

Identificação de espécies de *Candida* em saliva de profissionais da saúde¹

Identification of *Candida* species on the saliva of the hospital workers

La identificación de las especies de *Candida* en salivas de profesionales de salud

Fábio Silvestre Ataídes^I, Fernando Yano Abrão^{II}, Carolina Rodrigues Costa^{III}, Maria do Rosário Rodrigues Silva^{IV},
Fabiana Cristina Pimenta^V, Marinésia Aparecida Prado Palos^{VI}, Lúcia Kioko Hasimoto e Souza^{VII}

¹ Artigo parte da monografia de Especialização em Microbiologia apresentada ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

^I Biomédico. Mestre em Medicina Tropical. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: fabiosilvers@hotmail.com.

^{II} Acadêmico do curso de Graduação em Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Goiás (UFG). Goiânia, GO, Brasil. E-mail: yanobruce@gmail.com.br.

^{III} Biomédica. Doutora em Medicina Tropical. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: carolrc80@yahoo.com.br.

^{IV} Farmacêutica bioquímica. Doutora em Ciências (Microbiologia). Professora Titular, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), UFG. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: rosario@iptsp.ufg.br.

^V Farmacêutica bioquímica. Doutora em Ciências (Microbiologia). Professor Adjunto II, IPTSP, UFG. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: fabiana@iptsp.ufg.br.

^{VI} Enfermeira. Doutora em Enfermagem. Professor Adjunto I, Faculdade de Enfermagem, UFG. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: marinesiaprado@gmail.com.

^{VII} Biomédica. Doutora em Medicina Tropical. Professor Adjunto II, IPTSP, UFG. Goiânia, GO, Brasil. E-mail: lucia@iptsp.ufg.br.

RESUMO

As espécies de *Candida* são de ocorrência comum na cavidade bucal sendo que estas leveduras estão presentes em cerca de 50% de indivíduos saudáveis, podendo este percentual variar dependendo da população estudada. Os processos infecciosos causados por *Candida* variam de quadros clínicos benignos, a quadros graves e fatais como as infecções invasivas e disseminadas. Neste estudo foi avaliada a colonização de leveduras do gênero *Candida* em 312 amostras de saliva de profissionais do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, na cidade de Goiânia, Goiás, Brasil, durante o período de julho a dezembro de 2007. As espécies de *Candida* isoladas da saliva foram identificadas através da produção de tubo germinativo e de clamidoconídios, assimilação de carboidratos e cultivo em meio CHROMagar® *Candida*. Os profissionais estudados mostraram colonização por leveduras do gênero *Candida* em 61,9% das amostras analisadas, sendo isolados *C. albicans* (58,5%), *C. parapsilosis* (24,4%), *C. krusei* (8,3%) e *C. famata* (3,6%). A divulgação destes resultados pode servir como um auxílio para a prevenção e controle de candidíase bucal nos trabalhadores da área de saúde que vivem em contato constante com indivíduos altamente suscetíveis a infecções.

Descritores: *Cândida*; Saliva; Pessoal de saúde.

ABSTRACT

Candida species are of common occurrence in the buccal cavity and these yeasts are present in about 50% of healthy individuals. This percentage can change depending on the studied population. The infectious processes caused by *Candida* vary of benign clinical pictures, to serious and fatal pictures as the invasive infections and disseminated. In this study it was evaluated the colonization of yeasts of the *Candida* genus on 312 saliva sample of the hospital workers from "Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás" in the city of Goiânia-Goiás/Brazil, during the period from July to December of 2007. *Candida* species were identified by production of germ-tube, chlamyospore formation, assimilation sugar tests and culture on CHROMagar® *Candida*. The hospital workers analyzed presented colonization of the saliva by yeasts of the *Candida* genus in 61.9% from samples studied, being isolated *C. albicans* (58.5%), *C. parapsilosis* (24.4%), *C. krusei* (8.3%) and *C. famata* (3.6%). The publication of these results can serve as an aid for the prevention and control of oral candidiasis in the workers of the area of health that live in contact with individuals susceptible to infections.

Descriptors: *Candida*; Saliva; Health personnel.

RESUMEN

Especies de *Candida* son de ocurrencia común en la cavidad bucal y estas leveduras están presentes en cerca del 50% de individuos sanos. La frecuencia varía, dependiendo de las personas investigadas. Los procesos infecciosos causados por *Candida* varían de cuadros clínicos benignos, a los cuadros serios y fatales como las infecciones invasivas y diseminadas. En este estudio ha sido evaluado la colonización de las especies de *Candida* en la saliva de los obreros del Hospital das Clínicas de la Universidad Federal de Goiás en Goiânia, Brasil, entre julio y diciembre de 2007. El trabajo se llevó a cabo con 312 muestras de saliva. Las especies de *Candida* aisladas de la saliva fueron identificadas a través de la formación de tubo germinal y de clamidoconidio, asimilación de carbohidratos y cultivo en CHROMagar® *Candida*. En nuestro estudio, 61.9% de los trabajadores analizados del hospital presentaron colonización de la saliva por las leveduras del género *Candida*, estar aislado *C. albicans* (58.5%), *C. parapsilosis* (24.4%), *C. krusei* (8,3%) y *C. famata* (3,6%). La divulgación de estos resultados puede servir como una ayuda para la prevención y control de candidíase bucal en los trabajadores del área de salud que viven en contacto constante con individuos susceptibles a las infecciones.

Descriptorios: *Candida*; Saliva; Personal de salud.

INTRODUÇÃO

Leveduras são microrganismos comensais encontrados na pele, trato gastrointestinal e trato genital feminino⁽¹⁾. Espécies de *Candida* são de ocorrência comum na cavidade bucal sendo que estas leveduras estão presentes em cerca de 50% de indivíduos saudáveis, podendo este percentual variar dependendo da população estudada. Embora o gênero *Candida* esteja na cavidade bucal estabelecendo um estado de equilíbrio ecológico na microbiota, modificações desse equilíbrio favorecem o desenvolvimento de condições patológicas, denominadas candidíase, que se manifestam desde quadros clínicos benignos, como infecções de pele e mucosas, a quadros graves e fatais como as infecções invasivas e disseminadas⁽²⁻³⁾.

Dentre as espécies de *Candida* encontradas no hospedeiro como colonizantes ou como causadoras de infecção têm sido observadas além de *C. albicans* a emergência de outras espécies como *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. parapsilosis*⁽⁴⁻⁷⁾.

A colonização por *Candida spp* é considerada um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de infecção fúngica, especialmente em pacientes debilitados, a partir da disseminação inter-humana. A presença de leveduras colonizando os profissionais da saúde tem preocupado as equipes de controle de infecção hospitalar, pois podem ser fonte potencial de contaminação de microrganismos por transmissão exógena⁽⁸⁾. Há evidências que infecções por *Candida* possam ser adquiridas no ambiente hospitalar, sendo responsáveis pelo aumento no número de casos de candidíase invasiva.

O monitoramento da colonização por espécies de *Candida* presentes na microbiota bucal de profissionais da saúde pode fornecer informações epidemiológicas destas leveduras. Pouco é conhecido sobre a presença de leveduras na microbiota bucal de profissionais da área de saúde. Assim, o objetivo deste trabalho foi isolar e identificar espécies de *Candida* presentes na saliva de profissionais da saúde em um hospital universitário em Goiânia, GO.

METODOLOGIA

Foi realizado um estudo descritivo de caráter prospectivo em um hospital universitário, durante o período de Julho a Dezembro de 2007. As amostras foram coletadas após o parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal/HC/UFG (Protocolo nº 035/05 em 01/06/2007) e a assinatura do termo de consentimento e livre esclarecido pelos profissionais que aceitaram em participar.

Amostras de saliva de 312 indivíduos foram coletadas, incluindo 153 auxiliares de enfermagem, 48 pertencentes a serviços gerais, 47 médicos, 35 técnicos de enfermagem e 29 enfermeiros. Estes profissionais atuavam em vários setores do hospital, como clínica médica, centro cirúrgico,

pronto socorro, unidade de terapia intensiva (UTI) e central de transplantes.

Para a realização da coleta, aproximadamente 2 ml de saliva foram colocados em tubo de ensaio graduado e em seguida estes foram fechados, acondicionados e transportados imediatamente ao Laboratório de Micologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade de Goiás. Posteriormente a saliva foi homogeneizada por um minuto para obter uma suspensão uniforme e uma amostra de 0,1 ml foi inoculada em três tubos com meio de ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol (ASD), incubada por um período de até cinco dias a temperatura ambiente.

As colônias com morfologia sugestiva do gênero *Candida*, que microscopicamente se mostravam como leveduras, foram sub-cultivadas em meio cromogênico CHROMagar® *Candida* (CHROMagar, Paris, France), que permitiu uma diferenciação presuntiva dos isolados de *C. albicans* a partir da formação de colônias verdes. A identificação de todos os isolados foi realizada Kurtzman e Fell⁽⁹⁾, usando a técnica de produção de tubo germinativo em soro fetal bovino, produção de clamidoconídios em agar "corn meal" suplementado com 1% de "tween" 80 e teste de assimilação de carboidrato utilizando o Sistema API 20C (BioMerieux, France).

Para a realização deste teste uma porção do crescimento de cada colônia isolada em ágar Sabouraud dextrose foi assepticamente transferida para tubos contendo 1mL de solução fisiológica esterilizada e ajustado a uma turbidez equivalente à escala 2 de McFarland. Uma gota desta suspensão foi adicionada ao meio basal do API 20C e homogeneizado preenchendo, posteriormente, cada poço do painel de identificação. O painel foi incubado em câmara úmida a 30°C por até 72 horas, com leituras de 24, 48 e 72 horas. Considerou-se como resultado positivo e negativo, respectivamente, a presença ou ausência de opacidade nos poços de cada carboidrato. Obteve-se um código de sete dígitos, cuja interpretação foi realizada com o auxílio do catálogo analítico API 20C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 312 profissionais estudados a presença de leveduras pertencentes ao gênero *Candida* foi observada em 193 amostras de saliva (61,9%). Levando-se em consideração os profissionais que fizeram parte deste estudo, verificou-se que os zeladores, os técnicos de enfermagem e auxiliares de enfermagem foram as categorias com maior número de indivíduos colonizados por *Candida*, com 68,7%, 65,7% e 64,7% respectivamente. A frequência de colonização de leveduras do gênero *Candida* em amostras de saliva nas diferentes categorias de profissionais da saúde é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1: Isolamento de leveduras do gênero *Candida* em amostras de saliva de diferentes profissionais da saúde. Goiânia, GO, 2007.

Categoria dos profissionais	Culturas positivas		Total de profissionais
	n	%	
Auxiliares de enfermagem	99	64,7	153
Zeladores	33	68,7	48
Médicos	22	46,8	47
Técnicos de enfermagem	23	65,7	35
Enfermeiros	16	55,1	29
Total	193	61,9	312

A identificação dos isolados de *Candida* mostrou que *C. albicans* foi a espécie mais comumente encontrada (58,5%) na saliva dos profissionais estudados. As espécies não-

albicans foram também identificadas em 41,5% das amostras dentre estas, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. famata* e *C. guilliermondii*, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2: Distribuição das espécies de *Candida* isoladas em amostras de saliva de profissionais da saúde. Goiânia, GO, 2007.

Espécies	Profissionais											
	Auxiliar de enfermagem (n=99)		Zeladores (n=33)		Médicos (n=22)		Técnicos de enfermagem (n=23)		Enfermeiros (n=16)		Total (n=193)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>C. albicans</i>	67	59,3	13	11,5	12	10,6	12	10,6	9	8	113	58,5
<i>C. parapsilosis</i>	21	44,7	9	19,1	5	10,6	9	19,1	3	6,4	47	24,4
<i>C. krusei</i>	4	25	7	43,8	4	25	-	-	1	6,3	16	8,3
<i>C. famata</i>	3	42,9	-	-	1	1,4	2	2,9	1	1,4	7	3,6
<i>C. guilliermondii</i>	3	50	1	1,7	-	-	-	-	2	33,3	6	3,1
<i>C. catenulata</i>	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	1	0,5
<i>C. ciferri</i>	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	1	0,5
<i>C. rugosa</i>	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	1	0,5
<i>C. lusitaniae</i>	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,5

Há poucos estudos sobre carreadores de espécies de *Candida* na boca de profissionais da saúde. Fong e outros autores⁽¹⁰⁾ demonstraram que carreadores assintomáticos de espécies de *Candida* representam um possível risco para o desenvolvimento de infecção na mucosa bucal. Em nosso estudo 61,9% dos profissionais analisados, apresentaram colonização por leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal. Este percentual é elevado quando se compara com voluntários saudáveis procedentes dos Estados Unidos e Canadá onde a maior porcentagem encontrada foi de 39,5%⁽⁴⁾ e com profissionais da área de saúde de Araraquara/SP onde Martins-Diniz e outros autores⁽¹¹⁾ verificaram a presença de 10,6% leveduras na mucosa orofaríngea.

Como pode ser observado dos 193 indivíduos que apresentaram leveduras na saliva, 113 (58,5%) foram identificadas como *C. albicans*. Esta espécie é uma levedura com alta capacidade patogênica. O domínio desta espécie na boca é bem estabelecido tanto naqueles pacientes que apresentam candidíase bucal como naqueles carreadores de *Candida* na cavidade oral⁽¹²⁻¹⁶⁾. Essa espécie tem sido a mais encontrada como colonizadora em amostras de orofaringe de profissionais de saúde⁽¹¹⁾. Entretanto não há evidência de transmissão entre indivíduos através da saliva.

Fato interessante ocorreu com o isolamento de *C. parapsilosis* em 24,4% dos profissionais, que tem sido largamente encontradas em pontas de cateter e identificadas como prováveis agentes de infecção⁽¹⁷⁻¹⁸⁾, principalmente em pacientes de UTI. Uma grande porcentagem dessa espécie tem sido verificada por outros pesquisadores em amostras de profissionais⁽¹¹⁻¹⁹⁾. O encontro de outras espécies não-*albicans*, isoladas neste estudo como *C. krusei* é considerado de importância visto que esta espécie é refratária ao tratamento com fluconazol, largamente utilizado para tratamento de candidíase. Microrganismos resistentes têm aumentado propiciando maior tempo de internação e consequentemente maior risco de aquisição de infecções nosocomiais.

A correlação entre condições da boca e a colonização por *Candida* não foi estudada neste trabalho, no entanto sabe-se que higiene da mucosa bucal e o uso de próteses podem estar relacionados à colonização por *Candida*⁽²⁰⁾. A

divulgação destes resultados pode servir como um auxílio para a prevenção e controle de candidíase bucal nos trabalhadores da área de saúde que vive em contato constante com indivíduos altamente suscetíveis a infecções.

CONCLUSÃO

Neste trabalho foi observado o isolamento de leveduras na saliva de profissionais da saúde de um hospital universitário. *C. albicans* foi a espécie predominante, tendo sido também verificado a presença de espécies de *Candida* não *albicans* na saliva destes indivíduos. Os profissionais da área de saúde podem ser responsáveis pela disseminação destes microrganismos no ambiente hospitalar.

Os resultados obtidos servem como um alerta para a constante pesquisa de fungos colonizantes em profissionais da saúde. O desencadeamento de candidíase nestes indivíduos, que estão em constante contato com pacientes predispostos a infecção por *Candida*, podem se constituir de uma fonte de contaminação e disseminação destes microrganismos no ambiente hospitalar.

REFERÊNCIAS

1. Poulain D, Sendid B, Standaert-Vitse A, Fradin C, Jouault T, Jawhara S, et al. Yeasts: neglected pathogens. Dig Dis. 2009;27 Suppl 1:104-10.
2. Leroy O, Gangneux JP, Montravers P, Mira JP, Gouin F, Sollet JP, et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). Crit Care Med. 2009;37(5):1612-8.
3. Orozco PA, Cortés JA, Parra CM. Colonization by yeasts in newborns and healthcare personnel in a neonatal intensive care unit at a university hospital in Bogotá, Colombia. Rev Iberoam Micol. 2009;26(2):108-11.
4. Xu J, Mitchell TG. Geographical differences in human oral yeast flora. Clin Infect Dis. 2003;36(2):221-4.
5. Borges RM, Soares LR, Brito CS, Brito DVD, Abdallah VOS, Gontijo Filho PP. Risk factors associated with colonization by *Candida* spp in neonates hospitalized in a Neonatal Intensive Care Unit in Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42(4):431-5.
6. Fanello S, Bouchara JP, Sauteron M, Delbos V, Parot E, Marot-Leblond A. Predictive value of oral colonization by

Candida yeasts for the onset of a nosocomial infection in elderly hospitalized patients. J Med Microbiol. 2006;55(2):223-8.

7. Rodrigues D, Almirante B, Cuenca-Estrella M, Rodriguez-Tudela JL, Mensa J, Ayats J, et al. Predictors of Non-albicans *Candida* Species Candidemia: Results of a Population-Based Surveillance in Barcelona, Spain. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2010 Mar 6 Forthcoming [cited 2010 sep 29]. Epub available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-0691.2010.03208.x/abstract>.

8. Palos MAP, Silva DVB, Gir E, Canini SRMS, Anders PS, Leão LSNO, et al. Microbiota das mãos de mães e dos profissionais de saúde de uma maternidade de Goiânia. Rev Eletr Enf. [Internet]. 2009 [cited 2010 sep 29];11(3):573-8. Available from: <http://www.fen.ufg.br/revista/v11/n3/v11n3a14.htm>.

9. Kurtzman CP, Fell JW. The Yeasts, a taxonomic study. 4th ed. Amsterdam: Elsevier; 1998.

10. Fong IW, Laurel M, Burford-Mason A. Asymptomatic oral carriage of *Candida albicans* in patients with HIV infection. Clin Invest Med. 1997;20(2):85-93.

11. Martins-Diniz NJ, Silva RMS, Miranda ET, Mendes-Giannini MJS. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. Rev Saude Publica. 2005;39(3):398-405.

12. Magill SS, Swoboda SM, Shields CE, Colantuoni EA, Fothergill AW, Merz WG et al. The epidemiology of *Candida* colonization and invasive candidiasis in a surgical intensive care unit where fluconazole prophylaxis is utilized: follow-up to a randomized clinical trial. Ann Surg. 2009;249(4):657-65.

13. Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are the hospital surface reservoirs for nosocomial infection? Clin Infect Dis. 2004;39(8):1182-9.

14. Baradkar VP, Kumar S. Species identification of *Candida* isolates obtained from oral lesions of HIV infected patients. Indian J Dermatol. 2009;54(4):385-6.

15. Kimmelmeier EG, Ferreira ME, Filho LCS, Svidzinski TIE. Colonização da mucosa oral por leveduras, em pacientes oncológicos, encaminhados para quimioterapia em Maringá – PR. Ciênc. cuid. saúde. 2008;7 Suppl 1:69-75.

16. Costa CR, Cohen AJ, Fernandes OFL, Miranda KC, Passos XS, Souza LKH et al. Asymptomatic oral carriage of *Candida* species in HIV-infected patients in the highly active antiretroviral therapy era. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2006;48(5):257-61.

17. David A, Risitano DC, Mazzeo G, Sinardi L, Venuti FS, Sinardi AU. Central venous catheters and infections. Minerva Anesthesiol. 2005;71(9):561-4.

18. Barberino MG, Silva N, Rebouças C, Barreiro K, Alcântara AP, Netto EM et al. Evaluation of Blood Stream Infections by *Candida* in Three Tertiary Hospitals in Salvador, Brazil: A Case-Control Study. Bras J Infect Dis. 2006;10(1):36-40.

19. Yildirim M, Sahin I, Kucukbayrak A, Ozdemir D, Tevfik Yavuz M, Oksuz S et al. Hand carriage of *Candida* species and risk factors in hospital personnel. Mycoses. 2007;50(3):189-92.

20. Samaranayake LP, Keung Leung W, Jin L. Oral mucosal fungal infections. Periodontol 2000. 2009;49:39-59.

Artigo recebido em 18.06.2009

Aprovado para publicação em 02.06.2010

Artigo publicado em 30.09.2010