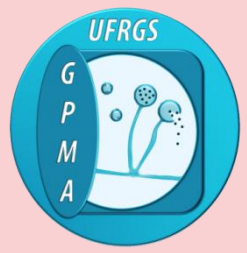


# ESTUDO *in vitro* DA FORMAÇÃO DE BIOFILME E DA POPULAÇÃO DE ISOLADOS DE *Candida* DA MUCOSA ORAL DE USUÁRIOS DE APARELHO ORTODÔNTICO FIXO



Amanda Gomes Faria<sup>1,2</sup>; Igor Oliveira Palagi de Souza<sup>1,2</sup>; Graziela Silva Camargo<sup>1,2</sup>; Dariane de Castro Pereira<sup>1,2</sup>; Rosana Fernanda Fogaça<sup>2</sup>; Michele Mezzari<sup>2,3</sup>; Adelina Mezzari<sup>4</sup>; Alexandre Meneghello Fuentefria<sup>4</sup>;



<sup>1</sup>Estudante da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

<sup>2</sup>Grupo de Pesquisa em Micologia Aplicada da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

<sup>3</sup>Odontóloga, Especialista em Ortodontia

<sup>4</sup>Professor do Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, coordenador do Grupo de Pesquisa em Micologia;



## INTRODUÇÃO

As leveduras do gênero *Candida* são constituintes da flora da mucosa oral, permanecendo neste habitat como colonizantes até encontrarem condições apropriadas para se multiplicarem, expressarem fatores de virulência, invadirem a mucosa e causarem infecção. A capacidade de aderência dessas leveduras, é um dos fatores associados ao potencial de virulência presentes nestas. Assim nota-se que a produção de biofilme em indivíduos usuários de aparelho ortodôntico fixo (AOF) é cada vez mais frequente, predispondo a patogênese quando ocorre acúmulo dessa comunidade microbiana.

## OBJETIVOS

Baseado neste contexto, este trabalho teve como objetivo isolar e identificar leveduras oriundas de indivíduos usuários e não-usuários de AOF, assim como avaliar a capacidade destes microrganismos em formar biofilme, a capacidade hemolítica dos mesmos e a formação de tubo germinativo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para o isolamento e identificação a saliva de pacientes sintomáticos e assintomáticos foi coletada com swab, sendo incubado por 24 h em caldo sabouraud com cloranfenicol, seguido de plaqueamento em ágar sabouraud, também acrescido de cloranfenicol, e incubado a 32°C durante 48 h. Com o crescimento do fungo leveduriforme, confirmado pelo exame direto, foi feita sementeira em meio cromogênico (CHROMagar® *Candida*), o qual foi incubado a temperatura de 32°C por 72 h, onde identificou-se *C. albicans* como colônias verdes, *C. krusei* como colônias rosas, *C. tropicalis* como colônias azuis, *C. glabrata* como colônias lilás e colônias brancas são outras espécies de *Candida* (PFALLER 1996). Já para verificar a produção de biofilme (Fig.2) foi feita a avaliação em triplicata pela técnica proposta por Stepanovic (2000) modificada em microplacas utilizando *S. epidermidis* ATCC 35984 como controle positivo. A formação de biofilme foi quantificada em espectrofotômetro a 570 nm e classificado como forte, médio, fraco ou não formador de biofilme, de acordo com os pontos de corte validados pela técnica. Para determinação da produção de hemólise (Fig.1), fez-se a partir de uma colônia pura, a sementeira em uma placa de ágar sangue de acordo com a técnica proposta por França (2010). A capacidade hemolítica foi observada a partir da formação de um halo de hemólise em torno do crescimento da colônia fúngica. A produção de tubo germinativo foi avaliada utilizando a técnica descrita por Neto (2004). Os isolados de *C. albicans* e *C. dubliniensis* inoculados em soro humano por 3 horas em banho-maria. Após a formação de tubo germinativo foi observada por exame direto em microscopia de luz.



Fig.1 - Procedimento para Teste de Hemólise



Fig.2 - Procedimento para Teste de Biofilme

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 127 isolados obtidos na amostragem de 326 indivíduos, 90% são de usuários de AOF, sendo 68% desses sintomáticos. Cerca de 10% dos indivíduos não utilizavam AOF, entretanto todos esses eram assintomáticos. Do total de isolados 35% são homens e 65% mulheres. Cerca de 60% dos isolados são de *C. albicans*, 19,8% de *C. krusei*, 9% de *C. Tropicalis*, 8% de *C. glabrata*, 2,4% *C. Dubliniensis*, 0,8% *C. Parapsilosis* (Fig.3). O percentual de formação de biofilme das leveduras isoladas consta na Tabela 1, onde *C. albicans* demonstrou ser a principal espécie de produtora de biofilme, com 58% dos seus isolados expressando esta atividade. Ressalta-se esse dado em virtude desta ser a espécie com maior variedade de fatores de virulência sendo prevalente em mucosas. Dos 75 isolados de *C. albicans* 87% apresentaram formação de tubo germinativo e, 67% dos isolados de *C. dubliniensis* também apresentaram este fator de virulência. Todos os isolados não foram capazes de produzir hemólise. As amostras coletadas de mulheres tiveram maior percentagem de formação de biofilme, tanto em portadoras de AOF, quanto nas não portadoras, se comparadas aos mesmos dados de indivíduos do sexo masculino. Sugerindo então, que fatores hormonais proporcionam um ambiente adequado para a colonização fúngica em seu organismo. Portanto, mulheres grávidas e, principalmente, imunodeprimidos surgem como um importante grupo de risco, devido ao sistema imune suprimido. Verifica-se aqui, a necessidade de um acompanhamento adequado por parte do profissional ortodontista, reforçando a perícia e prudência, como condições indispensáveis a qualquer tratamento realizado pelo profissional da área da saúde.

Espécies	Forte		Médio		Fraco		Não formador	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>C. albicans</i>	36	29	28	22	9	7	2	1,6
<i>C. krusei</i>	19	15	3	2,3	3	2,3	-	-
<i>C. tropicalis</i>	11	9	-	-	1	0,8	-	-
<i>C. glabrata</i>	3	2,3	3	2,3	2	1,6	2	1,6
<i>C. dubliniensis</i>	2	1,6	1	0,8	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	1	0,8	-	-	-	-	-	-

Tabela 1. Percentual de capacidade de formação de biofilme na mucosa oral de portadores e não portadores de AOF.



Fig.3 - Espécies encontradas em isolados de amostras de saliva de usuários de AOF.

## REFERÊNCIAS

### Referencias Bibliográficas:

França, E.J.G et al. Hemólise produzida por *Candida tropicalis* isoladas de amostras clínicas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.43(3):318-321, mai-jun, 2010.  
Stepanovic, S. et al/Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. APMIS 115:891-9, 2007.