

Comparação entre a citologia em base líquida e a citologia esfoliativa convencional no diagnóstico da candidose bucal

Rodrigo SANDRIN^a, Eduardo Bauml CAMPAGNOLI^a, Beatriz Helena Sottile FRANÇA^b,
Antonio Adilson Soares de LIMA^c

^aPós-graduando em Odontologia, Curso de Odontologia,

PUCPR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 80215-901 Curitiba - PR, Brasil

^bProfessora do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Curso de Odontologia,

PUCPR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 80215-901 Curitiba - PR, Brasil

^cProfessor do Departamento de Estomatologia, Curso de Odontologia,

UFPR – Universidade Federal do Paraná, 80210-170 Curitiba - PR, Brasil

Sandrín R, Campagnoli EB, França BHS, Lima AAS. Comparison between liquid based cytology and conventional exfoliative cytology in the diagnosis of oral candidoses. Rev Odontol UNESP. 2010; 39(1): 33-39.

Resumo

Objetivo: O objetivo deste estudo foi comparar a eficácia da citologia esfoliativa em base-líquida (CBL) e da citologia esfoliativa convencional (CEC) no diagnóstico da candidose bucal. **Material e método:** a amostra foi dividida em dois grupos: a) grupo experimental – formado por 27 indivíduos com candidose bucal (submetidos a CBL e CEC) e b) grupo controle – composto por 30 indivíduos sem nenhuma lesão bucal (submetidos a CBL). Além de avaliar a eficácia dos métodos no diagnóstico de candidose bucal, procurou-se comparar a qualidade das imagens microscópicas, a associação da presença de hifas e/ou pseudohifas com o tipo de célula epitelial e a eficácia de aplicação dos dois métodos após o tratamento com antifúngico. Os esfregaços foram processados em laboratório, analisados por microscopia de luz e submetidos à análise estatística por meio do teste do Qui-quadrado ($p < 0,05$). **Resultado:** Os resultados mostraram que a CBL foi mais eficaz do que a CEC devido ao maior número de lâminas contendo hifas e/ou pseudohifas, bem como pela quantidade e dispersão mais uniformes das células epiteliais, o que caracterizou a qualidade superior das imagens neste método. Ao se avaliar a associação de hifas e/ou pseudohifas com o tipo de célula epitelial mais encontrado, observou-se que tanto na CBL quanto na CEC as referidas estruturas estavam mais associadas com células das camadas superficial nucleada e intermediária. **Conclusão:** embora a citologia em base líquida tenha sido tecnicamente superior à citologia esfoliativa convencional na confecção de lâminas com melhor qualidade e favorecendo a detecção de hifas e pseudohifas, a CBL não demonstrou resultados satisfatórios como um método seguro para o diagnóstico da candidose oral.

Palavras-chave: Citologia; candidíase; diagnóstico bucal; mucosa bucal; saúde bucal.

Abstract

Objective: The aim of this study was to compare the efficiency of the liquid based cytology (LBC) and conventional exfoliative cytology (CEC) in the diagnosis of oral candidosis. **Material and method:** The sample was divided in two groups: a) experimental group – composed by 27 individuals with oral candidosis (submitted to LBC and CEC) and b) control group – composed by 30 individuals with no oral lesion (submitted to LBC). Besides, the quality of the cytological smears; the association between hyphae and/or pseudohyphae with the type of epithelial cell; and the efficacy of the two methods after the treatment with antifungal medication were evaluated. The smears were processed in the laboratory, analyzed by light microscopy and submitted to statistical analysis using Chi-square test ($P < 0.05$). **Result:** There were more smears exhibiting hyphae and/or pseudohyphae in LBC than CEC. Besides, the quantity and the more uniform dispersion of the epithelial cells on the slide were more present. Thus, this method showed the best quality of the cytological smears. When the association between hyphae and/or pseudohyphae with the type of epithelial cell was analyzed, both LBC (experimental and control groups) and CEC demonstrated that these structures were more associated with nucleated superficial and intermediary epithelial cells. **Conclusion:** Even so LBC has been technically superior than CEC to the preparing of best quality slides and favoring to the detection of hyphae and/or pseudohyphae. Nevertheless, it did not show satisfactory results as a safe method to the diagnosis of oral candidosis.

Keywords: Cytology; candidiasis; oral diagnosis; mouth mucosa; oral health.

INTRODUÇÃO

A candidose bucal é a infecção fúngica que mais acomete os humanos e apresenta uma variedade de manifestações clínicas, o que torna o seu diagnóstico algumas vezes difícil.¹ De acordo com Odds,² o diagnóstico de candidose bucal e candidose bucofaríngea não pode ser feito adequadamente somente por meio dos achados clínicos. O diagnóstico desta enfermidade deve ser baseado na presença de sinais clínicos compatíveis com candidose aliada à observação de hifas/pseudohifas na citologia esfoliativa ou ao grande crescimento de espécies de *Candida* em meios de cultura.

Os esfregaços citológicos são atualmente coletados por meio da fricção nos tecidos lesionados com o auxílio de espátulas ou escovas e, em seguida, corados pelo método de GRAM ou pelo PAS e examinados microscopicamente, para verificar se há a presença de hifas ou leveduras de *Candida*.³ A presença em grande número destas estruturas indica infecção ativa por este fungo. Além disso, quando *Candida albicans* for a espécie envolvida na patogênese da lesão, as formas de hifas e pseudohifas são facilmente observadas por meio de microscopia.²

O exame microscópico de células descamadas obtidas por raspagem ou por meio de escovas sobre as mucosas permite a identificação de várias doenças. Há mais de cinquenta anos, o teste de Papanicolaou é o método de escolha nas atividades de rotina dos ambulatórios de ginecologia.⁴ Por outro lado, o uso de esfregaços citológicos para o diagnóstico das lesões bucais não é muito frequente entre os cirurgiões-dentistas.⁵ O uso da citologia esfoliativa em boca foi mais frequente no período de 1955 a 1975. Desde então, houve um declínio de sua aplicação clínica devido à natureza subjetiva de sua interpretação e porque ela gerava muitos resultados falsos negativo.⁶

Recentemente, houve um avanço na área de citopatologia com o desenvolvimento da citologia em base líquida. Esta tecnologia foi aprovada, em maio de 1996, para uso em citologia ginecológica pelo FDA (*United States Food and Drug Administration*). No entanto, somente no ano 2000, essa técnica citológica chegou ao Brasil.⁷ A citologia em base líquida é um método usado para o processamento de células preservadas numa solução líquida e que são transferidas para uma lâmina histológica.^{8,9} O material colhido pode ser avaliado por outras técnicas, como: imunocitoquímica, biologia molecular e citometria de fluxo. A citologia em base líquida tem sido aplicada com bons resultados na citologia esfoliativa nos tratos pulmonar, urinário, gastrointestinal e na boca.⁹⁻¹² Além disso, é uma técnica que permite a avaliação de efusões serosas.¹³

A citologia em base líquida pode ser considerada como um esforço para tornar o preparo citológico mais representativo.¹⁴ Por ser uma técnica recente, ainda há poucos estudos na área da Odontologia visando ao diagnóstico de lesões bucais. Dessa forma, há a necessidade da realização de novas pesquisas utilizando esta tecnologia dentro da área estomatológica, para verificar a sua real contribuição no diagnóstico de lesões bucais. Este trabalho teve como objetivo comparar a citologia em base líquida com a citologia esfoliativa convencional no diagnóstico da candidose bucal.

MATERIAL E MÉTODO

O protocolo desta pesquisa foi submetido a apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)/Curitiba - PR (Parecer nº. 77).

1. Amostra

Cinquenta e sete pacientes da Clínica de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) e do Asilo São Vicente de Paulo fizeram parte deste estudo. A amostra foi dividida em dois grupos: a) grupo experimental – formado por 27 pacientes do gênero feminino, com média de idade de 66,8 anos e com diagnóstico clínico de candidose bucal, e b) grupo-controle – composto por trinta participantes do gênero feminino, com média de idade de 65 anos, sem doenças sistêmicas, não usuários de medicação indutora de hipossalivação e sem nenhuma lesão bucal.

2. Coleta de Dados

Os dados pessoais e a história médica pregressa foram registrados. O diagnóstico de candidose bucal foi baseado nos sinais e sintomas clínicos, na resposta positiva à terapia antifúngica com nistatina suspensão oral e por meio da citologia esfoliativa.

Os indivíduos portadores de candidose bucal foram examinados pela citologia esfoliativa convencional e pela citologia em base líquida, enquanto que os do grupo-controle foram submetidos somente à citologia em base líquida.

Para o grupo experimental, a coleta de células foi realizada na mucosa oral que exibiu sinais clínicos da infecção. A execução das técnicas citológicas no grupo experimental foi realizada de forma aleatória, ora citologia esfoliativa convencional, ora citologia em base líquida. Após a realização dos esfregaços, os indivíduos do grupo experimental foram tratados por sete dias com um protocolo de bochechos de nistatina suspensão oral 100.000 UI (6/6 horas). Ao término do tratamento, para confirmação de sua validade, foram aplicados novamente os dois sistemas citológicos.

A coleta do material por meio da citologia em base líquida foi realizada por meio do kit do Sistema DNA-CITOLIQ® seguindo as orientações do fabricante. Para a coleta de células por meio da citologia esfoliativa convencional, realizou-se uma raspagem com espátula metálica, de modo firme na região da mucosa. O material colhido foi transferido imediatamente para as lâminas de vidro e fixado em álcool absoluto.

3. Processamento Laboratorial

As amostras foram enviadas ao Laboratório de Estomatologia da PUCPR para a realização do processamento laboratorial. As lâminas da citologia esfoliativa em base líquida foram preparadas conforme as recomendações fornecidas pelo fabricante e as lâminas de citologia esfoliativa convencional foram preparadas conforme técnica consagrada na literatura. Todas as lâminas foram coradas por meio da Coloração de Papanicolaou.

No total, foram analisadas 138 lâminas – 84 do método de citologia em base líquida (54 no grupo experimental – divididas

em dois momentos: pré e pós-tratamento – e 30 no grupo controle) e 54 do método de citologia esfoliativa convencional (também divididas em dois momentos: pré e pós-tratamento). Todas as lâminas foram realizadas em duplicata. Além disso, para evitar viés durante a análise microscópica, todas as identificações das lâminas foram previamente mascaradas. A leitura das lâminas foi realizada pelo mesmo indivíduo que realizou a coleta das amostras, tendo sido devidamente treinado para identificar as estruturas celulares, as hifas e as leveduras nas lâminas por dois profissionais (um patologista oral e um patologista médico).

A análise dos esfregaços foi feita por meio de microscopia de luz, na qual se utilizou um microscópio binocular BX - 40 adaptado com oculares WH 10X-H/22 e objetivas PLAN 4×/0,10, 10×/0,25, 20×/0,40 e 40×/0,65 (Olympus, Japan). Para a análise qualitativa, procedeu-se à técnica de varredura em toda a extensão da lâmina, onde se observou a presença de muco, células inflamatórias, hemácias, debris, artefatos, a sobreposição celular e as características morfológicas das células epiteliais presentes. O diagnóstico citológico de candidose bucal era confirmado quando o esfregaço exibia a presença de hifas e/ou pseudohifas coradas em rosa e de leveduras. Além disso, as células epiteliais associadas deveriam apresentar severas alterações morfológicas de natureza inflamatória, como halo perinuclear e marginalização da cromatina.¹⁵

Na avaliação quantitativa, selecionaram-se dois campos citológicos aleatoriamente, sendo a imagem capturada em uma ampliação de duzentas vezes, por uma câmera de vídeo acoplada ao microscópio; a contagem das células foi realizada por meio de um sistema analisador de imagens *Image-Pro Plus* (*Media Cybernetics, Silver Spring Md*).

A análise da quantidade e da dispersão das células foi baseada nos critérios propostos por Ogden et al.¹⁶ Foram contadas cem células ao acaso em até quatro campos citológicos (com aumento de 200×), levando-se em consideração a quantidade de células epiteliais superficiais anucleadas e nucleadas, células intermediárias e da camada basal.

Para classificar a quantidade de células epiteliais presentes em cada lâmina, foram propostos os seguintes critérios: código 0 - empregado quando poucas células (0-10 células por campo) eram observadas; código 1 - para um moderado número de células (11-30 células); código 2 - para muitas células (mais de 30 células por campo examinado).

Além disso, avaliou-se a dispersão celular por meio dos seguintes critérios: código 0: agrupamentos de células, com muito poucas células isoladas; código 1: alguns agrupamentos, porém com adequado número de células isoladas; código 2: nenhum agrupamento e várias células isoladas; código 3: nenhum agrupamento e pouquíssimas células isoladas.

A análise da associação entre leveduras, hifas e/ou pseudo-hifas com o tipo de célula epitelial mais encontrado foi realizada associando-se as lâminas com a presença das ditas estruturas ao tipo de célula epitelial.

A eficácia de aplicação da citologia em base líquida e da citologia esfoliativa convencional após o tratamento foi avaliada pela concordância entre o desaparecimento ou não das lesões

de candidose associado ao diagnóstico contido nos laudos citopatológicos (hifas e/ou pseudohifas presentes ou ausentes).

4. Análise Estatística

Para avaliar se existia dependência entre as variáveis cruzadas (técnicas citológicas vs. a presença de hifas e/ou pseudohifas, a quantidade de células epiteliais presentes nos esfregaços, a associação de hifas e/ou pseudohifas com as células epiteliais) e a eficácia de aplicação dos dois métodos após o tratamento proposto, utilizou-se o teste do Qui-quadrado, em um nível de probabilidade $p < 0,05$.

RESULTADO

A população investigada constituiu-se de indivíduos adultos e brasileiros, do gênero feminino e com média de idade 65,9 anos, sendo a idade mínima 33 e a máxima, 94 anos. O número de participantes e as formas clínicas de candidose bucal encontradas no grupo experimental estão apresentados na Tabela 1. Os casos de estomatite protética acometiam o palato duro na região correspondente à área em contato com a prótese total superior. Já as demais formas clínicas (eritematosa e pseudomembranosa) envolviam diversas localizações anatômicas (palato mole, língua, soalho, palato duro e mucosa jugal).

Ao se avaliarem os esfregaços do grupo experimental quanto à presença de leveduras, hifas e/ou pseudohifas, observou-se que ocorreram 16 casos positivos para a citologia em base líquida e nove para a citologia esfoliativa convencional. No grupo-controle, dos trinta participantes clinicamente sem candidose, três apresentaram hifas e/ou pseudohifas. A presença de leveduras nos esfregaços só foi observada em dois esfregaços da citologia em base líquida. A citologia em base líquida foi superior à citologia esfoliativa convencional no diagnóstico de candidose bucal, com percentagens de 59,26 e 33,33%, respectivamente (Tabela 2).

Quanto à quantificação de células epiteliais presentes nos esfregaços (Tabela 3), constatou-se que o número de lâminas contendo muitas células foi maior no método de citologia em base líquida (código 2 - 21 lâminas) quando comparado com a citologia esfoliativa convencional (código 2 - 17 lâminas). Além disso, o número de esfregaços pela citologia esfoliativa convencional com poucas células foi consideravelmente maior (código 0 - 6 lâminas), visto que no método de citologia em base líquida elas não ocorreram na referida quantidade.

A Tabela 4 apresenta os resultados da avaliação da dispersão celular. A citologia em base líquida mais uma vez demonstrou melhores resultados do que a citologia esfoliativa convencional, pois se observou um maior número de lâminas com agrupamentos de células, mas com adequado número de células isoladas para análise (código 1 - 18 lâminas). Este resultado está diretamente relacionado à maior observação de hifas e/ou pseudohifas nas lâminas confeccionadas pelo método de citologia em base líquida, o qual permite uma melhora na visualização das referidas estruturas.

Ao associar a presença de hifas e/ou pseudohifas com o tipo de célula epitelial mais encontrado, observou-se uma distribuição

Tabela 1. Distribuição dos participantes da amostra

Grupos	Número de pacientes	%
Candidose eritematosa	9	15,80
Estomatite protética	17	29,82
Candidose pseudomembranosa	1	1,75
Controle	30	52,63
Total	57	100,00

Tabela 2. Presença de hifas e/ou pseudohifas nos grupos experimental e controle

Método	Hifas e/ou pseudohifas				Total n
	Presentes		Ausentes		
	n	%	n	%	
Citologia em base líquida experimental	16	59,26	11	40,74	27
Citologia esfoliativa convencional	9	33,33	18	66,67	27
Citologia em base líquida controle	3	10,00	27	90,00	30

Nota: Qui-quadrado = 15,5170; p = 0,000427.

Tabela 3. Comparação da quantidade de células presentes em cada lâmina, de acordo com o método de coleta

Método	Quantidade de células						Total n
	Código 0*		Código 1**		Código 2***		
	n	%	n	%	n	%	
Citologia em base líquida experimental	0	0,00	6	22,22	21	77,78	27
Citologia esfoliativa convencional	6	22,22	4	14,81	17	62,97	27
Citologia em base líquida controle	0	0,00	9	30,00	21	70,00	30

Nota: Qui-quadrado = 14,5404; p = 0,005763. *Poucas células; **Moderado número de células; ***Muitas células.

uniforme daquelas estruturas entre células das camadas superficial nucleada e intermediária (Tabela 5), tanto na citologia em base líquida (somando-se os dados dos grupos experimental e controle) quanto na citologia esfoliativa convencional (grupo experimental).

Ao término do tratamento, os participantes do grupo experimental foram avaliados por meio de exame clínico e citológico (pelos dois métodos propostos) para comprovar a remissão ou não da candidose. Dos 27 participantes (representados por 54 lâminas, sendo 27 de cada um dos métodos), 12 apresentaram remissão dos sinais clínicos e laudo citopatológico negativo (nos dois métodos). Os 15 participantes restantes apresentaram remissão parcial das lesões. Destes, 11 continham laudos citopatológicos negativos e quatro positivos, quando avaliados pela citologia em base líquida. Pelas lâminas da citologia esfoliativa convencional, 12 tiveram laudos citopatológicos negativos e três, positivos (Tabela 6).

DISCUSSÃO

A citologia esfoliativa é um recurso semiotécnico de grande valia, principalmente na avaliação de alterações celulares das mucosas quando uma biópsia não está indicada.¹⁷ Citologicamente, a presença de leveduras e pseudohifas ou hifas entre grupos de células epiteliais esfoliadas com alterações de natureza inflamatória pode ser utilizada para estabelecer a presença e a evidência de invasão.¹⁵ Além disso, sabe-se que a presença de leveduras espalhadas adjacentes às células epiteliais e sem a observação de hifas é sugestiva de um estado comensal.¹⁸

O presente estudo demonstrou que a citologia em base líquida é tecnicamente superior na detecção de hifas e/ou pseudohifas caracterizando o quadro clínico de candidose bucal, quando comparada à técnica convencional. O maior número de esfregaços exibindo hifas e/ou pseudohifas no método da citologia em base líquida pode ser explicado pela maior quantidade de lâminas apresentando moderado número de células epiteliais, diferentemente das lâminas com muitas células, obtido pelo método convencional. É importante notar que a esta eficácia, alia-se a sua maior praticidade técnica durante a coleta do esfregaço.

No entanto, foi observado que 11 participantes (40,74%) clinicamente portadores de candidose bucal não apresentaram hifas e/ou pseudohifas pelo método da citologia em base líquida. Uma explicação plausível para este resultado é o fato de a citologia em base líquida promover uma filtragem das estruturas que não interessam ao patologista durante a leitura da lâmina, como células inflamatórias, hemácias e debris. Outro fator que pode ter contribuído para esta falha no diagnóstico está relacionado à presença dos agrupamentos de células, mesmo nas lâminas com adequado número de células isoladas. As áreas com esfregaços espessos, mesmo que menos frequentes na citologia em base líquida, podem ter dificultado a visualização das hifas e/ou pseudohifas.

Com relação aos 18 (66,67%) casos não diagnosticados pelo método da citologia esfoliativa convencional, a maioria deles apresentava algum tipo de artefato: desde ruptura ou distorção celular e presença de muco até pouca quantidade de células na

Tabela 4. Comparação da dispersão celular, de acordo com o método de coleta

Método	Dispersão celular								
	Código 0*		Código 1**		Código 2***		Código 3****		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Citologia em base líquida experimental	9	33,33	18	66,67	0	0,00	0	0,00	27
Citologia esfoliativa convencional	12	44,44	10	37,04	0	0,00	5	18,52	27
Citologia em base líquida controle	0	0,00	30	100,0	0	0,00	0	0,00	30

Nota: Qui-quadrado = 31,0805; p = 0,000003; *Agrupamentos de células, com muito poucas células isoladas; **Alguns agrupamentos, porém com adequado número de células isoladas; ***Nenhum agrupamento e várias células isoladas; ****Nenhum agrupamento e pouquíssimas células isoladas.

Tabela 5. Associação de hifas e/ou pseudohifas nos grupos experimental e controle com o tipo de célula epitelial bucal

Presença de hifa / pseudohifa nos métodos	Tipo de célula epitelial						
	Superficial anucleada		Superficial nucleada		Intermediária		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Citologia em base líquida experimental	0	0,00	6	37,50	10	62,50	16
Citologia esfoliativa convencional	0	0,00	5	55,56	4	44,44	9
Citologia em base líquida controle	0	0,00	3	100,00	0	0,00	3

Nota: Qui-quadrado = 4,1110; p = 0,128022.

Tabela 6. Eficácia de aplicação dos dois métodos após o tratamento proposto

Método	Sinais clínicos e laudo citopatológico após o tratamento						
	C - H/PH		NC - H/PH		NC + H/PH		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Citologia em base líquida experimental	12	44,44	11	40,74	4	14,82	27
Citologia esfoliativa convencional	12	44,44	12	44,44	3	11,12	27

Nota: Qui-quadrado = 0,186365; p = 0,000000; C - H/PH = Participantes curados e sem observação de hifas e/ou pseudohifas. NC - H/PH = Participantes não curados e sem observação de hifas e/ou pseudohifas. NC + H/PH = Participantes não curados e com observação de hifas e/ou pseudohifas.

lâmina; ou o inverso, com muitas células, porém com diversos agrupamentos, o que pode ter impedido a visualização das hifas e/ou pseudohifas. Das 18 (66,67%) lâminas com resultado negativo para *Candida*, 12 (44,44%) apresentaram-se com grande número de agrupamentos celulares e/ou poucas células coletadas. Na primeira situação, os esfregaços espessos impediam a visualização das hifas e/ou pseudohifas e, na segunda, a pequena quantidade de células presentes não referenciou a presença daquelas estruturas. Os seis (22,22%) casos restantes, apesar de apresentarem um considerável número de células epiteliais, não revelaram positividade para *Candida*. A não observação de hifas e/ou pseudohifas nas lâminas confeccionadas pelo método da citologia esfoliativa convencional corrobora com os resultados de Lemos et al.,¹⁹ segundo os quais somente 19% de sua amostra com estomatite protética e coletada com espátula metálica revelou positividade para *Candida*. Ao contrário, as coletas realizadas nas superfícies das próteses dos mesmos participantes evidenciaram hifas em 80% dos casos.

No grupo controle, das trinta lâminas analisadas, três esfregaços revelaram a presença de hifas e/ou pseudohifas, mesmo na ausência de sinais clínicos de candidose bucal. Este

resultado corrobora com os achados de Arendorf, Walker,²⁰ que observaram hifas em esfregaços de indivíduos saudáveis.

Qualquer que seja o instrumento de coleta escolhido para a citologia esfoliativa, este deve assegurar um adequado número de células epiteliais, distribuindo-as igualmente na superfície da lâmina.²¹ Estes requisitos são essenciais para se obter um diagnóstico citopatológico seguro e confiável, corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa pela citologia em base líquida.

A citologia esfoliativa convencional foi menos satisfatória que a citologia em base líquida no que diz respeito à quantidade de células por lâmina analisada. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Ogden et al.,¹⁶ que mostraram que as espátulas coletam bem menos células do que as escovas citológicas.

Ambos os métodos de coleta apresentaram agrupamentos de células ao se analisar o grau de dispersão celular. Entretanto, a citologia em base líquida apresentou mais lâminas com agrupamentos – porém com adequado número de células isoladas – do que a citologia esfoliativa convencional. Estes resultados estão de acordo com os achados de outros estudos.^{16,22,23}

A citologia em base líquida remove bastante muco, proteínas e hemácias, além de distribuir as células uniformemente, aperfeiçoar a fixação da amostra, controlar a densidade celular, realçar os detalhes do núcleo, reduzir as preparações escassas e eliminar artefatos.²³

Outro dado importante associado à dispersão celular refere-se ao fato de que mesmo apresentando lâminas com agrupamentos de células, mas com adequado número de células isoladas, a citologia em base líquida revelou células com distribuição mais regular e uniforme do que a citologia esfoliativa convencional. Esta distribuição mais uniforme relaciona-se diretamente com a suspensão das células da amostra, que resulta em finas camadas de células na superfície das lâminas.^{24,25}

Os resultados referentes à associação entre hifas e/ou pseudo-hifas com o tipo de célula epitelial mais observado obtidos neste trabalho discordam dos achados por Williams et al.,²⁶ os quais observaram grande número de estruturas de *Candida* associadas a células epiteliais coradas em vermelho, seguidas pelas células epiteliais coradas em verde e laranja. Nesta pesquisa, os resultados revelaram hifas e/ou pseudohifas relacionando-se quase que igualmente com células vermelhas (superficiais nucleadas) e verdes (intermediárias), tanto na citologia em base líquida (quando somados os dados dos grupos experimental e controle) quanto na citologia esfoliativa convencional. Entretanto, é importante ressaltar que a pesquisa de Williams et al.²⁶ foi realizada misturando quantidades iguais de soluções contendo células epiteliais (coletadas de indivíduos saudáveis) com soluções contendo *Candida*, diferindo do presente trabalho, no qual as análises foram realizadas em lâminas de indivíduos com e sem candidose.

Após uma semana da instituição do tratamento à base de nistatina, os participantes do grupo experimental foram reavaliados por meio de exame clínico e citológico, a fim de se observar se o quadro de candidose havia regredido. Dos

27 indivíduos submetidos ao exame pela citologia em base líquida, 15 continuaram apresentando os achados clínicos característicos de candidose bucal. Deste total, 11 indivíduos não apresentavam hifas e/ou pseudohifas, mas continuavam a exibir sinais clínicos da doença. Um resultado semelhante também foi evidenciado no grupo submetido à citologia esfoliativa convencional. Este fato pode estar associado ao quadro inflamatório que o organismo deflagra em resposta à infecção. Até pouco tempo atrás, se admitia que o decréscimo da resposta inflamatória significasse que, desaparecendo a irritação, se diminuiria também a produção dos mediadores químicos e, em consequência, os fenômenos vasculares e exsudativos se reduziriam. No entanto, os mecanismos locais de resolução das inflamações são eventos múltiplos e complexos; em seu conjunto, envolvem: (a) alterações em receptores nas células do exsudato e dos tecidos; (b) formação local de mediadores com efeito anti-inflamatório; (c) mudança no comportamento das células do exsudato, que tendem a apoptose ou, quando sobreviventes, passam a exercer uma função anti-inflamatória, e (d) exsudação de células com função reguladora.²⁷

Dessa forma, novos estudos envolvendo a citologia em base líquida se fazem necessários, pois qualquer medida que focalize uma melhoria na qualidade dos esfregaços terá um impacto positivo no diagnóstico citológico, principalmente das lesões que acometem a mucosa oral de natureza infecciosa.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a citologia em base líquida é tecnicamente superior à citologia esfoliativa convencional, pois produz lâminas com uma quantidade satisfatória de células epiteliais desagrupadas, fato que favorece a detecção de hifas e pseudohifas. No entanto, esta técnica não demonstrou resultados satisfatórios que a indiquem como um método seguro para o diagnóstico da candidose bucal.

REFERÊNCIAS

1. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral & maxillofacial pathology. 2nd. ed. Philadelphia: W B Saunders; 2002.
2. Odds FC. Mycology in oral pathology. Acta Stomatol Belgica. 1997;94:75-80.
3. Lamey PJ, Samaranyake LP. Oral candidosis: 2. diagnosis and management. Dent Update. 1988;15:328-31.
4. Silverman S Jr, Becks H, Farber SM. The diagnostic value of intraoral cytology. J Dent Res. 1958;37:195-205.
5. Kaugars GE, Silverman S, Ray AD, Page EG, Abbey LM, Burns JC, et al. The use of exfoliative cytology for the early diagnosis of oral cancers: is there a role for it in education and private practice? J Cancer Educ. 1998;13:85-9.
6. Dabelsteen E, Roed-Petersen B, Smith CJ, Pindborg JJ. The limitations of exfoliative cytology for the detection of epithelial atypia in oral leukoplakias. Br J Cancer. 1971;25: 21-4.
7. Silva MCA. Citopatologia: um recurso auxiliar na prevenção do câncer bucal em pacientes do sexo masculino [dissertação mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1997.
8. Hutchinson ML, Zahniser DJ, Sherman ME, Herrero R, Alfaro M, Bratti MC, et al. Utility of liquid-based cytology for cervical carcinoma screening: results of a population-based study conducted in a region of Costa Rica with a high incidence of cervical carcinoma. Cancer. 1999;87:48-55.
9. Linder J. Recent advances in thin-layer cytology. Diagn Cytopathol. 1998;18:24-32.
10. Carpenter AB, Davey DD. ThinPrep Pap Test: performance and biopsy follow-up in a University Hospital. Cancer (Cancer Cytopathol). 1999;87:106-12.

11. Michael CW, McConnel J, Pecoitt J, Afity AM, Al-Khafaji B. Comparison of ThinPrep and TriPath Prep Liquid-Based preparations in nongynecologic specimens: a pilot study. *Diagn Cytopathol.* 2001;25:177-84.
12. Nasutti JF, Tam D, Gupta PK. Diagnostic value of liquid-based (Thinprep) preparations in nongynecologic cases. *Diagn Cytopathol.* 2001;24:137-41.
13. Rossi ED, Mulè A, Russo RM, Pierconti F, Fadda G. Application of liquid-based preparation to non-gynaecologic exfoliative cytology. *Pathologica.* 2008;100:461-5.
14. Apgar BS. New tests for cervical cancer screening. *Am F Phys.* 2001;64:729-31.
15. McKee GT. *Citopatologia.* São Paulo: Artes Médicas; 2001.
16. Ogden GR, Cowpe JG, Green M. Cytobrush and wooden spatula for oral exfoliative cytology. A comparison. *Acta Cytol.* 1992;36:706-10.
17. Burzlaff JB, Bohrer PL, Paiva RL, Visioli F, Sant'Ana Filho M, Silva VD, et al. Exposure to alcohol or tobacco affects the pattern of maturation in oral mucosal cells: a cytohistological study. *Cytopathology.* 2007;18:367-75.
18. Fotos PG, Hellstein JW. Candida and candidosis. Epidemiology, diagnosis and therapeutic management. *Dent Clin North Am.* 1992;36:857-78.
19. Lemos MMC, Miranda JL, Souza MSGS. Estudo clínico, microbiológico e histopatológico da estomatite por dentadura. *Rev Bras Patol Oral.* 2003;2:3-10.
20. Arendorf TM, Walker DM. Oral candidal populations in health and disease. *Br Dent J.* 1979;147:267-72.
21. Jones AC, Migliorati CA, Stewart CM. Oral cytology: indications, contraindications, and technique. *Gen Dent.* 1995;43:74-7.
22. Jones AC, Pink FE, Sandow PL, Stewart CM, Migliorati CA, Baughman RA. The cytobrush plus cell collector in oral cytology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;77:95-9.
23. Kahn MA. Oral exfoliative cytology procedures: conventional, brush biopsy and thinprep. *J Tenn Dent Assoc.* 2001;81:17-20.
24. Payne N, Chilcott J, McGoogan E. Liquid-based cytology for cervical screening. *Cytopathology.* 2000;11:469-70.
25. Michael CW, McConnel J, Pecott J, Afify AM, Al-Khafaji B. Comparison of ThinPrep and TriPath PREP liquid-based preparations in nongynecologic specimens: a pilot study. *Diagn Cytopathol.* 2001;25:177-84.
26. Williams DW, Walker R, Lewis MA, Allison RT, Potts AJ. Adherence of *Candida albicans* to oral epithelial cells differentiated by Papanicolaou staining. *J Clin Pathol.* 1999;52:529-31.
27. Brasileiro Filho G. *Bogliolo patologia geral.* 4ª. ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima

Professor do Departamento de Estomatologia, Curso de Odontologia, UFPR – Universidade Federal do Paraná,
80210-170 Curitiba - PR, Brasil

e-mail: antollima@hotmail.com; aas.lima@ufpr.br

Recebido: 15/07/2009

Aceito: 23/02/2010

