

EMPREGO DA IMUNOFLORESCÊNCIA DIRETA NO ESTUDO DAS ALTERAÇÕES DE MUCOSA DE PALATO, COMPATÍVEIS COM CANDIDÍASE ATRÓFICA CRÔNICA, EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE PRÓTESES DENTÁRIAS TOTAIS MUCO-SUPORTADAS

Luiz Antonio Guimarães CABRAL*

RESUMO: *Estudo histopatológico com colorações pela hematoxilina-eosina (HE) e pelo ácido periódico de Schiff (PAS), paralelamente à imunofluorescência direta (ID) antiimunoglobulinas humanas totais e contra Candida albicans, foram efetuados em 25 indivíduos com próteses dentárias totais muco-suportadas superiores. Em 5 indivíduos sem sinais clínicos compatíveis com candidíase atrófica crônica (CAC) ao HE tivemos discreta inflamação no conjuntivo e o PAS marcou lâmina basal contínua, os grânulos intracelulares da camada granulosa e paraqueratina uniforme na superfície do epitélio. Nos 20 demais, com sinais clínicos compatíveis com CAC, ao HE foram freqüentes achados comuns às infecções por Candida e o PAS revelou, além da descontinuidade da lâmina basal e superfície epitelial revestida por paraqueratina frouxa, ou descontínua, a presença de corpúsculos arredondados maiores que os intracelulares da camada granulosa, por vezes isolados na porção mediana das papilas e cones interpapilares. Nos 5 primeiros indivíduos a ID antiimunoglobulinas humanas totais não revelou sinais da vigência de fenômenos imunológicos humorais, bem como nos demais 20 pacientes com sinais de CAC o método não mostrou qualquer vestígio de reação imunológica mediada por anticorpos. Porém, a ID com conjugado contra C. albicans nos casos com aspectos clínicos compatíveis com CAC detectou aspectos condizentes com estruturas que podem ser assumidas pela Candida nos tecidos. Culturas do material de indivíduos com sinais de CAC positivaram-se em 100% para Candida, 70% presuntivamente albicans; porquanto em indivíduos sem sinais de CAC, a Candida foi isolada em 80% das amostras, 67% presuntivamente albicans.*

UNITERMOS: *Estomatites por dentadura; candidíases; imunofluorescência.*

INTRODUÇÃO

As alterações inflamatórias que podem ocorrer nas mucosas bucais em contato com as próteses dentárias totais muco-suportadas (PDTMS) têm despertado interesse em vários autores^{2,4,7,11,21,57}, recebendo as mesmas denominações de: agressão bucal pela dentadura "denture sore mouth"¹³, palatite crônica por dentadura⁵⁶, estomatite

* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245 – São José dos Campos – SP.

protética³ e estomatite por dentadura. Na etiologia das referidas alterações foram arrolados vários fatores, como exemplo a hipersensibilidade pelo material utilizado na confecção da prótese⁵² e o bloqueio da secreção das glândulas salivares do palato.⁵¹

A *Candida albicans*, como possível causa da agressão às mucosas de pacientes com PDTMS, foi primeiramente proposta por CAHN¹³. Estudos demonstraram que culturas ou mesmo esfregaços das áreas afetadas revelam *Candida*, sendo a nistatina efetiva no tratamento^{16,17}.

A expressão clínica dos processos inflamatórios sob as PDTMS, caracterizadas por mucosa palatina com eritema edematoso delimitado pelo contorno protético, manifestando ou não sintoma doloroso, foi definida por CAWSON¹⁵ como "Candidíase atrófica crônica" (CAC), ou "Candidíase relacionada à prótese"⁵², quando da presença de *Candida* na superfície da mucosa e o tratamento antifúngico reverte o quadro clínico.

Apesar de fortuita a demonstração de pseudo-hifas invadindo os tecidos no histopatológico, formas micelares estão rotineiramente presentes na superfície das mucosas com sinais clínicos de CAC, fato ao qual BUDTZ-JÖRGENSEN⁴ imputa como potencial precursor de infecção sistêmica.

BERGENDAL & ISACSSON² definem duas formas clínicas para as estomatites relacionadas com o uso de PDTMS, a saber: estomatite atrófica por dentadura – uma sinonímia para os aspectos da CAC, e estomatite hiperplásica por dentadura – onde estão presentes projeções papilares eritematosas mais bem evidenciadas com jatos de ar; contudo, estes autores concluem que os quadros histopatológicos são similares nas duas formas.

BERGENDAL & HOLMBERG¹ consideram que por si só a sorologia contra *Candida* não é meio diagnóstico para os quadros de CAC, enquanto UNTERKIRCHER⁶⁸ ressalta que anticorpos séricos contra *C. albicans*, somados à micologia e histopatologia, dizem a favor da infecção pelo fungo naqueles quadros.

Entre os fatores predisponentes às candidíases estão o antibiótico e corticoterapia^{20,24,27,37,46}; KNIGHT & FLETCHER³⁸ também os relacionam com o aumento de glicemia e somam o diabetes melito.

Na patogênese da CAC, além da possibilidade da invasão dos tecidos pela *Candida*, CAWSON¹⁷, com base no trabalho de MAIBACH & KLIGMAN⁴⁷, ressalta a difusão de substâncias que o microorganismo produza.

Destarte nos propuzemos, com o emprego da imunofluorescência direta, utilizada por TASCHDJIAN *et alii*⁶⁶ com candidíases sistêmicas, avaliar a participação da *Candida*, bem como os aspectos imunológicos humorais locais nas alterações teciduais sob as PDTMS.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e cinco indivíduos adultos, voluntários, portadores de próteses dentárias totais muco-suportadas (PDTMS) superiores foram assim selecionados: 1ºGRUPO: quatro indivíduos sadios e um hipertenso, dois do sexo masculino, três do sexo femi-

nino, clinicamente sem alterações teciduais na mucosa sob a PDTMS. 2º GRUPO: cinco indivíduos, sadios e pacientes não diabéticos ou sob terapêutica isenta de corticosteróides e/ou imunossuppressores, três do sexo masculino, dois do sexo feminino, todos apresentando sinais clínicos de candidíase atrófica crônica (CAC) na mucosa sob a PDTMS. 3º GRUPO: seis pacientes de enfermarias hospitalares, três do sexo masculino, três do sexo feminino, com diagnóstico de diabetes melito e terapêutica específica, todos com suspeita clínica de CAC sob a PDTMS. 4º GRUPO: nove pacientes de enfermarias hospitalares, dois do sexo masculino, sete do sexo feminino, com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico ou artrite reumatóide, submetidos à imunossupressão medicamentosa e apresentando sinais de CAC sob as PDTMS.

Dos pacientes com sinais clínicos de CAC sob as PDTMS selecionaram-se as áreas mais expressivas e foi colhido com zaragatoa material da superfície da mucosa e da base da PDTMS que se contactavam para exame microbiológico, precedendo a biópsia.

Nos indivíduos sem sinais inflamatórios sob as PDTMS, as colheitas do material para o micológico e as biópsias foram efetuadas nas áreas onde as alterações inflamatórias expressivas para CAC eram mais comuns, assim: vertentes palatinas do rebordo maxilar, na altura dos pré-molares.

O material colhido por biópsia era em parte fixado em formalina pH 7,4 e, no laboratório de anatomia patológica, processado e corado pela hematoxilina-eosina (HE) e pelo método do ácido periódico de Schiff (PAS), sendo parte imediatamente submetida a cortes com 3 micra de espessura em criostato, com posterior lavagem, durante 60 minutos em salina tampão fosfato (PBS) a 4°C, das lâminas portadoras dos cortes e subsequente fixação em etanol a 4°C, por 10 minutos. Após fixação com etanol, os cortes, em número de 6 a 10 por lâmina, eram delimitados com esmalte para unha, metade recoberta com fração gamaglobulínica de soro hiperimune contra *C. albicans* do soro tipo A, conjugada com isotiocianato de fluoresceína, e o restante com fração gamaglobulínica de soro antiimunoglobulinas humanas totais conjugada com o mesmo fluorocromo. Depois de 30 minutos de incubação em câmara úmida a 37°C, as lâminas eram lavadas em PBS pH 7,4 durante 10 minutos, recobertas com glicerol e lamínulas e observadas em microscópico Fluoval 2 (Carl Zeiss/Jena), equipado com lâmpada HBO 202 W e filtro barreira G247.

O soro hiperimune contra *C. albicans* do soro tipo A foi obtido da imunização de coelho com antígeno constituído por suspensão de células íntegras, atenuadas em formol a 0,1%, e lisado de células do fungo. Após 75 dias de imunizações o soro apresentou, por precipitação em tubo, título de 4096, época em que o coelho foi sangrado, separada a gamaglobulina do soro por precipitação com sulfato de amônio conforme CALABRESI *et alii*¹⁴ e, depois da comprovação da atividade contra antígenos de fungo pelo método da precipitação em placa, foi conjugada com isotiocianato de fluoresceína* (COONS & KAPLAN¹⁸). Quanto ao conjugado imunoglobulinas humanas totais sua obtenção acha-se pormenorizada por CABRAL¹².

* MERCK, Darmstadt, west Germany.

Do material enviado ao laboratório de microbiologia, interesse objetivou-se no isolamento e identificação de fungos do gênero *Candida* e o estudo micológico estendeu-se em material colhido em todo o palato e em toda a extensão da base da PDTMS de 10 indivíduos sãos, sem apresentarem sinais de alterações inflamatórias em mucosa de palato.

RESULTADOS

Do 1º GRUPO no histopatológico em coloração pela hematoxilina-eosina (HE), sobressaía pequena quantidade de exocitose leucocitária no epitélio e discreto infiltrado mononuclear na lâmina própria, com as demais estruturas dentro dos padrões de normalidade. Em coloração pelo ácido periódico Schiff (PAS), definiu-se a característica da paraqueratina, granulações finas em citoplasma de células do terço superficial do epitélio, a lâmina basal e, no conjuntivo, estruturas perivasculares se coraram. Tanto a imunofluorescência direta (ID) com conjugado contra *Cândida* quanto com conjugado antiimunoglobulinas humanas mostraram padrões que não variaram entre si, com fluorescência pouco mais intensa definido espaços intercelulares e superfície queratinizada do epitélio; no conjuntivo, apenas os lúmens vasculares escuros sobressaíam de fundo praticamente homogêneo de fraca fluorescência (Fig. 1).

No 2º GRUPO o HE revelou epitélio apresentando áreas com variado grau de acantose e áreas de atrofia, respectivamente revestidas uniformemente por paraqueratina compacta e frouxa com interrupções; exocitose intensa presente, microabscessos freqüentes, somando-se que em determinadas oportunidades a camada basal achava-se desorganizada. No conjuntivo, intenso infiltrado de células mononucleares nas papilas e demais extensões da lâmina própria. No PAS, além da coloração uniforme das áreas revestidas por paraqueratina compacta, ou filamentosa nas áreas em que a mesma achava-se frouxa, e a interrupção da lâmina basal concomitante à desorganização da camada basal do epitélio, chamou-nos atenção corpos arredondados corados fraca e uniformemente, ora dispersos, ora agrupados, pouco maiores que os intracelulares da camada granulosa e localizados preferencialmente nas porções medianas dos cones interpapilares. A ID com conjugado anti *C. albicans* mostrou em três casos o aumento da fluorescência da camada de paraqueratina (Fig. 2); em três cortes, presença de pequenas estruturas arredondadas, geralmente agrupadas, com padrão de fluorescência, localizadas geralmente na porção mediana dos cones interpapilares (Fig. 3) e, em um caso, em superfície de epitélio desprovida de paraqueratina, estrutura arredondada com fluorescência intensa na periferia, compatível em forma, tamanho e padrão às leveduras de *Candida* (Fig. 4). A ID com conjugado anti-gamaglobulinas humanas totais nada somou às observações feitas nos indivíduos sem alterações nas mucosas sob as PDTMS.

No 3º GRUPO os achados histopatológicos nas colorações pelo HE e PAS foram bastante semelhantes aos do 2º GRUPO. A ID com conjugado contra *C. albicans* mostrou padrões superpostos aos do 2º GRUPO: dois casos com fluorescência inten-

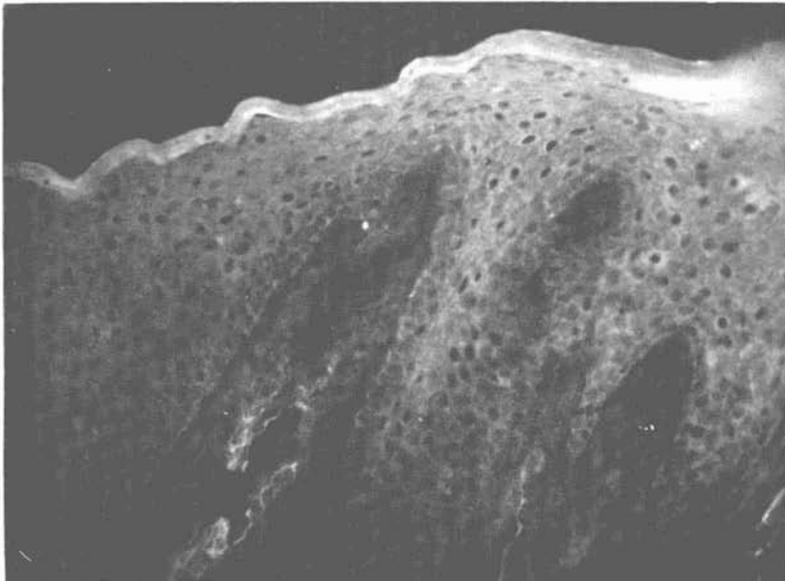
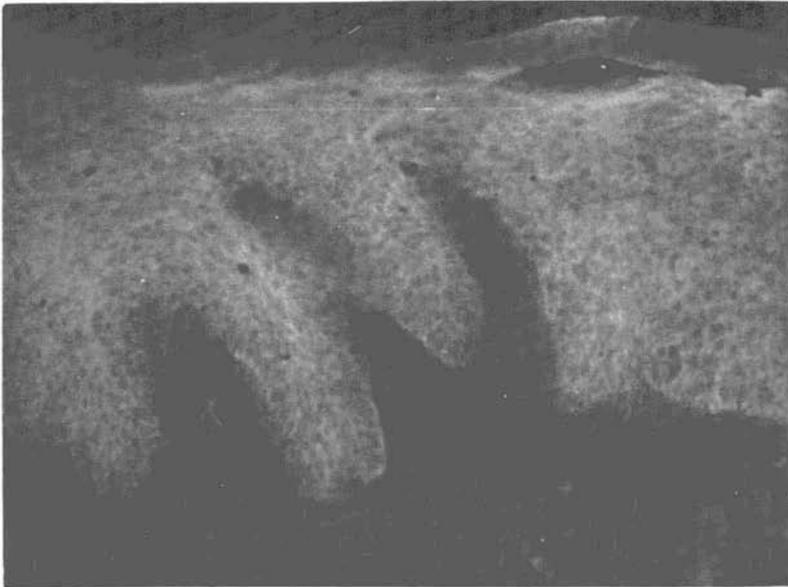


FIG. 1 - Aspectos da imunofluorescência direta, quer com emprego de conjugado antiimunoglobulinas humanas, quer com conjugado hiperimune contra *C. albicans* A; notar a fluorescência mais acentuada do epitélio bem delimitado e a discreta fluorescência homogênea da camada paraqueratina (63 X).

FIG. 2 - Característica de maior intensidade de fluorescência condicionada à camada de paraqueratina, quando do uso de conjugado anti *C. albicans* A em corte de mucosa de palato inflamada devido à prótese total (63 X).

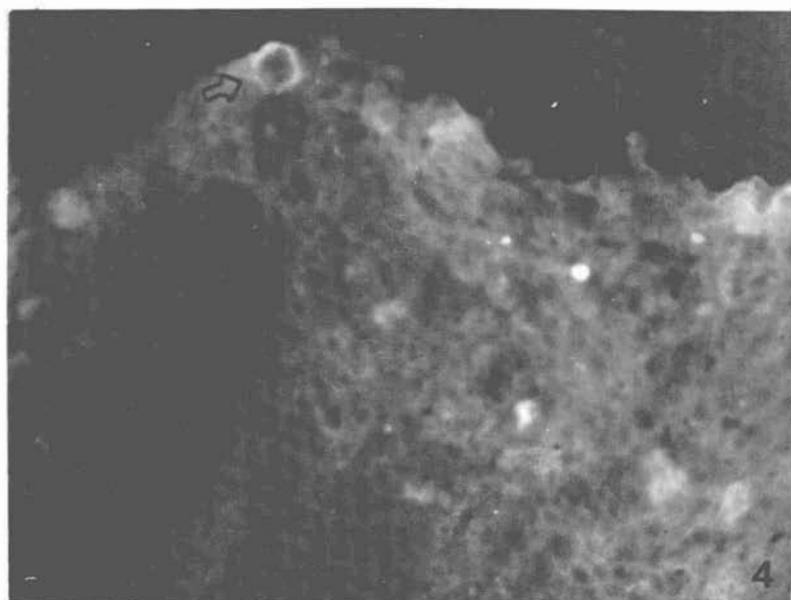
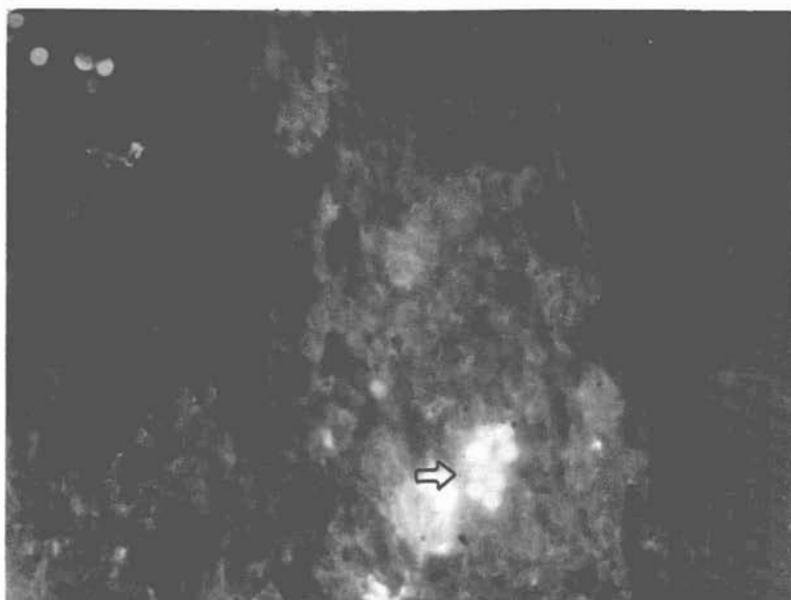


FIG. 3 - Pequenos corpos arredondados com fluorescência homogênea (seta), agrupados em porção mediana de cone interpapilar, vistos quando do emprego de conjugado anti *C. albicans A* em corte de mucosa palatina, com sinais de inflamação devido ao uso de prótese total (630 X).

FIG. 4 - Estrutura circular com fluorescência condicionada à periferia (seta), localizada superficialmente ao epitélio, em região desprovida da camada de paraqueratina, visualizada com emprego de conjugado hiperimune contra *C. albicans A* em corte de mucosa de palato inflamada pela prótese total (630 X).

sa da camada de paraqueratina, um caso com estrutura compatível com levedura de *Candida* na superfície do epitélio não paraqueratinizado e dois casos revelando os pequenos corpos arredondados com fluorescência homogênea geralmente agrupados; em um dos casos, além da localização na porção central dos cones interpapilares, os referidos corpúsculos estavam em papila conjuntiva (Fig. 5). A ID com conjugado antigamaglobulinas humanas nada somou ao descrito no 1º GRUPO.

No 4º GRUPO de pacientes, a histopatologia com colorações pelo HE e PAS, assim como o 3º GRUPO, mostrou-se a semelhança do 2º GRUPO. A ID com conjugado contra *C. albicans* também apresentou quadros sobreponíveis aos descritos para os 2º e 3º GRUPOS: três casos com fluorescência intensa na camada córnea, dois casos compatíveis com presença de levedura de *Candida* na superfície do epitélio, dois casos com pequenos corpos arredondados localizados na porção central dos cones interpapilares (um também em papila conjuntiva); neste último grupo estudado observamos em um dos casos a presença de estrutura alongada formada por pequenos segmentos (Fig. 6). Como os demais grupos, nenhum dado digno de nota somou-se com o uso de conjugado antigamaglobulinas humanas.

Quanto às culturas do material colhido em indivíduos sem sinais clínicos compatíveis com CAC, 80% mostraram crescimento de fungo compatível com o gênero *Candida* e o diagnóstico presuntivo para a espécie *albicans* (formação de tubo-germinativo e clamidosporos) foi de 67%. Porquanto, o cultivo do material obtido de pacientes com sinais clínicos de CAC mostrou 100% de crescimento de fungos do gênero *Candida*, sendo 70% pelo diagnóstico presuntivo, da espécie *albicans*.

DISCUSSÃO

No histopatológico das candidíases bucais, pseudo-hifas invadindo o epitélio é achado freqüente, principalmente pela coloração do PAS (periodic acid Schiff)^{32,41}, o que não ocorre nas chamadas estomatites por dentadura^{2,5,10,17}.

Considerando achados como a atrofia epitelial, diminuição da espessura da camada córnea e a exocitose mais pronunciada nas candidíases, BUDTZ-JÖRGENSEN⁹ considera que a biópsia de palato não é importante para definir o quadro de CAC (candidíase atrófica crônica) sob as próteses dentárias totais muco-suportadas (PDTMS).

Os achados histopatológicos dos 2º, 3º e 4º GRUPOS deste estudo comportam a descrição do parágrafo anterior, somando-se a presença dos microabcessos e superfície epitelial revestida por paraqueratina, dados em tudo semelhantes aos sinais prodômicos de candidíases cutâneas experimentais em ratos³³. Destarte, não podemos considerar que estas alterações devam ser vistas como inespecíficas pois, quando da retirada das compressas de cultura de *Candida albicans* nos experimentos citados, a sintomatologia e o quadro clínico evoluíam elucidando assim o fato de o terceiro postulado de Koch, mencionado por LEHNER⁴², não estar definido para concluir estar a *Candida* envolvida nas estomatites por dentadura.

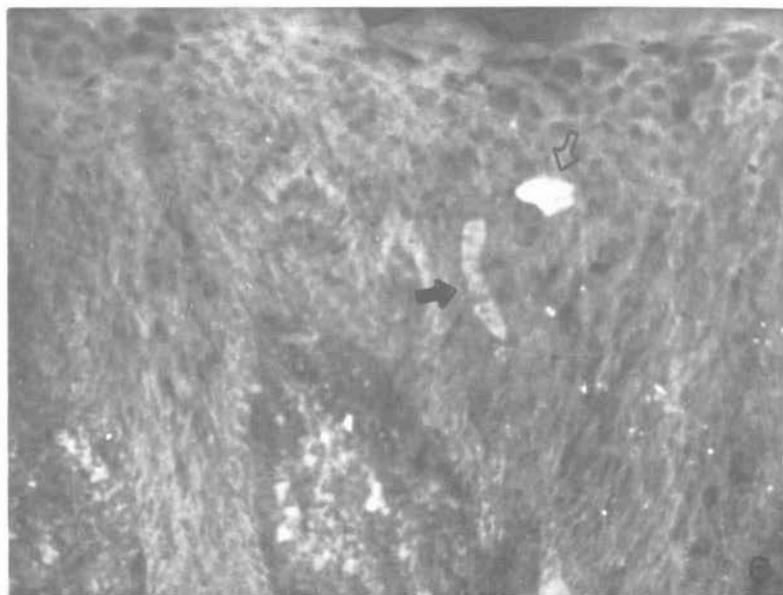


FIG. 5 - Pequenos corpos arredondados agrupados (seta), evidenciados em papila conjuntiva quando do emprego de conjugado hiperimune contra *C. albicans* A, em corte de mucosa palatina com sinais de inflamação sob a prótese total (630 X).

FIG. 6 - Aspecto de estrutura alongada, com fluorescência mais intensa, definindo septos (seta cheia) vista em corte do epitélio de mucosa palatina inflamada sob a prótese total. Desprezar artefato de técnica indicado pela seta vazia (252 X).

FISKER *et alii*²⁶ relatam os aspectos histológicos do epitélio pela coloração do PAS em candidíases bucais em ratos, notando-se bastante semelhantes aos por nós descritos. Apesar de autores^{6,8,33,59} haverem feito estudo semelhantes, apenas ressaltam a invasão do epitélio por pseudo-hifas na coloração pelo PAS. Assim, também os estudos das estomatites por prótese não exibem descrições histológicas pormenorizadas ao PAS, sendo levada em conta apenas a ausência de pseudo-hifas ou blastoporos no epitélio, haja vista os trabalhos de BERGENDAL & ISACSSON², BUDTZ JÖRGENSEN⁹ e UNTERKIRCKER⁶⁸.

Em nossos resultados devem ainda ser observados: 1 – Padrão frouxo da paraqueratina: apesar de não descrito é presente nas ilustrações de JONES & ADAMS³³ e de MAIBACK & KLIGMAN⁴⁷ que consideram o epitélio otoqueratinizado passando a paraqueratinizado nas candidíases, talvez devido à capacidade queratolítica da *Candida* como via de obtenção de nitrogênio³⁵; e 2 – os pequenos corpos arredondados corados pelo PAS, geralmente agrupados no interior dos cones interpapilares e papilas conjuntivas, são comparados ao primeiro estágio de formação de esferoplastos, observados por TASCHDJIAN *et alii*⁶⁴ no interior de macrófagos de pacientes falecidos com candidíase sistêmica e em células do baço e do fígado de ratos injetados com *C. albicans* viva. Porém, KADE & KAPLAN⁴⁴ observam que o PAS tem afinidade histoquímica por várias substâncias; em nosso caso pelo grânulos de queratohialina, daí a dificuldade de diferenciar elementos comuns ao epitélio e estruturas derivadas do fungo.

Cortes teciduais por congelação foi o método inicial utilizado nas técnicas de imunofluorescência direta (ID)¹⁹, sendo utilizado primeiramente na detecção de fungos patogênicos por GORDON²⁸ e posteriormente por KEMP & SOLOROTOVSKY³⁶ em estudo experimental da patogenia de *C. albicans* em camundongos. Na obtenção de cortes teciduais para a ID surgiram outros métodos, principalmente o de SAINT-MARIE⁵⁸, que preserva os antígenos e a morfologia tecidual, além de permitir a estocagem dos blocos parafinados. Contudo, a complexidade do método e os resultados superiores notados por ENESTRÖM *et alii*²⁵ em trabalho comparativo, fizeram-nos optar pelo corte em criostato.

Apesar do achado de anticorpos contra *Candida albicans* estar demonstrado na saliva e no soro em casos compatíveis com CAC^{40,41,43} e BUDTZ-JÖRGENSEN⁷ chamar atenção de que estes anticorpos não tenham sido estudados na resposta imunológica local quando de infecção por *Candida*, nossos resultados nada revelam quanto ao envolvimento local de anticorpos nos quadros de CAC.

O emprego de *Candida albicans* sorotipo A na obtenção do soro hiperimune foi devido a: maior virulência da espécie⁶⁹, portar os determinantes antigênicos do sorotipo B^{30,60} e antígenos comuns com as demais espécies patogênicas do gênero *Candida*^{29,61,62,65}.

As estruturas circulares, com fluorescência intensa na periferia, justapostas à superfície epitelial são bastante semelhante morfológicamente à forma de levedura da *Candida albicans* mostrada em imunofluorescência indireta por CABRAL¹²,

lembrando que as mesmas tendem a se instalar em áreas de desarranjo da camada de paraqueratina⁵⁴.

Os pequenos corpos arredondados vistos pela ID no interior de cones interpapilares e/ou nas papilas conjuntivas coadunam-se com estruturas semelhantes, medindo de 1 a 4 micra com fluorescência homogênea, localizadas no interior de macrófagos, coradas pelo PAS e Gram positivas, as quais, para TASCHDJIAN *et alii*⁶⁶, representam esferoplastos de *Cândida*. SVIHLA *et alii*⁶³, autores que obtiveram esferoplastos de *C. utilis* removendo parede celular pela digestão com suco gástrico de *Helix pomatia*, definem estas estruturas como componentes protoplasmáticos livres. A viabilidade dos esferoplastos acha-se substanciada por KOBAYASHI *et alii*³⁹; os autores observaram que a inoculação de suspensão dos mesmos ratos levava à febre com evolução fatal e a histopatologia renal destes animais revelava infiltração massiva de microorganismos filamentosos, sendo a cultura de material colhido das lesões positivas para *C albicans*. Explicação para o fenômeno é de POULTER *et alii*⁵⁵ que ressaltam a característica diplóide da *C. albicans* e da mesma ter um ciclo reprodutivo parassexual pela difusão de esferoplastos.

A ultramicroscopia de transmissão demonstra que, após a aderência às células epiteliais, a *Candida albicans* penetra o epitélio intra e extracelularmente, porém além das formas de pseudo-hifas e alguns blastoporos, não foi observada a presença de leveduras ou estruturas semelhantes a esferoplastos^{31,49,67}. Outrossim, MAJEWski & MACURA⁴⁸ mostram, em microscopia eletrônica de varredura, a presença de estruturas compatíveis com a morfologia de levedura assumida por fungos do gênero *Candida*, intercelularmente nas mucosas de pacientes com estomatites por dentadura, porém o tipo de ultramicroscopia não permite observar a intimidade das referidas estruturas.

SHEPHERD⁶⁰ conclui que o principal mecanismo de defesa contra *C. albicans* é representado pelos polimorfos nucleares neutrófilos (PMNN), capazes de ingerir e matar leveduras de *Candida in vitro*^{44,45}, fenômeno talvez responsável pela abundante exocitose por nós vista nos casos compatíveis com CAC. Sendo as pseudo-hifas de *Candida* bastante grandes para a fagocitose pelos PMNN, o autor que encabeça o parágrafo lembra que os referidos fagócitos têm capacidade de fixar-se à parede do fungo e desativá-lo por mecanismo oxidativo independentes de fatores opsônicos^{22,23}, fenômeno talvez facilitado pelas alterações da parede que a *Candida* sofre ao penetrar o epitélio^{31,49,67}.

Quanto a estruturas observadas à ID compatíveis com esferoplastos de *Candida* não serem achados constantes, talvez se deva à instabilidade das mesmas frente às enzimas que as liberam, fato pelo qual autores^{55,63} utilizaram tampões de cloreto de potássio na preservação das referidas porções protoplasmáticas.

Finalizando, ressaltamos nossos resultados microbiológicos onde 100% de material colhido em pacientes portadores de PDTMS superior, com sinais clínicos de CAC na mucosa palatina, apresentaram culturas positivas de fungos do gênero *Candida* contra 76% de positividade para culturas do fungo no material colhido nos

indivíduos sem sinais de inflamação nas mucosas sob as PDTMS. Apesar de considerarmos a conclusão de OLSEN & BILKELAND⁵³, os quais, frente a resultados bastante semelhantes aos nossos, dizem ser injustificado considerar ser patognomônica a presença de *Candida* com estomatite por dentadura, vimos que a totalidade dos pacientes que apresentaram sinais clínicos compatíveis com CAC revelaram culturas positivas para o fungo.

CONCLUSÕES

Frente aos nossos resultados e subsídios da literatura podemos concluir: 1 – cortes teciduais em criostato, em salina tamponada, é um método válido para a imunofluorescência direta (ID) ; 2 – a ID com uso de conjugado anti-imunoglobulinas humanas não elucida a vigência de fenômenos imunológicos humorais nas áreas compatíveis com candidíase atrófica crônica (CAC) sob as próteses dentárias totais muco-supertadas (PDTMS); 3 – a ID com conjugado contra antígenos de *Candida albicans* do sorotipo A revela aspectos condizentes com a agressão pelo fungo nos casos descritos com o CAC; 4 – os quadros histopatológicos, apesar de não revelarem a penetração de pseudo-hifas no epitélio, não devem ser considerados como excluidores da afecção pela *Candida* nas alterações inflamatórias sob as PDTMS; 5 – os achados histopatológicos pelos métodos de coloração pelo HE e PAS, bem como a ID com uso de conjugado antiimunoglobulinas humanas totais e conjugado *Candida albicans* A, não diferem nas alterações descritas como CAC sob as PDTMS em pacientes sob imunossupressão medicamentosa, pacientes com diabetes melito ou nos pacientes que não se encontram sob as duas condições anteriores.

CABRAL, L. A. G. – Use of direct immunofluorescence in the study of the palate mucosa alterations, compatibles with chronic atrophic candidiases, in denture wearers. **Rev. Odont. UNESP**, São Paulo, 19: 125-139, 1990.

ABSTRACT: *Histopatology by hematoxylin-eosin (HE) and periodic acid Schiff (PAS), concomitant direct immunofluorescence (DI) against total human immunoglobulins and against Candida albicans, was effectuated in 25 persons dentures wearers. In 5 persons without chronic atrophic candidiasis (CAC) clinical signals in the palate the HE showed wise inflammatory elements in the connective tissue and the PAS marked the continuous basal layer, the intra-cellular grains of granular layer and the uniform parakeratin on epithelial surface. In 20 others, with palatal signals of CAC, in the HE was frequent the features encountered in Candida infected and PAS revealed, beside discontinuous lamina basal and epithelial surface covered by tide and discontinuous parakeratin, the presence of round bodies few largers that presents in the granular layer, casually isolated in the medial portion of ret pegs and connective papillae. In the first 5 persons the DI against total human immunoglobulins not showed signals of the humoral immunologic phenomena, the same was valid to others 20 patients with CAC clinical aspects. However the DI with conjugate against C. albicans in the 20 cases with CAC signals revealed suitable aspects of the structures assumed by Candida in tissues. Cultures of samples obtained of the persons with CAC signals was positive in 100% to Candida, 70% presumptively albicans, against 80% of positiveness to genus Candida, 67% presumptively albicans, in the persons without CAC signals.*

KEY-WORDS: *Denture stomatitis; candidiasis; immunofluorescence.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERGENDAL, T. & HOLMBERG, K. – Studies of Candida sorology in denture stomatitis. *Scand. J. dent. Res.*, 90: 315-22, 1982.
2. BERGENDAL, T. & ISACSSON, G. A. – Combined clinical mycological, and histological study of denture stomatitis. *Acta odont. scand.*, 41: 33-44, 1983.
3. BERGMAN, B.; CARLSSON, G. E. & HEDEGARD, B. A. – Longitudinal two-year study of a number of full denture cases. *Acta odont. scand.*, 22: 3-26, 1964.
4. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. – Clinical aspects of Candida infection in denture wearers. *J. am. dent. Ass.*, 96: 474-9, 1978.
5. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. – Denture stomatitis. III. Histopathology of trauma and Candida induced inflammatory lesions of the palatal mucosa. *Acta odont. scand.*, 28:551-9, 1970.
6. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. – Denture stomatitis. IV. An experimental model in monkeys. *Acta odont. scand.*, 29: 513-26, 1971.
7. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. – Denture stomatitis. V. Candida agglutinins in human sera. *Acta odont. scand.*, 30: 313-25, 1972.
8. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. – Immune response to *C. albicans* in monkeys with experimental candidiasis in palate. *Scand. J. dent. Res.*, 81: 360-71, 1973.
9. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. – The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. *Scand. J. dent. Res.*, 82: 151-90, 1974.
10. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. & LÖE, H. – Chlorhexidine as a denture desinfectant in the treatment of denture stomatitis. *Scand. J. dent. Res.*, 80: 457-64, 1972.
11. BUDTZ-JÖRGENSEN, E.; STENDERUP, A. & GRABOWISKY, M. – An epidemiological study of yeasts in elderly wearers. *Community dent. oral Epidemiol.*, 3: 115-9, 1975.
12. CABRAL, L. A. G. – *Verificação por imunofluorescência indireta da presença de anticorpos no soro e na saliva de humanos dirigidos contra Candida albicans*. São Paulo, Faculdade de Odontologia, USP, 1980. (Tese – Mestrado)
13. CAHN, L. R. – The denture sore mouth. *Ann. Dent.*, 3: 33-6, 1936.
14. CALABRESI, P.; EDWARDS, E. A. & SCHILLING, R. F. – Fluorescent antiglobulin studies in leukopenic and related disorders. *J. clin. Invest.*, 38: 2091-9, 1959.
15. CAWSON, R. A. – Chronic oral candidosis, denture stomatitis and hiperplasic candidosis. *In: Symposium on Candida infections*. Annals. London, Livingstone, 1966. p. 139.
16. CAWSON, R. A. – Denture sore mouth and angular cheilitis. *Brit. dent. J.*, 115: 441-9, 1963.
17. CAWSON, R. A. – Thrush in adult out-patient. *Dent. Practit. dent. Rec.*, 15: 361-4, 1965.
18. COONS, A. H. & KAPLAN, M. H. – Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigens by means of fluorescent antibody. *J. exp. Med.*, 91: 1-13, 1950.
19. COONS, A. H.; GREECH, H.; JONES, R. N. & BERLINER, E. – The demonstration of pneumococcal antigens in tissue by the use of fluorescent antibody. *J. Immunol.*, 45: 159-70, 1942.
20. CRAIG, J. M. & FARBER, S. – The development of disseminated visceral mycosis during therapy for acute leukemia. *Am. J. Pathol.*, 29: 601, 1953.

21. DAVENPORT, J. C. – The oral distribution of *Candida denture stomatitis*. *Br. dent. J.*, 129: 151-6, 1970.
22. DIAMOND, R. D.; CLARK, R. A. & HAUDENSCHILD, C. C. – Damage to *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae by myeloperoxidase system and oxidation products of neutrophilic metabolism "in vitro". *J. clin. Invest.*, 66: 909-17, 1980.
23. DIAMOND, R. D.; KRZESICKI, R. & JAO, W. – Damage to pseudohyphal forms of *Candida albicans* by neutrophils in the absence of serum "in vitro". *J. clin. Invest.*, 61: 349-59, 1978.
24. DOLON, W. C. – Immunology in dentistry. *J. am. dent. Ass.*, 100: 220-31, 1980.
25. ENESTRÖM, S.; HED, J. & HUTMAN, P. – Detection of immune deposits in glomeruli: a comparative study of paraffin embedded, enzyme treated sections and cryostat sections as substrates in immunofluorescence. *J. Immunol. Methods.*, 37: 343-51, 1980.
26. FISKER, A. V.; SCHÖTT, C. R. & PHILIPSEN, H. P. – Short term oral candidosis in rats, with special reference to the site of infection. *Acta pathol. microbiol. scand., Sect. B*, 90: 49-57, 1982.
27. GREENBERG, M. S. & COHEN, G. – Oral infection in immunosuppressed renal transplant patients. *Oral Surg.*, 43: 879-85, 1977.
28. GORDON, M. A. – Differentiation of yeast by means of fluorescent antibody. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 97: 694-8, 1958.
29. GORDON, M. A.; ELLIOT, J. C. & HAWKINS, T. W. – Identification of *Candida albicans*, other *Candida* species and *Torulopsis glabrata* by means of immunofluorescent. *Sabouraudia*, 5: 323-8, 1967.
30. HASENCLEVER, H. F. & MITCHELL, W. – Antigenic studies of *Candida*. I. Observations of two antigenic groups in *Candida albicans*. *J. Bacteriol.*, 82: 570-3, 1961.
31. HOWLETT, J. A. & SQUIER, C. A. – *Candida albicans* ultra-structures: colonizations and invasion of oral epithelium. *Infect. immun.*, 29: 252-60, 1980.
32. JENPSEN, A. & WINTHER, J. E. – Mycotic infection in oral leukoplakia. *Acta odont. scand.*, 23: 239-56, 1965.
33. JONES, J. H. & ADAMS, D. – Experimental induced acute oral Candidosis in rat. *Br. J. Dermatol.*, 83: 670-3, 1970.
34. KADE, H. & KAPLAN, L. – Evaluation of staining techniques in the histologic diagnosis of fungi. *Arch. Pathol.*, 59: 571-7, 1955.
35. KAPICA, L. & BLANK, F. – Grow of *Candida albicans* on Keratin as sole source of nitrogen. *Dermatologica (Basel)*, 115: 81-105, 1957.
36. KEMP, G. & SOLOROTOVSKY, M. – Fluorescent antibody studie of pathogenesis in experimental *Candida albicans* infections of mice. *J. Immunol.*, 88: 777-81, 1962.
37. KEYE, J. D. & MAGEE, W. E. – Fungal diseases in a general hospital, a study of 88 patients. *Am. J. clin. Pathol.*, 26: 1235-53, 1956.
38. KNIGHT, L. & FLETCHER, J. – Growth of *Candida albicans* in saliva: stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids, and diabetes mellitus. *J. infect. Dis.*, 123: 371-7, 1971.
39. KOBAYASHI, G.; FRIEDMAN, L. & KOFROTH, J. – Some cytological and pathogenic properties of *Candida albicans*. *J. Bacteriol.*, 88: 795-801, 1964.
40. LEHNER, T. – Immunofluorescent investigation of *Candida albicans* antibodies in human saliva. *Arch. oral Biol.*, 10: 975-80, 1965.
41. LEHNER, T. – Immunofluorescent study of *Candida albicans* candidiasis, carriers and controls. *J. Pathol. Bacteriol.*, 91: 97-104, 1966.

42. LEHNER, T. – Oral candidosis. *Dent. Practit.*, 17: 209-16, 1967.
43. LEHNER, T. Symposium on denture sore mouth. III. Immunofluorescent investigation of Candida. *Dent. Practit.*, 16: 142-5, 1965.
44. LEHNER, R. I. & CLINE, M. J. – Interaction of *Candida albicans* with human leukocytes and serum. *J. Bacteriol.*, 98: 996-1004, 1969.
45. LEHNER, R. I.; LADRA, K. M. & HAKE, R. B. – Nonoxidative fungicidal mechanisms of mammalian granulocytes, demonstration of components with candidacidal activity in human, rabbit, and guinea pig leukocytes. *Infect. Immun.*, 11: 1226-34, 1975.
46. LOPEZ-MARTINEZ, R. – Características inmunológicas en candidosis. *Prensa med. mex.*, 39: 468-71, 1974.
47. MAIBACK, H. I. & KLIGMAN, A. M. – The biology of experimental human cutaneous moniliasis. *Arch. Dermatol.*, 85: 233-56, 1962.
48. MAJEESKY, S. & MACURA, A. B. – The incidence of yeast like fungi in denture wearers oral cavities. *Mykosen*, 23: 516-24, 1980.
49. MONTIES, L. F. & WILBORN, W. H. – Ultrastructural features of host-parasite relationship in oral candidiasis. *J. Bacteriol.*, 96: 1349-56, 1968.
50. NAIRN, R. I. – Nystatin and amphotericin C in the treatment of denture relates candidiasis. *Oral Surg.*, 40: 68-75, 1975.
51. NEWTON, A. V. – Denture sore mouth, a possible aetiology. *Br. dent. J.*, 112: 357-60, 1962.
52. NYQUIST, G. – A study of denture sore mouth: an investigation of the oral mucosa arising from the use of full dentures. *Acta odont. scand.*, 10 (Suppl. 9): 1-123, 1952.
53. OLSEN, I. & BIRKELAND, J. M. – Denture stomatitis: yeast occurrence and the pH of saliva and denture plaque. *Scand. J. dent. Res.*, 85: 130-4, 1977.
54. PHILIPSEN, H. P.; CLEATON-JONES, P. & FISHER, A. – Correlative light microscopic and scanning completely and incompletely orthokeratinized rat oral epithelium. *Scand. J. dent. Res.*, 90: 255-62, 1982.
55. POULTER, R.; JEFFERY, K.; HUBBARD, M. J.; SHEPHERD, M. G. & SULLIVAN, P. A. – Parasexual genetic analysis of *Candida albicans* by spheroplast fusion. *J. Bacteriol.*, 146: 833-40, 1981.
56. PRYOR, W. J. – Antiseptics for use in the mouth of denture patients. *Appolonia*, 11: 147-62, 1936.
57. RITCHIE, G. M.; FLETCHER, A. M.; MAIN, D. M. G. & PROPHET, A. S. – The etiology exfoliative cytology and treatment of denture stomatitis. *J. prosth. Dent.*, 22: 185-200, 1969.
58. SAINT-MARIE, G. A. – A paraffin embedding technich for studies employing immunofluorescence. *J. Histochem. Cytochem.*, 10: 550-7, 1962.
59. SHAKIR, B. S.; MARTIN, M. V. & SMITH, C. J. – Induced palatal candidosis i the wistar rat. *Arch. oral Biol.*, 26: 787-93, 1981.
60. SHEPHERD, M. G. – Candidiasis: an infectious disease of increasing importance. *N. Z. dent. J.*, 78: 89-93, 1982.
61. STALLYBRASS, F. C. – Candida precipitins. *J. Pathol. Bacteriol.*, 87: 89-97, 1964.
62. SUMMERS, D. F.; GROLLMAN, A. P. & HASENCLEVER, H. F. – Polysaccharide antigens of candida cell was. *J. Immunol.*, 92: 491-9, 1964.
63. SVIHLA, G.; SCHLENK, F. & DAINKO, J. L. – Spheroplasts of yeast *Candida utilis*. *J. Bacteriol.*, 82: 808-14, 1961.

64. TASCHDJIAN, C. L.; KOZIN, P. J.; FINK, H.; CUESTA, M. B.; CAROLINE, L. & KANTROWITZ, A. B. – Post mortem studies of systemic candidiasis. I. Diagnostic validity of precipitation to cytoplasmatic candidal antigens. *Sabouraudia*, 7: 110-7, 1969.
65. TASCHDJIAN, C. L.; KOZIN, P. J.; OKAS, A.; CAROLINE, L. & HALLE, M. A. – Serodiagnosis of systemic candidiasis. *J. Infect. Dis.*, 117: 180-7, 1967.
66. TASCHDJIAN, C. L.; TONI, E. F.; HSU, K. C.; SEELIG, M. S.; CUESTA, M. B. & KOZIN, P. J. – Immunofluorescence studies of *Candida* in human reticuloendothelial phagocytes: implications for immunogenesis and pathogenesis of systemic candidiasis. *Am. J. clin. Pathol.*, 56: 50-8, 1971.
67. TRONCHIN, G.; POULAIN, D. & VERNES, A. – Cytochemical and ultrastructural studies of *Candida albicans*. III. Evidence for modifications of the cell wall coat during adherence to human buccal epithelial cells. *Arch. Microbiol.*, 139: 221-4, 1984.
68. UNTERKIRCHER, C. S. – *Candidíase crônica atrófica (pesquisa de anticorpos específicos para C. albicans no soro e na saliva de portadores da doença)*. São Paulo, Faculdade de Odontologia, USP, 1980. (Tese – Mestrado)
69. WINNER, H. I. – The epidemiology of candidosis. In: ALDOORY, Y. – *The epidemiology of human mycotic diseases*. Springfield, Thomas, 1975. p. 152-7.

Recebido para publicação em 21.11.1989