. 539-546.
6. DAVENPORT, J.C. — The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. *Br. dent. J.*, 129: 151-156, 1970.
7. DOLAN, C.T. & STRIED, R.P. — Serologic diagnosis of yeast infections. *Am. J. clin. Pathol.*, 59:49-54, 1973.
8. FONSECA, J.B. — Fungos de interesse odontológico. In: LACAZ, S.C.; MINAMI, S.P. & PURCHIO, A. — *O grande mundo dos fungos*. São Paulo, Polígono, 1970. p. 177-184.
9. FRISK, A. — Serological aspects of candidosis. *Curr. Therap. Res.*, 22:46-50, 1977.
10. HUTNER, M.S. & COOPER, B.H. — Medical important yeast. In: LENETTE, E.H.; SPAUDING, E.H. & TRUANT, J.P. — *Manual of clinical microbiology*. 2. ed. Washington, American Society for Microbiology, 1974. p. 491-506.
11. JENKINS, W.M.M.; McFARLANE, T.W.; FERGUSON, M.M. & MASON, D.K. — Nutritional deficiency in oral candidosis. *Int. J. oral Surg.*, 6: 204-210, 1977.
12. LACAZ, C.S. — *Micologia médica*. São Paulo, Savier, 1977. p. 509-514.
13. LEHNER, T. — Chronic candidiasis. *Br. dent. J.* 116: 539-545, 1964.
14. LEHNER, T. — Immunofluorescent investigation of *C. albicans* antibodies in human saliva. *Arch. oral Biol.*, 10: 975-980, 1965.
15. LEHNER, T. — Immunofluorescent investigation of *Candida*. *Dent. Pract.*, 16: 142-146, 1965.
16. LEHNER, T. — Immunofluorescence study of *C. albicans* in candidiasis, carriers and controls. *J. Pathol. Bacteriol.*, 91:97-104, 1966.
17. LEHNER, T. — Oral Candidosis. *Dent. Pract.*, 17: 210-216, 1967.
18. LYON, D.G. & CHICK, A.O. — Denture sore mouth and angular cheilitis. *Dent. Pract.*, 7: 212-217, 1957.
19. NYQUIST, G. — Denture sore mouth. *Acta odont. scand.*, 10, (suppl. 9), 1952.
20. OLSEN, I. — Denture stomatitis. Occurrence and distribution of fungi. *Acta. odont. scand.*, 32: 329-333, 1974.
21. OLSEN, I. & BIRKELAND, J.M. — Irritation and aggravation of denture stomatitis by sucrose rinses. *Scand. J. dent. Res.*, 84:94-97, 1976.
22. OLSEN, I. & HAANAES, H.Ø. — Experimental palatal candidosis and saliva flow in monkeys. *Scand. J. dent. Res.*, 85:135-141, 1977.
23. RIPPON, J.M. — *Medical mycology*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1974.
24. RITCHIE, G.M. FLETCHER, A.M.; MAIN, D.M.G. & PROPHET, A.S. — The etiology and treatment of denture stomatitis. *J. Prosth. Dent.*, 22: 185-199, 1969.
25. TASCHDJAN, C.L.; KOZINN, P.J.; CUESTA, M.B. & TONI, E.F. — Serodiagnosis of candidal infections. *Am. J. clin. Pathol.*, 57: 195, 1972.
26. TURREL, A.J.W. — A etiology of inflamed upper denture bearing tissues. *Br. dent. J.*, 120: 542-546, 1966.

Recebido para publicação em 10.5.83.