

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

RUTYANNE MARIA TONELLI ELISEI

**INFECÇÕES POR LEVEDURAS DO GÊNERO
Candida EM PACIENTES IMUNOSSUPRIMIDOS**

Belo Horizonte, 2009

RUTYANNE MARIA TONELLI ELISEI

**INFECÇÕES POR LEVEDURAS DO GÊNERO
Candida EM PACIENTES IMUNOSSUPRIMIDOS**

Projeto de Monografia apresentado à
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para a obtenção do título de
especialista em Microbiologia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Aparecida de
Resende.

Belo Horizonte, 2009

Sumário

Lista de figuras	05
Resumo	06
1 - Introdução	07
2 - Revisão bibliográfica	09
2.1 - Candidíase Orofárica – OPC.....	09
2.1.1- Histologia da mucosa oral	09
2.1.2 - Clínica e Patologia.....	09
2.2 - Candidíase Sistêmica ou Visceral.....	12
2.3 - Fatores clínicos relacionados com as infecções por <i>Candida</i> spp.....	13
2.4 - Epidemiologia	14
2.5 - Procedimentos laboratoriais para identificação de leveduras	16
2.5.1 – Isolamento	16
2.5.2 - Aspecto macroscópico das colônias em meio de cultivos sólidos.....	16
2.5.3 - Aspecto macroscópico das colônias em meios líquidos.....	17
2.5.4 – Microscopia	17
2.5.5 - Produção de tubo geminativo	17
2.5.6 - Prova do microcultivo	19
2.5.7 - Assimilação de carboidratos	20
2.5.8 - Assimilação de nitrogênio	21
2.5.9 - Fermentação de carboidratos	22
2.5.10 - Técnicas modernas de identificação	23
2.5.11 - Método de isolamento primário.....	23
2.5.12 - Sistemas manuais e automatizados para identificação das levedura.....	24
2.6 – Antifúngicos	25

2.7 - Alterações nos mecanismos de resistência para <i>C. albicans</i> na infecção pelo HIV	27
2.8 - Sistema imunológico da mucosa oral contra <i>C. albicans</i>	30
2.8.1 - Células com potencial imune na mucosa oral	30
2.8.2 - Anticorpos antifúngicos	32
2.8.3 - Mecanismos de proteção Imune Celular contra <i>C. albicans</i> na Mucosa Oral	33
2.9 - Candidíase na evolução do HIV	33
2.10 - Contagem de CD4 ⁺ versus carga viral em pacientes HIV	34
2.11 - Terapia Antiretroviral	36
2.12 - Prevalência das espécies de cândida em pacientes HIV.....	38
2.13 - Biofilme e Antifúngicos	39
3 – Conclusão	44
4 – Referências Bibliográficas	45

Lista de Figuras

Figura 1: Tubo germinativo emergindo de um blastoconídio – *C. albicans*.....18

Figura 2: Micromorfologia de *C. albicans* em ágar fubá, destacando-se a presença de grande número de clamidósporos, sésseis e terminais – (400X).20

Figura 3: Auxanograma - teste de assimilação de açúcares. Foram utilizados 11 carboidratos: glicose, sacarose, trealose, maltose, galactose, celobiose, inulina, lactose, arabinose, rafinose, ramnose. Observar assimilação de açúcar em GLI (glicose), GAL (galactose), MAL (maltose), SAC (sacarose) e TRE (trealose).21

Figura 4: Zimograma - teste de fermentação de açúcares. Foram utilizados 6 carboidratos: glicose, lactose, trealose, maltose, galactose e rafinose. Observar formação de gás em GLI (glicose), TRE (trealose) e MAL (maltose).22

Figura 5: Biofilme de *C. albicans* em dentaduras. Observa-se a predominância de hifas e canais de água (COOGAN et al., 2006).....39

Figura 6: Micrografia eletrônica de varredura de biofilme de *C. albicans* formado em cateter vascular (KOJIC & DAROVICHE, 2004).....40

Resumo

Leveduras do gênero *Candida* fazem parte da microbiota gastrointestinal do homem e são encontradas entre 30% a 60% dos indivíduos saudáveis. Entretanto podem causar freqüentemente infecções superficiais e sistêmicas em pacientes imunodeprimidos, como pode ser observado em portadores do vírus HIV. A candidíase esofágica é a mais séria e é considerada como uma doença característica da AIDS. Essa infecção pode tornar a alimentação dolorosa e difícil. Além disso, candidíase orofaríngea é um marcador clínico importante nos pacientes com HIV que predizem a imunossupressão crescente. Conseqüentemente, foi incluída como critério importante na maioria dos sistemas clínicos da plataforma para a infecção com HIV.

Abstract

Candida species are part of the gastrointestinal microbiota of man and are found between 30% to 60% of healthy individuals. However they can often cause superficial and systemic infections in immunocompromised patients, as can be observed in people with HIV. Esophageal candidiasis is the most serious and is recognized as an illness characteristic of AIDS. This infection can make eating difficult and painful. Furthermore, orofarigean candidiasis is a major clinical marker in patients with HIV that predict increasing immunosuppression. Consequently, it was included as a major criterion in most clinical systems platform for infection with HIV.

1 – Introdução

Langenbeck em 1839 observou pela primeira vez a mais importante levedura patogênica ao homem, hoje conhecida como *Candida albicans*. Tal observação ocorreu em aftas bucais de um paciente com tifo, tendo considerado erradamente esse microrganismo o agente etiológico da doença. Mais tarde, em 1842, David Gruby definiu a candidíase oral e classificou esse microrganismo no gênero *Sporotrichum*. Em 1846, Berg estudou detalhadamente o microrganismo, estabelecendo sua relação com a candidíase oral. Alguns anos mais tarde, em 1853, Charles Robin denominou esse microrganismo de *Oidium albicans*, tendo sido redenominado por Zopf, em 1890, de *Monilia albicans*. Somente em 1923, Berkhout transferiu esse microrganismo para o gênero *Candida* e criou a espécie *Candida albicans*. Essa levedura foi descrita no decorrer da história com número superior a 111 diferentes denominações, as quais se encontram descritas no livro *The yeast*, editado por Krieger van Rij em 1984 (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Leveduras do gênero *Candida* fazem parte da microbiota gastrointestinal do homem e são encontradas entre 30% a 60% dos indivíduos saudáveis. Entretanto podem causar freqüentemente infecções superficiais e sistêmicas em pacientes imunodeprimidos, como pode ser observado em portadores do vírus HIV (FAIKENSAMMER et al, 2007; CROCCO et al., 2004).

O termo candidose ou candidíase tem conotação genérica, sendo utilizado para denominar as várias doenças causadas por *Candida albicans*, assim como por outras espécies de leveduras relacionadas. A candidíase é a mais frequente infecção fúngica oportunista (SIDRIM & ROCHA, 2004). Entre os fungos, *Candida* spp. é o gênero predominante na microbiota humana (SILVA, FERREIRA & CANDIDO, 2007).

Candida albicans é o patógeno mais comum nas candidíases cutâneas e da orofaringe, entretanto as espécies não-*albicans* têm aumentado em número e em importância (CROCCO et al., 2004).

Durante muito tempo, acreditava-se que apenas a *C. albicans* era capaz de causar doença no homem. Atualmente, sabe-se que a grande maioria das leveduras, é capaz em condições especiais do hospedeiro, de causar diversos tipos de quadros clínicos (SIDRIM & ROCHA, 2004).

O indivíduo hígido apresenta mecanismos de defesa inespecíficos e específicos, tais como barreiras anatômicas e fisiológicas, resposta inflamatória e imunológica que representam obstáculo ao estabelecimento da infecção fúngica. Esses mecanismos de defesa podem ser sobrepujados por fatores intrínsecos ou extrínsecos que causam desequilíbrio, resultando no crescimento da população residente de leveduras, seguido por invasão e lesão dos tecidos vivos (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A candidíase orofaríngea é a infecção fúngica mais comum nos pacientes infectados com HIV. Ocorre em 90% dos pacientes que apresentam sintomas e lesões macroscópicas características (HUNG et al., 2005). A candidíase esofágica é a mais séria e é considerada como uma doença característica da AIDS. Essa infecção pode tornar a alimentação dolorosa e difícil. Além disso, candidíase orofaríngea é um marcador clínico importante nos pacientes com HIV que predizem a imunossupressão crescente. Conseqüentemente, foi incluída como critério importante na maioria dos sistemas clínicos da plataforma para a infecção com HIV (HUNG et al, 2005). A contagem de CD4⁺ menor que 200 células/mm³ é um fator de risco para colonização do paciente por espécies de *Candida* e o desenvolvimento de candidíases (HUNG et al, 2005).

O uso difundido de agentes antifúngicos para o tratamento de candidíases resultou na colonização de organismos menos suscetíveis e no desenvolvimento da resistência. Assim, a candidíase orofaríngea causada por espécies resistentes é um problema emergente para os pacientes infectados com HIV (CROCCO et al., 2004).

Diante do grande número de pacientes infectados com HIV, tais infecções oportunistas como as candidíases possuem carácter relevante nos estudos.

2 – Revisão Bibliográfica

2.1 - Candidíase Orofaríngea – OPC

2.1.1 - Histologia da mucosa oral

A mucosa oral possui características em comum com o esôfago, vagina e outras mucosas, incluindo um epitélio superficial estratificado escamoso e uma lâmina própria subjacente densa de colágeno e tecido conjuntivo, separados por uma membrana basal. No entanto, a mucosa da cavidade oral varia na composição da camada celular. O epitélio estratificado escamoso nestas áreas, contém uma camada de germinação sobrejacente à membrana basal, uma camada espinhosa e uma camada superficial granular que é geralmente não queratinizada e, portanto, semelhante ao epitélio do esôfago (REPENTIGNY et al., 2004).

A descamação contínua da superfície do epitélio oral desempenha um papel fundamental na manutenção de uma mucosa oral saudável e na limitação da colonização e infecção por *Candida* spp. Em várias regiões da cavidade oral existem nódulos de tecido linfóide consistindo de criptas formadas por invaginação do epitélio na lâmina própria. Estas áreas são extensivamente infiltradas por linfócitos, que desempenham um papel importante no acolhimento e defesa contra infecções orais (REPENTIGNY et al., 2004).

2.1.2 - Clínica e Patologia

Candidíase orofaríngea (OPC) é uma infecção fúngica oportunista que pode envolver o palato, a língua e a mucosa bucal. Apresentam-se como manchas avermelhadas (eritematosas) ou brancas, lesões com aspecto de coalhada (pseudomembranosa, “sapinho”). OPC é definida como candidíase superficial com níveis de invasão tecidual. A mastigação e deglutição podem se tornar difíceis. As infecções podem ser agudas ou recorrentes, e são comuns em pacientes

imunossuprimidos, especialmente aqueles infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (FIDEL, 2006).

Os achados clínicos na candidíase oral são bastante variáveis, podendo ser observados desde quadros localizados, como as estomatites, até formas graves e generalizadas, como a candidíase hiperplásica crônica. Dessa forma, podemos subdividir clinicamente a candidíase oral em cinco apresentações distintas, pseudomembranosa, atrófica aguda, hiperplásica crônica, queilites angulares e língua negra pilosa (SIDRIM & ROCHA, 2004).

O reconhecimento dessas formas específicas de candidíase oral em pacientes infectados com HIV é facilitado pela utilização clínica estabelecida por critérios diagnósticos (REPENTIGNY et al., 2004).

Os sintomas podem incluir dor, queimação, sensação alterada de gostos e dificuldade de engolir líquidos e sólidos (REPENTIGNY et al., 2004).

A forma pseudomembranosa é a manifestação clássica e mais comum de acometimento por leveduras na cavidade oral. As lesões (conhecidas no Brasil com a denominação popular de “sapinho”) são mais comuns em recém-nascidos que ainda não colonizaram sua orofaringe, apresentam um baixo pH, condição essa que facilita a colonização da cavidade oral. Clinicamente, inicia-se por pequenos pontos esbranquiçados na mucosa e que rapidamente se tornam confluentes, para formar pseudomembranas de coloração esbranquiçada, aderidas à mucosa e suportadas por um fundo eritematoso, que pode ser visto quando removidas. As localizações mais comuns na cavidade oral são: as mucosas que revestem as bochechas, ponta da língua e palato mole. Entretanto, numa forma mais extensa, pode ser observada uma invasão maciça da cavidade oral, com generalizado comprometimento, dificultando muitas vezes a deglutição, apesar de essa entidade ser mais observada em recém-nascidos de mães portadoras de candidíase vulvovaginal (SIDRIM & ROCHA, 2004). Esta forma pode ser facilmente diagnosticada por demonstrar a presença de leveduras e de pseudo-hifas visualizadas em microscopia do material coletado por swab da lesão e também pode ser confirmada pelo isolamento das espécies em culturas. Nas formas eritematosas, a escassa presença de leveduras

na superfície da mucosa, freqüentemente, exige a realização de biópsia para estabelecimento do diagnóstico (REPENTIGNY et al., 2004).

A candidíase pseudomembranosa oral pode também ocorrer em outras populações, onde possam levar a perdas funcionais temporárias ou permanentes do sistema imune, tais como o diabetes, as neoplasias e principalmente em pacientes com AIDS (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A candidíase atrófica aguda é uma lesão secundária a um quadro pseudomembranoso, caracterizando-se pela presença de eritema particularmente visível no dorso da língua. Esse tipo de lesão, bastante dolorosa, pode ser observada também primariamente, em outras regiões da boca e está geralmente associada a antibioticoterapia prévia (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A candidíase hiperplásica crônica é também conhecida como candidíase leucoplásica e caracteriza-se pelo aparecimento de placas de coloração branca, fortemente aderidas à cavidade oral, principalmente nas regiões da língua, bochechas e lábios, evidenciando-se um contorno eritematoso das placas. Essas lesões diferenciam-se da candidíase pseudomembranosa em razão da forte aderência das placas às mucosas. Um fator predisponente nem sempre é observado com facilidade, devendo-se diferenciar do quadro de leucoplasia, que pode favorecer o aparecimento de candidíase. Em alguns casos, essas lesões podem levar a uma degeneração do tipo carcinoma epidermóide (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A queilite angular, popularmente conhecida como “boqueira”, pode ter como agente etiológico *Candida albicans* ou outras espécies, associadas ou não a contaminação bacteriana. Essas lesões têm início por maceração no ângulo de junção do lábio superior com o inferior e apresentam ainda uma fissura exatamente na junção dos lábios e são recobertas por uma camada cremosa que tende à dessecação, formando crostas. As lesões podem sangrar facilmente, sobretudo se a crosta que as recobre é deslocada. Podem ser uni ou bilaterais. O paciente queixa-se de sensações de picadas no local, dor e queimadura (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A lesão clínica da língua negra pilosa pode iniciar-se por sintomas subjetivos, como boca seca, prurido e sensação de queimaduras, sucedidos rapidamente pelo

aparecimento de hipertrofia nas papilas antes do V lingual. As lesões tomam uma coloração escurecida, por impregnação de substâncias escuras encontradas nos alimentos e bebidas. O papel das leveduras como único agente etiológico é muito discutido. O fato de isolar leveduras em algumas infecções e o desaparecimento destas após terapêutica específica fala a favor de seu papel. Entretanto, em alguns casos, a presença da levedura nada mais é do que uma colonização em lesões prévias, como nos carcinomas verrucosos da mucosa oral, que podem ser confundidos com a língua negra pilosa (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Cerca de 75% dos pacientes infectados pelo HIV que apresentam OPC tem associado também candidíase esofágica confirmada por análise histopatológica da biópsia obtida por endoscopia. Entretanto 30 a 43% desses pacientes podem não ter envolvimento esofágico. Por esta razão, a combinação de OPC e os sintomas da esofagite podem direcionar ao tratamento empírico dos pacientes por antifúngicos sem a confirmação por endoscopia. Entretanto os pacientes que não respondem ao tratamento com antifúngicos requerem a biópsia esofágica para avaliar a possibilidade de *Candida* spp. resistentes a azóis ou outros agentes oportunistas (REPENTIGNY et al., 2004).

2.2 - Candidíase Sistêmica ou Visceral

Candidíase sistêmica é uma manifestação clínica de *Candida* spp. e de leveduras correlatas, caracterizada por sintomatologia infecciosa localizada e que, em algum período de sua evolução, disseminou para outros órgãos por via hematogênica, ou, ainda, teve uma origem exógena, com disseminação, como na infusão de líquidos contaminados (SIDRIM & ROCHA, 2004). Pode localizar-se em um só órgão ou disseminar. Suas manifestações clínicas são bastante variáveis e, em geral, não-específicas. Dessa forma, podemos encontrar quadros com sintomatologia cardíaca, digestiva, respiratória, hepática, renal, ocular e do sistema nervoso central, podendo essas manifestações estar isoladas ou vir a apresentar formas associadas com um ou mais órgãos e/ou sistemas comprometidos. Em todas

estas situações, podem ser observadas fungemia transitória ou permanente, associada ou não a quadros de sepse (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A incidência das candidemias aumentou muito nos anos 90, atingindo 5 a 10 casos por 10.000 hospitalizações. Vários autores relatam que a *C. albicans* é a principal espécie implicada nas candidemias, sendo responsável por mais de 50% dos casos, seguida por *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, que mostram alternância de frequência (SIDRIM & ROCHA, 2004).

2.3 - Fatores clínicos relacionados com as infecções por *Candida* spp.

Leveduras do gênero *Candida* são organismos comensais, e para atuar como agentes patogênicos são necessárias interrupções de defesas normais do organismo. Portanto, os fatores gerais de risco para infecções por *Candida* spp. incluem imunocomprometimento, diabetes *mellitus* e fatores iatrogênicos, como o uso de antibiótico e utilização de dispositivos de drogas endovenosas. Existem vários fatores de risco específicos para espécies não-*albicans*: *C. parapsilosis* é relacionada com a inserção de corpo estranho e recém-nascidos prematuros; *C. krusei* está relacionada com profilaxia com azólicos e, juntamente com *C. tropicalis*, a neutropenia e o transplante de medula óssea; *C. glabrata* está relacionado com profilaxia com azólicos, cirurgia, e cateteres urinários ou vasculares (KOJIC; DAROVICHE, 2004).

A fonte das infecções por *Candida* tem sido objeto de considerável debate. Uma fonte endógena foi demonstrada em tipagem do DNA usando amostras de *Candida* spp. de sítios colonizados e posterior infecção sanguínea em pacientes com alterações hematológicas e em doentes não neutropênicos. Uma recente revisão de estudos publicados sobre as potenciais fontes de candidemia encontrou apoio para uma origem gastrointestinal de candidemia baseado em experimentos clínicos e estudos de similaridade molecular. No entanto, uma origem cutânea é sugerida para a *C. parapsilosis*, uma vez que frequentemente é recuperada em amostras de pele

e, uma vez que ocorre com mais freqüência em pacientes com cateter venoso em vigor. Além disso, a pele pode ser a origem de candidemia em pacientes com queimaduras. Os autores observam que os dados utilizados para apoiar a teoria da pele como fonte de candidemia são bastante incompletos. O trato gastrointestinal é a principal fonte de candidemia em pacientes neutropênicos, provavelmente devido à mucosa gastrointestinal e a invasão por *Candida* sp. nessa população de doentes (KOJIC & DAROVICHE, 2004).

2.4 – Epidemiologia

O desenvolvimento da biologia molecular à base de métodos que classificam as espécies de *Candida* proporcionou uma ferramenta vital para determinar as relações entre a progressão da infecção pelo HIV, a aquisição, a manutenção, a população oral de espécies de *Candida* e a seleção de *C. albicans* ou de espécies não-*albicans* resistentes a tratamentos por azólicos (REPENTIGNY et al., 2004).

Estudos são realizados com pacientes infectados pelo HIV a fim de avaliar a epidemiologia molecular de OPC recorrentes. A maioria dos pacientes (77 a 100%) que apresentam OPC está infectada por *C. albicans*, enquanto os restantes dos pacientes estão infectados com uma ou mais espécies de não-*albicans*, isoladamente ou em combinação com *C. albicans* (REPENTIGNY et al., 2004).

Várias espécies de *Candida* foram encontradas incluindo *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata* e *C. dubliniensis*. No entanto, entre essas espécies apenas a *C. dubliniensis* foi especificamente associada e reconhecida como causa de OPC em pacientes HIV positivos (REPENTIGNY et al., 2004).

A análise de uma seqüência de isolados revelou que ao longo de cada episódio de OPC, a maioria dos pacientes estava infectada com uma única espécie, a *C. albicans*, a qual originalmente estava presente na cavidade oral (REPENTIGNY et al., 2004).

A resistência ao fluconazol pode ocorrer através da aquisição de um novo genótipo de *C. albicans* ou pelo desenvolvimento de resistência em uma espécie anterior. Após o primeiro episódio de OPC, em pacientes HIV positivos, os fatores de risco para o aparecimento de OPC recorrentes causadas por *C. albicans* fluconazol-resistente podem incluir a menor contagem de CD4⁺, um maior número de tratamentos de episódios de OPC e uma maior duração do tratamento com fluconazol (REPENTIGNY et al., 2004).

In vitro a resistência ao fluconazol é fortemente correlacionada com a falha clínica do tratamento com esta droga nos pacientes HIV positivos com OPC e pela incapacidade de responder ao fluconazol na terapia experimental de OPC e candidose esofágica. Os mecanismos moleculares de resistência aos antifúngicos azólicos em *C. albicans* isoladas de pacientes infectados com HIV são multifatoriais, com predomínio de excessiva expressão de genes (MDR1 e CDR) e efluxo de bombas, detectado em 85% de todas as espécies resistentes. Alterações no gene que codifica o alvo lanosterol 14- α demetilase, incluindo substituição no aminoácido funcional e no gene que codifica a enzima (ERG11), são detectados em 65 e 35% da resistência em isolados respectivamente (REPENTIGNY et al., 2004).

Vários mecanismos de resistência são combinados em 75% dos isolados exibindo alto nível de resistência ao fluconazol. As espécies de *C. albicans* resistentes a azólicos geralmente permanecem confinadas a um único paciente com infecção pelo HIV e OPC, o potencial de transmissão da resistência de espécies isogênicas de *C. albicans* entre os jovens e membros da família, incluindo crianças, foi claramente estabelecido (REPENTIGNY et al., 2004).

As mulheres infectadas pelo HIV podem desenvolver tanto OPC como candidose vaginal, porém o risco de OPC isolado é reforçado pela infecção pelo HIV. A biologia molecular de *C. albicans* de mulheres HIV positivas colonizadas revelou que os isolados de *C. albicans* da mucosa oral e vaginal são distintos (REPENTIGNY et al., 2004).

2.5 - Procedimentos laboratoriais para identificação de leveduras

2.5.1 - Isolamento

Para isolamento de leveduras de material biológico, utiliza-se o Agar-Sabouraud com cloranfenicol. Em casos de suspeita de contaminação por mais de uma levedura, recomenda-se o plaqueamento em meio de CHROM Agar *Candida* (LACAZ et al.,2002).

Os métodos de identificação das leveduras são diferentes daqueles utilizados para fungos filamentosos. Em relação às características morfológicas, consideram-se aspectos macroscópicos da colônia e microscópico da levedura. Presença de cápsula, ascos, blastoconídios, clamidoconídios, artroconídios, hifas, pseudo-hifas e formação do tubo germinativo devem ser pesquisadas através de metodologia específica, e não pela simples observação do isolamento primário (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Os critérios bioquímicos são de grande valor para a identificação das leveduras. Nesse sentido, é investigada a capacidade que a levedura tem de utilizar determinados carboidratos e compostos nitrogenados como fonte de carbono e nitrogênio, respectivamente (auxanograma) e de fermentar também alguns carboidratos (zimograma). Além disso, provas enzimáticas podem ser realizadas para detectar a produção de urease por parte da levedura em estudo (SIDRIM & ROCHA, 2004).

2.5.2 - Aspecto macroscópico das colônias em meio de cultivos sólidos

As colônias variam quanto à cor, sendo geralmente brancas a creme ou ligeiramente acinzentadas ou róseas. Não apresentam pigmentos carotenóides. A textura é cremosa ou membranosa; a superfície rugosa, lisa ou sulcada, brilhante ou opaca. De modo geral, as formas das colônias são circulares e as bordas ou margens, regulares a irregulares (LACAZ et al.,2002).

2.5.3 - Aspecto macroscópico das colônias em meios líquidos

A presença ou ausência de sedimento, flóculos, tipos de película e anel são elementos que auxiliam a determinação das espécies de *Candida* (LACAZ et al.,2002).

2.5.4 - Microscopia

O estudo da forma dos blastosporos, reprodução vegetativa e mensuração das células nas diferentes espécies devem ser realizadas a partir de cultivos em meios líquidos.

Os esfregaços de cultivo ou de material clínico corados pelo método de Gram permitem separar as leveduras das bactérias e outros microrganismos. Os blastoconídios, pseudomicélio e demais estruturas são Gram-positivas (LACAZ et al.,2002).

2.5.5 - Produção de tubo germinativo

A prova do tubo germinativo é o primeiro passo para a identificação de um isolado leveduriforme desconhecido (KONEMAN et al.,2001). Foi descrita por Tschadjian em 1960 e é um método simples de triagem que permite a distinção entre *C. albicans* ou *C. dubliniensis* (tubo germinativo positivo) de outras espécies de leveduras (tubo germinativo negativo) (SIDRIM & ROCHA, 2004).

O tubo germinativo é uma projeção alongada, que emerge da levedura, quando esta entra em contato com soro humano ou de outros animais, à temperatura de 37°C, durante 2 a 3 horas (SIDRIM & ROCHA, 2004). O verdadeiro tubo germinativo de *C. albicans* não apresenta constrição no ponto de origem. As pseudo-hifas precoces de *C. tropicalis* podem ser similares, mas mostram uma área de constrição característica adjacente à célula mãe. O novo material celular que

compõe o tubo germinativo representa hifa verdadeira que, por definição, não possui ponto de constricção. O tubo germinativo com estreitamento representa a formação de pseudo-hifa derivada de um processo de brotamento do blastoconídio (KONEMAN et al.,2001).

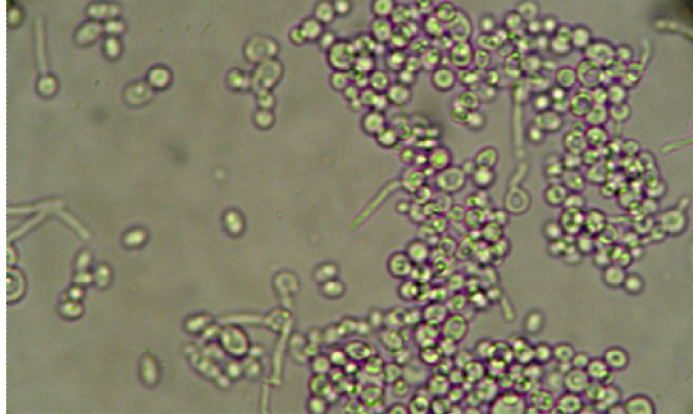


Figura 1– Tubo germinativo emergindo de um blastoconídio – *Candida albicans* (400 X).

Deve-se realizar o seguinte procedimento para a prova do tubo germinativo: com o auxílio de uma alça de platina esterilizada, retira-se pequena alíquota de uma colônia da levedura, submetida a crescimento prévio de 24 a 48 horas. A alíquota é inoculada em um tubo contendo de 0,5 a 1,0 ml de soro humano (pode-se também utilizar soro de coelho, de cavalo, de carneiro ou albumina sérica). A suspensão é incubada a 37°C durante 2 a 3 horas, não devendo exceder este tempo. Depois de decorrida a incubação, uma gota da suspensão é retirada com auxílio de uma pipeta e colocada entre lâmina e lamínula para ser observada ao microscópio óptico, local onde será observado a presença de tubo germinativo. Resultado falso-negativo pode ocorrer quando a amostra clínica provém de portadores de neoplasia submetidos a quimioterapia, ou de pacientes tratados com antifúngicos, nos casos em que se utiliza alíquota muito grande da levedura, resultando em alta concentração de células, ou, ainda, quando o soro é submetido a refrigeração prolongada. Por outro lado, falso-positivo é observado raramente quando *C. tropicalis* e outras espécies de *Candida* são inoculadas por mais de 3 horas, sendo, portanto, necessário que a leitura seja realizada até 3 horas (SIDRIM & ROCHA, 2004).

2.5.6 - Prova do microcultivo

Este cultivo é empregado para conhecimento da micromorfologia. As características do pseudomicélio, pseudo-hifa, hifa verdadeira, forma e disposição dos blastoconídios, presença ou não de clamidoconídios, permitem, quando associados ao comportamento fisiológico, a diferenciação das espécies. Os cultivos em lâmina podem ser permanentes ou semipermanentes. As lâminas permanentes são obtidas pelo dessecamento da película do cultivo, sendo coradas com azul tripan ou azul de metileno. Os cultivos semipermanentes, montados e corados pelo azul-algodão, ácido láctico-ácido fênico, bem como os permanentes, permitem o estudo morfológico comparativo das espécies de *Candida* (LACAZ et al.,2002).

A prova do microcultivo possibilita o estudo micromorfológico das leveduras em meio de ágar-fubá-Tween 80 ou ágar-arroz-Tween 80. A técnica baseia-se no princípio de que a incubação das leveduras em meio com Tween 80 e sob baixa tensão de oxigênio estimula a produção de conídios e filamentação, sendo possível sugerir o gênero, ou até mesmo a espécie, através do estudo da presença e disposição dos blastoconídios, artroconídios, hifas verdadeiras e pseudo-hifas. A presença de clamidoconídios é característica de *C. albicans* ou de *C. dubliniensis*, sendo seu melhor desenvolvimento no extrato de arroz, enquanto o de blastoconídios é intensificado no fubá. Mais de 90% dos isolados de *C. albicans* produzem clamidoconídios, sendo essa característica tão consistente quanto a formação de tubo germinativo (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Os procedimentos para realização do microcultivo começam com o preparo do meio que deve ser distribuído em placas de Petri de 70 mm de diâmetro, as quais serão acondicionadas a 4°C. O meio Ágar fubá com Tween 80 é distribuído sobre lâminas de vidro dispostas sobre um bastão de vidro em “U”, acondicionados no interior de placas de Petri esterilizadas. Cada amostra de levedura a ser testada deve ser semeada em três estrias na superfície do meio, sob o qual é colocada uma lamínula. Para evitar a dessecação do meio, um pedaço de papel de filtro esterilizado e umedecido é adicionado no fundo da placa. Após incubação de 48 a 72 horas a 28°C, a leitura deve ser realizada em microscópio óptico com objetivas

de 20X e 40X para observação das características micromorfológicas do fungo (SIDRIM & ROCHA, 2004).



Figura 2– Micromorfologia de *C. albicans* em ágar fubá, destacando-se a presença de grande número de clamidósporos, sésseis e terminais – (400X).

2.5.7 - Assimilação de carboidratos

A identificação das leveduras é baseada fundamentalmente nas provas (testes) de assimilação de carboidratos e nitrogênio e na prova de fermentação de carboidratos (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A assimilação de carboidratos é a habilidade que uma levedura tem de crescer aerobicamente na presença de determinado carboidrato fornecido como única fonte de energia. A prova pode ser realizada em meio basal líquido ou sólido. Como este último é mais adaptado á rotina por apresentar execução mais simples e leitura mais precoce e precisa, será utilizado como modelo para execução da técnica (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A assimilação em meio sólido ou técnica auxanográfica emprega meio de Agar destituído de qualquer fonte de carbono, adicionado da suspensão da levedura e distribuído em placa. Após a solidificação, são aliquotados os carboidratos sobre o Agar. Alternativamente, podem-se utilizar discos de papel de filtro impregnados com

os diferentes carboidratos, disponíveis comercialmente ou confeccionados no próprio laboratório. A positividade é avaliada através da observação de halo de crescimento da levedura em presença do carboidrato fornecido. Podem ser utilizados como fontes de carbono: dextrose, maltose, sacarose, galactose, lactose, trealose, melibiose, L-arabinose, celobiose, xilose, rafinose, dulcitol, ramnose, inulina, manitol, inositol e outros necessários (SIDRIM & ROCHA, 2004).

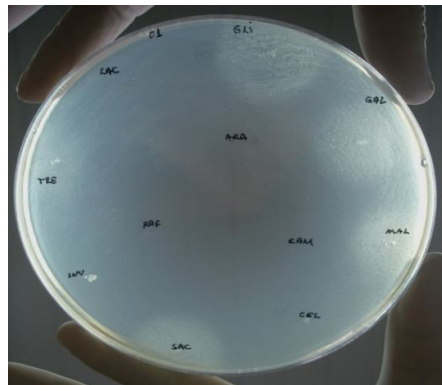


Figura 3 – Auxanograma - teste de assimilação de açúcares. Foram utilizados 11 carboidratos: glicose, sacarose, trealose, maltose, galactose, celobiose, inulina, lactose, arabinose, rafinose, ramnose. Observar assimilação de açúcar em GLI (glicose), GAL (galactose), MAL (maltose), SAC (sacarose) e TRE (trealose).

2.5.8 - Assimilação de nitrogênio

A assimilação de nitrogênio é a habilidade que uma levedura tem de crescer aerobicamente na presença de um composto nitrogenado fornecido como única fonte de energia. Essa prova também pode ser realizada em meio basal líquido ou sólido, cada laboratório padroniza uma das técnicas que seja mais adequada à sua rotina. A assimilação de fontes nitrogenadas em meio sólido ou técnica auxanográfica emprega meio de Agar destituído de qualquer fonte de nitrogênio, adicionado da suspensão de leveduras e distribuído em placa. Após a solidificação, são aliqotados compostos nitrogenados sobre o ágar. A positividade é avaliada através do crescimento da levedura em presença do composto nitrogenado fornecido. Geralmente, empregam-se a peptona (controle positivo) e o nitrato de

potássio como fontes de nitrogênio, mas outros compostos podem ser utilizados (SIDRIM & ROCHA, 2004).

2.5.9 - Fermentação de carboidratos

Fermentação de carboidratos é a habilidade que uma levedura tem de crescer anaerobicamente na presença de determinado açúcar fornecido como única fonte de energia, observada através da produção de gás carbônico e alteração de pH. Pode ser realizada em meio líquido ou semi-sólido (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A prova é realizada inoculando-se suspensão de levedura em tubo de ensaio contendo meio de cultura, solução do açúcar desejado a 2% e um tubo de Durham invertido. A positividade é observada através da produção de gás no interior do tubo de Durham e da mudança da coloração do meio, quando se utiliza um indicador de pH. Geralmente são utilizados os carboidratos dextrose, maltose, sacarose, galactose, lactose, e trealose, mas outros podem ser empregados, se necessário (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Com poucas exceções, observa-se que, quando uma levedura utiliza uma fonte de carboidrato fermentativamente, é também capaz de utilizá-la oxidativamente. O contrário não é verdadeiro (SIDRIM & ROCHA, 2004).

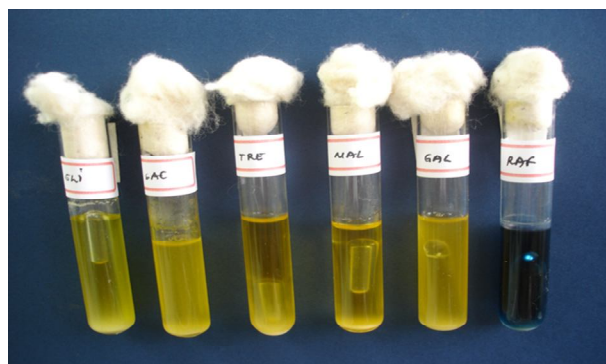


Figura 4 – Zimograma - teste de fermentação de açúcares. Foram utilizados 6 carboidratos: glicose, lactose, trealose, maltose, galactose e rafinose. Observar formação de gás em GLI (glicose), TRE (trealose) e MAL (maltose).

2.5.10 - Técnicas modernas de identificação

No sentido de reduzir o trabalho e o tempo que são empregados na identificação das leveduras pelo método clássico, a indústria desenvolveu meios de cultivo e Kits de identificação que apresentam sensibilidade e especificidade variáveis

Os sistemas comerciais estão sofrendo mudanças constantes no que se referem os testes bioquímicos e ao banco de dados. Assim, não se justifica o estudo detalhado de cada um deles, pois a embalagem e as instruções do fabricante contêm as informações atualizadas (SIDRIM & ROCHA, 2004).

2.5.11 - Método de isolamento primário

Desde meados de 1950, existem vários meios de cultivo capazes de gerar o crescimento de colônias de cores distintas, segundo a espécie de levedura. Sua limitação residia na pobreza de matizes, resultando em reduzida sensibilidade e especificidade. Na década de 90 foi lançado o CHROMagar Candida®, meio de isolamento cromogênico capaz de fazer a identificação presuntiva das espécies de levedura mais comumente isoladas de material clínico, como também de facilitar o reconhecimento de culturas mistas de leveduras. Seu princípio é a produção de cor nas colônias por reações enzimáticas espécie-específicas, com um substrato cromogênico do meio. A sensibilidade e especificidade do método excedem 99% para *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, que geram, respectivamente, colônias de coloração verde, azul e rosa-pálido. A leitura do teste é realizada após 72 a 96 horas do crescimento do cultivo.

Sistemas para triagem de *C. albicans* são métodos simples e úteis para discriminar entre *C. albicans* e “leveduras não *albicans*”. Entre eles, destacam-se: *C. albicans* screen® (Carr-Scarborough), Bacti-Card *Candida*® (Remel) e MUREX *Candida albicans*® (Murex Diagnostics), entre outros. Produzem resultados rápidos, em, no máximo, 30 minutos, com sensibilidade e especificidade acima de 95% (SIDRIM & ROCHA, 2004).

2.5.12 - Sistemas manuais e automatizados para identificação das leveduras

Baseiam-se, essencialmente, em provas de assimilação de carboidratos. Os fabricantes, em geral, recomendam a realização de provas adicionais, como análise macro e micromorfológica, pesquisa de cápsula e outras. Os sistemas manuais mais utilizados são o API 20C® (BioMérieux), o ID 32C® (BioMérieux), e o Auxacolor® (Sanofi Diagnostics-Pasteur). Esses kits consistem em galerias plásticas contendo microcúpulas com carboidratos desidratados. Nestas se inocula suspensão da levedura e incuba-se sob temperatura e tempo adequados. As provas positivas podem ser traduzidas pela turvação da microcúpula ou pela mudança da sua coloração. O resultado é comparado com um banco de dados fornecido pelo fabricante. Vale salientar que a galeria do ID 32C inclui algumas provas que requerem leitura automatizada. Os métodos automatizados mais difundidos são o Microscan Rapid Yeast Ident (Baxter) e o AutoMicrobic (BioMérieux-ViteK). Trata-se de sistemas controlados por computador, os quais são reidratados com a suspensão da levedura. Os resultados das provas bioquímicas são automaticamente interpretados (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Algumas recomendações devem ser seguidas quando se utiliza um método comercial manual ou automatizado para a identificação de leveduras: utilizar sempre microcultivo como teste adicional, cuidado para obter inóculos puros e viáveis, familiarizar-se com procedimentos e padrões de leitura, certificar-se sobre quais espécies são identificadas por cada método, avaliar a correspondência do sistema comercial com o método clássico, realizar controle de qualidade com organismos-controle, estocar os kits em temperatura adequada, respeitar o prazo de validade dos kits, realizar manutenção periódica dos aparelhos e operá-los de acordo com a orientação do fabricante, e, finalmente, lembrar que sistemas não substituem profissionais competentes (SIDRIM & ROCHA, 2004).

2.6 - Antifúngicos

A anfotericina B (AmB) foi a droga de escolha no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas há quase 40 anos. No entanto, devido a sua alta toxicidade, novas formulações e combinações de drogas foram estudadas. Um aspecto importante da terapia combinada, conforme determinado pelos estudos *in vitro*, é a utilização de concentrações reduzidas das drogas empregadas na associação, resultando em um efeito antifúngico semelhante e em uma menor toxicidade, quando comparada a droga isoladamente (CHANG & CURY, 1998).

O metronidazol não apresenta atividade antifúngica em concentrações abaixo de 16 mg / ml. Combinado com a anfotericina B, este azólico mostrou possuir ações fungistáticas e fungicidas em baixa concentração. A potencialização da atividade da anfotericina B foi um fenômeno que variou. Somente interações sinérgicas e aditivas foram observadas, mas o sinergismo ocorreu contra a maioria das leveduras. Um estudo mostrou que a estatística de CIMs (concentração inibitória mínima) de anfotericina B associados contra *C. albicans* ($P < 0,05$) e *C. parapsilosis* ($p < 0,05$) foram significativamente inferiores a CIM de anfotericina B isolada (CHANG & CURY, 1998).

A terapia combinada tem sido uma preocupação primordial de médicos na tentativa de diminuir a incidência emergente de microrganismos resistentes, de melhorar regimes posológicos e reduzir a toxicidade dos fármacos. Embora as definições de interações resultantes de fármacos combinados são demonstradas consistentemente na literatura, os limites estabelecidos pelos diferentes autores podem variar. As razões para essas discrepâncias, especialmente em estudos empregando diluição dupla, estão relacionados com o fato de que um único erro experimental nas diluições, pode diminuir o MIC ou MFC da droga pela metade ou aumentar a dupla. Nestas condições, é importante que várias repetições do experimento *in vitro* sejam realizadas antes de conclusões finais sobre o tipo de droga combinada pode ser feita (CHANG & CURY, 1998).

De acordo com o estudo observou-se interações aditivas ou sinérgicas entre Anfotericina B e Metronidazol (Me) contra *C. albicans*. Além disso, verificou-se que a

combinação de AmB e Me pode possuir um amplo espectro de ação, uma vez que o mesmo mostra favoráveis interações com as outras espécies de *Candida* estudadas.

Esses achados podem estar relacionados com os mecanismos de ação da droga; assim, a alteração da membrana celular fúngica por AmB pode facilitar a penetração e, conseqüentemente, a atividade de moléculas específicas (CHANG & CURY, 1998).

É possível que outros eventos ou mecanismos complexos possam estar envolvidos nas interações observadas entre essas drogas. Relatórios sobre o mecanismo de ação destes azóis apenas incluiu estudos com bactérias e protozoários. Segundo alguns autores, Metronidazol entra na célula bacteriana mais rapidamente em condições anaeróbias. Após redução de mais metabólitos polares, provavelmente proteínas transportadoras, de baixo potencial redox, tais como ferredoxina, que liga e degrada DNA celular. Dado que a redução deste azóis é essencial para a sua atividade, é possível similar enzimas presentes em espécies *Candida*, que são capazes de promover essa reação. Isso poderia ser esclarecido através de estudos mais abrangentes que podem ser suportadas em função das interações já observadas para AmB-Me combinação, que também apontou positivamente o desempenho das futuras experiências empregando modelo animal (CHANG; CURY, 1998).

Espécies de *Candida* são agentes etiológicos de infecções muco-cutâneas disseminadas no homem e são as mais comuns entre as micoses que acometem os humanos. A candidose disseminada possui um significado particular em imunocomprometidos e em pacientes debilitados, sendo a quarta infecção nosocomial sistêmica mais comum. Os medicamentos usados no tratamento de Candidoses sistêmicas são principalmente, a anfotericina B em suas formulações lipídicas ou convencionais; os triazóis, fluconazol e voriconazol e, recentemente, também as equinocandinas, principalmente, a caspofungina. Apesar da melhoria considerável na evolução dos pacientes com candidose sistêmica, como um resultado da introdução de uma variedade de agentes terapêuticos, a gestão da infecção deixa ainda lugar para novos avanços. Uma atenção particular se justifica

na prevenção do desenvolvimento da infecção na população de risco (KYSSELGOF et al., 2007).

A aderência de *Candida* em tecidos é considerada um grande requisito para o desenvolvimento de uma infecção e etapa inicial do processo infeccioso. Assim, acredita-se que a inibição desta etapa contribui para a prevenção do desenvolvimento da infecção. A modulação da aderência pode ser alcançada pela ligação competitiva de análogos de adesina microbianas ou de receptores da célula do hospedeiro, fisicamente ou por manipulações químicas que podem interferir na interação entre o microorganismo e o hospedeiro (KYSSELGOF et al., 2007).

Antimicrobianos podem ser incluídos como possíveis agentes que podem afetar os processos de adesão pelas alterações da superfície celular microbiana envolvidos na interação. A exposição dos microrganismos *in vitro* aos antimicrobianos em concentrações inibitórias e subinibitória tem, de fato, demonstrado afetar a aderência. As equinocandinas são o único grupo comercialmente disponíveis e clinicamente utilizáveis de antifúngicos que atuam na parede celular fúngica, interferindo na síntese de glucanos, e não na membrana celular, assim como a maioria dos antifúngicos comercialmente utilizáveis. Estes agentes atuam através da inibição da síntese de 1,3-beta-D-glucano, uma enzima envolvida na produção de glucano, um componente essencial da parede celular fúngica. As equinocandinas demonstram atividade *in vitro* contra uma grande variedade de leveduras (incluindo tanto *C. albicans* e espécies não-*albicans*) (KYSSELGOF et al., 2007).

2.7 - Alterações nos mecanismos de resistência para *C. albicans* na infecção pelo HIV

A pele e as mucosas representam a principal porta de entrada de agentes patogênicos oportunistas, levando a um risco de disseminação sistêmica em pacientes imunossuprimidos. Em pessoas híidas, vários fatores imunológicos e mecanismos de defesa não imunológicos, limitam diretamente a proliferação de microrganismos patogênicos. Na cavidade oral, o fluxo e a composição da saliva

estabelecem um equilíbrio dinâmico entre *C. albicans* e outros membros da microbiota comensal, impedindo o estabelecimento de candidíase oral em condições normais de saúde (REPENTIGNY et al., 2004).

O fluxo salivar protege a cavidade oral contra leveduras e bactérias. Um efeito similar é observado em pacientes com infecção avançada pelo HIV, nos quais a taxa do fluxo salivar é reduzida em torno de 40% e também está correlacionada com o aumento de Candidíase. A incidência de candidíase oral é também relevante em doentes com saliva ácida, e um baixo pH aumenta a aderência de *C. albicans* às superfícies epiteliais *in vitro*. O aumento de glicose na saliva aumenta a taxa de crescimento de *C. albicans in vitro*, e o pH ácido fornece um ambiente necessário ao desenvolvimento de candidíase, que reforçam virulência devido a uma grande variedade de substratos incluindo as mucinas, que desempenham um importante papel na lubrificação das superfícies epiteliais. O pH da mucosa também regula a expressão dos genes de virulência da *C. albicans*, PHR1 e PHR2, sendo, portanto, uma parte significativa do ambiente, determina a capacidade virulência da *Candida* como também a modulação das defesas do hospedeiro. Finalmente, a formação do biofilme por *C. albicans* foi implicada na capacidade do fungo de causar infecção persistente sobre materiais de prótese, incluindo dentadura, bem como nas mucosas. Contudo, não ocorrem diferenças significativas quantitativas de formação do biofilme entre *C. albicans* isoladas de cavidade oral em pacientes HIV positivos e pessoas saudáveis, o que indica que é improvável que a capacidade de formação do biofilme por *C. albicans* contribuem para os altos níveis de candidíase oral nos casos de infecção por HIV. Várias proteínas salivares antifúngicas, incluindo lisozima, lactoferrina e a histatina inibem o crescimento de *C. albicans* e sua aderência ao epitélio oral. Devido à diminuição dessa atividade antifúngica na saliva de doentes infectados pelo HIV, várias investigações têm focado na identificação de supostos defeitos nas proteínas salivares antimicrobianas que podem favorecer a candidose oral em pacientes HIV positivos (REPENTIGNY et al., 2004).

Lisozima e lactoferrina são as duas grandes proteínas antimicrobianas, não imunológicas da saliva, que possuem atividade fungicida contra *C. albicans in vitro*. Lisozima é encontrada em uma concentração de 1,5 a 57 g/mL de saliva, e acredita-

se que suas propriedades antifúngicas são mediadas pela hidrólise enzimática de ligações N-glicosídicas na parede celular microbiana. Curiosamente, a concentração salivar de lisozima está aumentada em doentes infectados pelo HIV com ou sem candidose oral, e uma tendência para a progressiva resistência *in vitro* à lisozima foi observada em *C. albicans*, com seqüência genética similar, isoladas de pacientes infectados com o HIV. Mesmo a concentração de lisozima estar aumentada em doentes infectados com HIV, a contribuição da lisozima salivar para limitar a proliferação de *C. albicans* na cavidade oral destes doentes parece duvidosa. Lactoferrina é um membro da família de transferrina e é encontrada na superfície da mucosa, onde funciona como um componente da primeira linha de defesa contra infecções. A concentração de lactoferrina na saliva é de cerca de 7 a 20 g / ml, bem como a sua atividade fungicida contra *C. albicans*, foi atribuída não só ao seqüestro de íons ferro, mas também aos danos estruturais para a parede celular fúngica e ativação de enzimas intracelulares líticas. As concentrações salivares de lactoferrina têm sido variavelmente relatadas, em pacientes com infecção pelo HIV. A predisposição à candidíase oral em pacientes infectados pelo HIV, não tem associação com a produção defeituosa de lactoferrina. Em contraste com a lisozima, isolados de *C. albicans*, geneticamente similares, de pacientes infectados pelo HIV, não desenvolveram progressiva resistência *in vitro* à lactoferrina. O potencial terapêutico da lactoferrina para o tratamento de OPC levou recentemente ao desenvolvimento de comprimidos de lactoferrina com atividade fungicida contra *C. albicans* e *C. glabrata*. Esta nova abordagem para o tratamento da candidíase mucosa exigirá validação adicional em ensaios clínicos (REPENTIGNY et al., 2004).

A família de histatinas salivares é constituída por pelo menos 12 proteínas de baixo peso molecular e, estruturalmente relacionadas, que contribuem igualmente para a defesa não imunológica da mucosa oral. As histatinas têm ampla atividade fungicida contra fungos patogênicos, incluindo *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, e *Aspergillus fumigatus*, e estão presentes em 50 a 425 g/mL. O mecanismo de ação das histatinas é, portanto, distinto de outros peptídeos catiônicos, pois pode ser diretamente inserido nas membranas celulares e por causa de sua natureza anfipática, rompe as estruturas helicoidais. A concentração de histatina na saliva de pacientes HIV varia, podendo estar aumentada, inalterada ou

diminuída e estes resultados aparentemente discordantes podem ter sido causados pelos diferentes estágios da infecção pelo HIV entre os pacientes em estudo bem como pelos métodos analíticos empregados. No entanto, as concentrações reduzidas de histatinas correlacionam com uma maior tendência para a candidíase oral em um subgrupo de doentes infectados com o HIV, sugerindo que a diminuição da concentração de histatina ou incapacidade destas proteínas salivares de interagir com *C. albicans* pode contribuir para uma defeituosa atividade antifúngica visto nos pacientes infectados por HIV (REPENTIGNY et al., 2004).

2.8 - Sistema imunológico da mucosa oral contra *C. albicans*

2.8.1 - Células com potencial imune na mucosa oral

A mucosa oral é constantemente desafiada pelos residentes da flora microbiana e ocasionalmente por patógenos microbianos, portanto, é formada por populações de células que, individualmente, ou em associação, possam produzir uma proteção da resposta imunológica inata ou adquirida. A mucosa possui células com potencial imune como células de Langerhans, macrófagos, células-T, queratinócitos, e PMNs (REPENTIGNY et al., 2004).

A relação de CD4⁺/CD8⁺ no epitélio oral é de 1:2 e na pele é de 1:4 indicando a presença preferencial de CD8⁺ em ambos os sítios, mas células CD4⁺ são proporcionalmente mais freqüentes na mucosa oral do que na pele. No entanto, uma relação CD4⁺/CD8⁺ de 1:1 no interior do epitélio da gengiva indica uma variação na cavidade oral. Em contraste com pessoas normais, células CD4⁺ são duas vezes mais numerosas que células CD8⁺ na mucosa oral de ratos normais. Células T CD4⁺ são necessárias para uma resposta protetora do tipo Th1 contra a candidíase oral em ratos e, portanto, desempenham um papel central na defesa do hospedeiro contra OPC. Sobre a relevância na defesa do hospedeiro contra OPC em infectados pelo HIV, o epitélio bucal é um indutor na geração de linfócitos-T citotóxicos, resposta mediada pelo complexo de histocompatibilidade (MHC) classe I, células T CD8⁺, independente de células CD4⁺. Tem sido sugerido que linfócitos T CD8⁺ são atraídos para o epitélio por IL-8 produzida por queratinócitos. Além disso, IL-2 (mas

não interferon gamma (IFN- γ) ativa células CD8⁺ a exercer direta inibição contra o crescimento de hifas de *C. albicans*. No entanto, células CD8⁺ podem não estar próximas a hifas de *C. albicans*, que são geralmente confinadas a camadas superficiais do epitélio. Alternativamente, células CD8⁺ podem produzir citocinas que aumentam a atividade antimicrobiana de macrófagos e neutrófilos contra *C. albicans*. Além disso, a expressão de moléculas MHC Classe I constitutiva em queratinócitos pode representar um alvo para linfócitos T citotóxicos CD8⁺ após a interiorização por queratinócitos de patógenos (REPENTIGNY et al., 2004).

Células natural killer (células NK) são grandes linfócitos granulares, células citotóxicas que *in vitro* atuam em células tumorais e em células infectadas por vírus. Possuem também atividade antimicrobiana contra *Cryptococcus neoformans*, mas pouco ou nenhum efeito contra hifas de *C. albicans in vitro* (REPENTIGNY et al., 2004).

Macrófagos e PMNs diferenciam em monócitos e neutrófilos na corrente sangüínea. Nos indivíduos não infectados, monócitos circulantes diferenciam nos tecidos residentes em macrófagos, em contraste com PMNs, que são mantidos quase exclusivamente na circulação. Por causa de seu papel-chave na resposta imune inata, estas duas populações de células estão na primeira linha de defesa contra patógenos da microbiota oral. Na mucosa oral de um indivíduo normal, macrófagos estão localizados principalmente na lâmina própria, enquanto PMNs aparecem na lâmina própria e no epitélio, somente em resposta a inflamação. Os macrófagos não são uma população celular homogênea, mas pode ser separada biologicamente em subpopulações que aparecem em várias fases da inflamação (REPENTIGNY et al., 2004).

Até o momento, células de Langerhans, monócitos, macrófagos, e PMNs são as únicas células que foram notificadas como antifúngicas; os macrófagos e PMNs tem a capacidade de matar blastoconídios e hifas de *C. albicans* (REPENTIGNY et al., 2004).

2.8.2 - Anticorpos antifúngicos

Anticorpos anti-*Candida*, IgG na circulação e IgA e IgG na mucosa, podem ser detectados em indivíduos saudáveis. Além disso, mais de 80% das pessoas saudáveis têm teste cutâneo positivo para antígeno de *Candida*, e linfócitos do sangue periférico de mais de 90% dos indivíduos saudáveis proliferaram *in vitro* devido ao antígeno. Presume-se que estas respostas, em conjunto com resistência inata (ou seja, leucócitos polimorfonucleares e macrófagos), desempenham um papel significativo na restrição de *C. albicans* às superfícies mucosas em indivíduos assintomáticos. Sob condições de imunossupressão, no entanto, *C. albicans* pode converter em um patógeno oportunista com morbidade significativa (FIDEL, 2006).

Candidíase invasiva é uma patologia difícil sem sinais típicos ou sintomas clínicos. A suspeita clínica, hemocultura e biópsia de tecidos são as atuais abordagens de diagnóstico (KUMAR et al., 2007). No entanto, estes testes muitas vezes possuem baixa sensibilidade. Devido ao fracasso em melhorar a sensibilidade de técnicas convencionais, a atenção tem sido voltada para detecção de antígeno e anticorpos antifúngicos. Numerosos estudos têm sido realizados, focando a detecção do antígeno de *Candida* (KUMAR et al., 2007).

Observações clínicas indicam que anticorpos desempenham um papel importante contra candidíases, porque indivíduos com defeitos na imunidade celular são particularmente propensos a candidíase superficial, mas não a candidíase disseminada (KUMAR et al., 2007).

A detecção de anticorpos em pacientes imunocomprometidos supostamente tem o problema da baixa sensibilidade devido à ausência da resposta do anticorpo (KUMAR et al., 2007).

Análise de anticorpos anti-*Candida* neste estudo revelaram que 64,3% dos pacientes HIV positivos produziram certo grau de anticorpos anti-*Candida*. Dentro das três categorias de doentes infectados pelo VIH (positivo, equivocado e negativo), não foi observada uma forte correlação entre candidíase orofaríngea, contagem CD4+ e anticorpos anti-*Candida*. Contudo, a análise das contagens de CD4+ em doentes infectados pelo HIV, com referência à presença ou ausência de

anticorpos anti-*Candida*, revela que, mesmo com a baixa contagem de CD4+ (<100 cells/mm³), os pacientes infectados pelo HIV podem produzir anticorpos. O papel que esses anticorpos desempenham na proteção deve ser estudado mais detalhadamente (KUMAR et al., 2007).

As caracterizações das especificidades destes anticorpos também revelam propriedades celulares antigênicas, que podem representar potenciais candidatos ao desenvolvimento de vacina (KUMAR et al., 2007).

2.8.3 - Mecanismos de proteção Imune Celular contra *C. albicans* na Mucosa Oral

Para a compreensão dos mecanismos de defesa da mucosa oral contra *C. albicans*, foi realizado um grande trabalho com ratos infectados, imunodeficientes. Estes estudos demonstraram que células T desempenham um papel de resistência a *C. albicans* nas mucosas colonizadas ou infectadas e que um defeito na ação de fagócitos é necessário para produzir disseminação de *C. albicans* no trato gastrointestinal. Outras investigações mostraram que, embora células Th1, Th2 e CD4⁺ estejam envolvidas na recuperação da candidíase primária em ratos imunocompetentes, a ativação de uma resposta Th1 ocorre em animais que mostram uma hipersensibilidade a *Candida* e proteção após uma segunda inoculação gastrointestinal. Atualmente este estudo tem estabelecido um paradigma de um papel central para uma resposta Th1 CD4⁺ no acolhimento de defesa contra a candidíase de mucosa (REPENTIGNY et al., 2004).

2.9 - Candidíase na evolução do HIV

Candidíase esofágica e OPC podem ocorrer a qualquer momento durante o curso da infecção pelo HIV como na fase primária, na crônica assintomática e na manifestação da AIDS. Durante a fase crônica assintomática, as candidíases eritematosas e pseudomembranosas são indicativas de imunodeficiência, independente da contagem de CD4⁺. Isto indica que a defesa do organismo contra

candidíases está alterada na progressão da infecção por HIV, mesmo antes de qualquer redução de contagens de CD4⁺ (REPENTIGNY et al., 2004).

No entanto, a prevalência da pseudomembrana e candidíase esofágica aumentam drasticamente com o avanço da infecção pelo HIV quando associada a contagens de células CD4⁺ menores que 200/m³, enquanto que a candidíase eritematosa e a queilite angular são menos associadas à doença tardia. A associação a baixa contagem de células de CD4⁺ e OPC também estão associadas em mulheres infectadas pelo HIV e em crianças (REPENTIGNY et al., 2004).

A elevada carga viral também pode ser associada a um maior risco de OPC e candidíase esofágica e correlacionada inversamente com a contagem de CD4⁺, especialmente na ausência de tratamento com HAART (REPENTIGNY et al., 2004).

2.10 - Contagem de CD4⁺ versus carga viral em pacientes HIV

Historicamente, as células CD4⁺ foram o marco para a candidíase orofaríngea (OPC) em imunossuprimidos. Na década de 1990, uma contagem de 400 células/L foi considerada proteção para OPC. Em 2000, o limite inferior foi reduzido para 200 células/L. Em estudos posteriores, surgiram outros fatores a favor ou contra OPC, incluindo anti-retrovirais (HAART), drogas intravenosas, atividade sexual de alto risco, mecanismos de defesa e a carga viral. De fato, a carga viral foi considerada em algumas análises ser mais importante do que número de células CD4⁺, como preditor de OPC e inversamente associado com número de células CD4⁺. Mas, na realidade, poucos estudos dirigem-se ao papel ou associação de contagem de células CD4⁺ versus carga viral em OPC. Para estas perguntas serem respondidas mais formalmente, um grupo de pacientes HIV positivos e pessoas saudáveis com e sem OPC foram examinados em profundidade para encontrar os fatores associados com OPC. Na avaliação da associação entre o número de células CD4⁺ e carga viral na proporção de OPC por regressão logística, a carga viral tinha uma maior associação com OPC que as células CD4⁺ (p <0,001 para carga viral versus p <0,04 para células CD4). A Classificação e a Regressão Tree (CART), foram utilizadas para avaliar a associação entre células CD4⁺ e cargas virais. CART prevê a

percentagem de doentes classificados corretamente por uma determinada regra. Os resultados da CART revelaram que, em pacientes HIV com cargas virais abaixo de 36000 cópias/mL, a probabilidade de OPC é baixa, mas sem efeitos de células CD4⁺. Mas, em cargas virais superiores a 36.000 cópias/mL, a probabilidade de OPC aumenta substancialmente e, além disso, é afetada pelo número de células CD4⁺. Especificamente, quando a carga viral é maior que 36000 cópias/ml e as células CD4⁺ são menores que 45 células/L, houve uma classificação de 100% para condição de OPC. Pelo número de células CD4⁺ entre 45 e 150 células/L, houve classificação de 80% para condição de OPC. Por último, mas inesperadamente, em contagens de células CD4⁺ entre 150 e 500 células/L, houve novamente a classificação de 100% para a condição de OPC. Esta última constatação salienta a falta de estabilidade do CD4⁺, em comparação com o número de células da carga viral em prever OPC. Assim, por estas análises estatísticas em conjunto, a carga viral possui uma associação mais forte a OPC em relação ao número de células CD4⁺. Embora, historicamente, o número de células CD4⁺ ter sido o principal fator preditivo, estas análises estatísticas sugerem que a elevada carga viral pode ser uma forma mais estável de prever a OPC. Assim, a carga viral é mais importante no desenvolvimento da candidíase oral em pacientes HIV positivos. No entanto, não se deve inferir que a elevada carga viral é causadora de OPC, só que é associada com o desenvolvimento de OPC. Existem muitos outros fatores, como dito anteriormente, que muito provavelmente desempenham um papel no desenvolvimento direto de OPC, incluindo células-T CD4⁺, imunidade inata de células-T CD8⁺, álcool ou consumo de drogas intravenosas, e possivelmente um comportamento sexual de alto risco. Existe a possibilidade, porém, de que o HIV não desempenhe um papel muito importante no desenvolvimento de OPC. Na verdade, o desenvolvimento de OPC pode servir como um marcador para uma carga viral > 36.000 cópias/ml. É preciso reconhecer, contudo, que esta informação é baseada em um pequeno grupo de indivíduos infectados pelo HIV, e que os resultados podem ser diferentes de um grupo maior, especialmente com o valor real da carga viral identificado (COOGAN et al., 2006).

2.11 - Terapia Antiretroviral

A introdução em 1996 da terapia antiretroviral, HAART, incluindo inibidores de proteases reduziu drasticamente a prevalência de OPC e de candidose esofágica em pacientes infectados pelo HIV (REPENTIGNY et al., 2004). A terapia anti-retroviral (HAART) tem sido associada também a uma drástica diminuição das taxas de infecções oportunistas relacionadas aos pacientes imunossuprimidos (COSTA et al., 2006).

Embora a incidência de OPC em pacientes HIV positivos ter sido significativamente reduzida desde a introdução da terapia antiretroviral altamente ativa (HAART), esta infecção oportunista continua a ser comum em pacientes infectados pelo HIV em todo o mundo (LEWANDOWSKI ET al., 2006).

OPC é freqüentemente um dos primeiros sinais clínicos da infecção pelo HIV e vai ocorrer em 50 a 95% de todos os pacientes HIV positivos, em algum momento durante a progressão da doença. OPC é também uma manifestação comum de Candidíase muco cutâneo crônica, e também ocorrem em pacientes com linfoma, aqueles submetidos à terapia com esteróides e, em transplantados. OPC é causada principalmente por *C. albicans*, organismo que faz parte da microbiota normal do trato gastrointestinal. Em indivíduos HIV-positivos, a taxa de colonização assintomática é mais elevada, aproximando-se 76% (FIDEL, 2006).

Durante um período de 12 meses após o início do tratamento com antiretroviral, incluindo também o inibidor de protease, reduções significativas foram encontradas na ocorrência de OPC (de 30-56% para 1-9%). Uma diminuição impressionante da incidência de candidíase esofágica, que variou de 29 a 42%, ocorreu no período de 1996 a 1998, em comparação com a primeira metade da década (pré-HAART). Um comparável declínio na incidência de candidíase esofágica foi também observado em crianças infectadas pelo HIV após a introdução da terapia com HAART (REPENTIGNY et al., 2004).

Os mecanismos subjacentes ao impacto dramático de HAART sobre a incidência de OPC e candidíase esofágica têm recebido maior atenção por

estabelecer valiosos conhecimentos na compreensão dos mecanismos de defesa contra *C. albicans* em pacientes infectados pelo HIV (REPENTIGNY et al., 2004).

Várias observações indicam que o aumento da contagem de CD4⁺ em resposta a terapia com HAART confere uma recuperação imunológica e uma diminuição da incidência de infecções oportunistas (REPENTIGNY et al., 2004).

Na verdade, a diminuição de carga viral após a terapêutica com HAART também pode melhorar mucosas com candidíases por corrigir uma disfunção de neutrófilos, induzida pela glicoproteína gp41 do envelope do vírus HIV ou aumentando a contagem de neutrófilos em doentes infectados pelo HIV com neutropenia. Foi apresentado também indício de que a terapia com HAART, independente da constituição do sistema imune, tem efeito inibitório sobre *C. albicans* na cavidade oral de doentes infectados com o HIV e que os inibidores da protease atenuam a aderência de *C. albicans* nas células epiteliais *in vitro* (REPENTIGNY et al., 2004)..

Foi demonstrado que *C. albicans* de pacientes HIV positivos com OPC têm expressão aumentada de *Saps* (enzimas secretoras de aspartil proteinases), eventualmente reforçados pelo envelope gp160 e Gp41 vinculativo para *C. albicans*. Portanto, a inibição da *C. albicans* pelos inibidores da protease (SAPS) podem também contribuir a melhoria da OPC e da candidíase esofágica em pacientes infectados por HIV tratados com HAART (REPENTIGNY et al., 2004).

Terapia anti-retroviral, incluindo inibidores de protease (IPs) pode exercer um efeito direto sobre *Candida* por inibição da virulência fúngica. Todos os isolados foram considerados leveduras comensais e não infectantes, dessa forma provavelmente produzindo baixos níveis de SAPs e reduzindo assim o alvo potencial para os agentes anti-retrovirais. Esta constatação apoia a premissa de que espécies de *C. albicans* isoladas de pacientes com candidíases têm níveis mais elevados de SAPs do que espécies isoladas de candidíase assintomática (COSTA et al., 2006).

Os mecanismos de defesa que limitam a proliferação por *Candida* são ainda indefinidos. Outros fatores como o grupo sanguíneo, baixas taxas de antimicrobianos salivares, enzimas, a presença de bactérias da flora normal, o local da mucosa e o

sistema imunológico poderiam ter um impacto sobre o desenvolvimento da infecção oral por *Candida*. Em conclusão, a colonização oral de *Candida* spp., especialmente *C. albicans* foi detectado com elevada freqüência em doentes infectados pelo HIV. A detecção precoce do transporte oral de *Candida* spp é visto como sendo importante para identificação de pacientes com a propensão para uma rápida progressão da infecção pelo HIV desde que podem influenciar o desenvolvimento de candidíase clinicamente significativa nestes pacientes imunocomprometidos. O estudo também demonstra que o status de *Candida* transportadora oral não está associado com o número de células CD4⁺ ou da carga viral (COSTA et al., 2006).

2.12 - Prevalência das espécies de cândida em pacientes HIV

A presença assintomática de espécies de *Candida* é um achado comum em pacientes HIV positivos e foi demonstrado que ocorre uma alta taxa de candidíase orofaríngea (62,6%) nestes pacientes. Foi demonstrado que *C. albicans* foi a espécie mais comum (50%), mas espécies de *Candida* não *albicans* responderam por 50% de todos os casos. *C. tropicalis* foi a segunda espécie mais frequentemente isolada (20,9%). Esta espécie parece ser prevalente em climas tropicais e sua emergência está sendo reportada por outros autores (COSTA et al., 2006). Embora *C. dubliniensis*, tenha sido recuperada principalmente associada a cavidade oral dos indivíduos infectados por HIV, esta espécie não foi isolada no estudo acima citado (COSTA et al., 2006).

A ausência de espécies como *C. glabrata* e *C. krusei* (apenas um isolado no grupo estudado) pode ser explicada pela não exposição de agentes antifúngicos durante os três meses anteriores, pois os pacientes que receberam tratamento com antibióticos ou antifúngicos nos últimos três meses para fins terapêuticos ou profiláticos foram excluídas deste estudo. A incidência destas espécies é geralmente atribuída ao uso generalizado de fluconazol como terapia profiláctica (COSTA et al., 2006).

2.13 - Biofilme e Antifúngicos

Um biofilme é uma comunidade microbiana estruturada de células delimitadas em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), irreversivelmente ligado a um substrato, exibindo características fenotípicas que variam. Notavelmente, biofilmes associados às células demonstram resistência aos antimicrobianos. Muitos estudos que caracterizam o biofilme bacteriano estão disponíveis e recentemente vários pesquisadores têm tentado caracterizar biofilme fúngicos, principalmente de *C. albicans* (COOGAN et al., 2006).

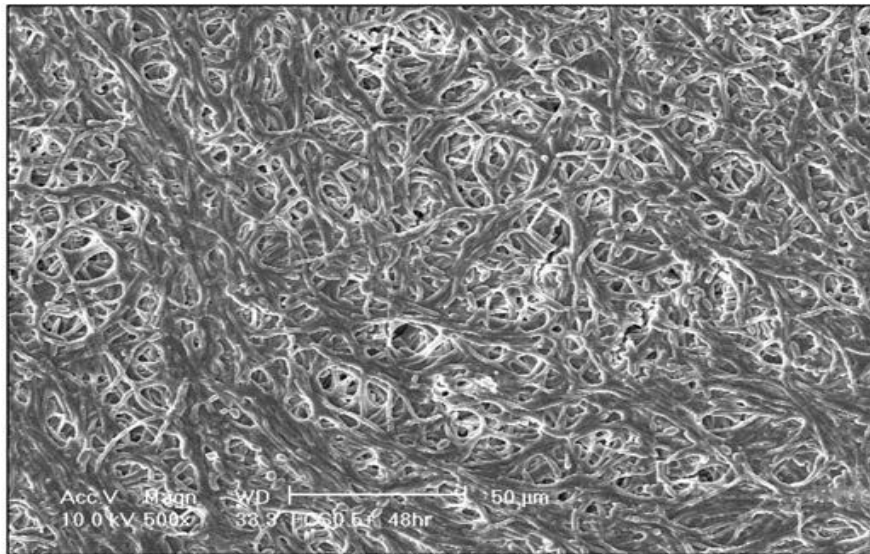


Fig.5 – Biofilme de *Candida albicans* em dentadura. Observa-se hifas e canais de água (COOGAN et al., 2006).

Estudos têm gradualmente desvendado a natureza dos biofilmes em candidíases. Assim, no primeiro estágio de formação do biofilme (fase de aderência), não há estruturas complexas, mas apenas algumas camadas aderidas às células da levedura. Com a formação do biofilme e grau de maturidade, a comunidade leveduriforme começa a diferenciar-se em graus diversos. Curiosamente, biofilmes de candidíases têm uma arquitetura complexa que é semelhante ao do biofilme bacteriano. Uma característica estrutural desse biofilme é a presença de canais de água, que são desenvolvidos para que haja descolamento de microcolônias na

matriz do biofilme. Essas estruturas permitem a eliminação e o afluxo de resíduos e de nutrientes no biofilme, para que assim até as leveduras profundamente enraizadas tenham acesso aos nutrientes e oxigênio. Estudos indicam que as águas nos sistemas de canal dos biofilmes fúngicos são muito semelhantes às do biofilme bacteriano (COOGAN et al., 2006).

A formação do biofilme de *C. albicans* tem três fases de desenvolvimento: aderência de células da levedura ao dispositivo de superfície (fase inicial), constituição de uma matriz com comutação dimórfica de leveduras, presença das formas de hifas (fase intermediária), e aumento do material da matriz assumindo uma arquitetura tridimensional (fase de maturação). Quando plenamente maduro o biofilme de *Candida* adquire uma mistura de formas morfológicas constituindo de uma densa rede de leveduras, hifas, e pseudo-hifas em uma matriz de polissacarídeos, carboidratos, proteínas, e elementos desconhecidos. A formação e a estrutura de biofilmes de *Candida* são influenciadas pela natureza do contacto superficial, pelos fatores ambientais, pela morfogênese, e pelas espécies de *Candida* envolvidas (KOJIC; DAROVICHE, 2004).

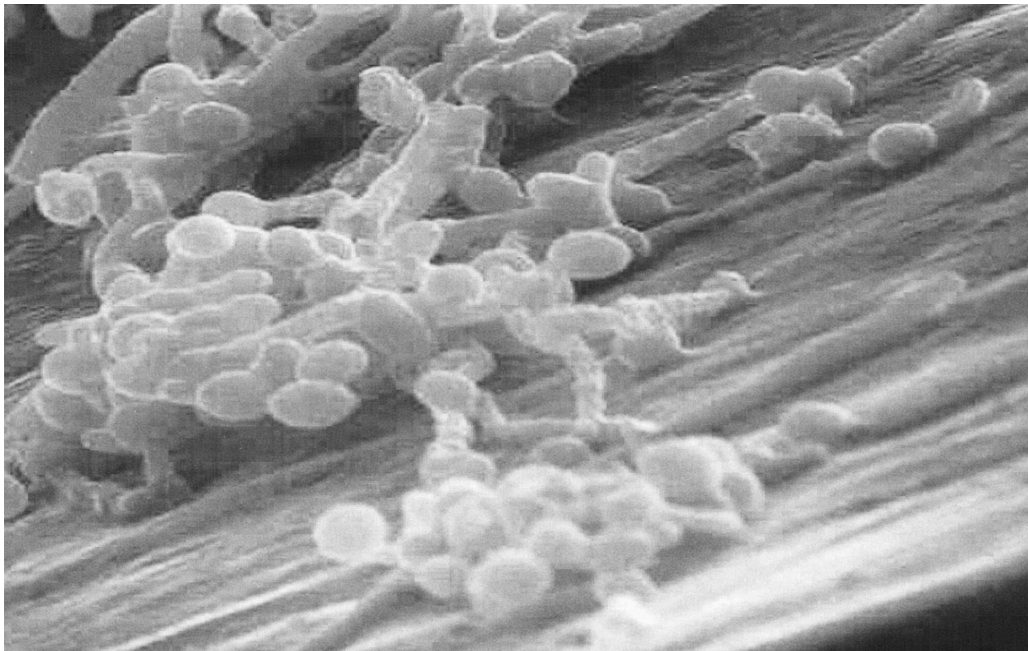


Figura 6: Micrografia eletrônica de varredura de biofilme de *C. albicans* formado em cateter vascular (KOJIC & DAROVICHE, 2004).

A natureza química da superfície de contato demonstrou influenciar a magnitude da formação do biofilme, que é aumentada em comparação com látex de policloreto de vinila, mas diminui substancialmente em poliuretano e 100% de silicone. A arquitetura do biofilme de *C. albicans* é diferente quando é formado em filtros de celulose em comparação de quando é formado em discos de cateter, o que indica que pode depender muito especificamente do contato induzido por expressão genética (KOJIC; DAROVICHE, 2004).

A glicose promove a formação de biofilmes, em especial de *C. parapsilosis*, refletindo o seu potencial em causar infecções relacionadas ao dispositivo em doentes que receberam nutrição parenteral. A superfície celular hidrofóbica correlaciona positivamente com a formação do biofilme como também uma suave agitação. Estas condições também são encontradas *in vivo* (como na circulação e no sistema urinário), favorecendo a formação de biofilme quando dispositivos são inseridos (KOJIC; DAROVICHE, 2004).

Sabe-se que os biofilmes de *Candida* são notoriamente difíceis de eliminar, devido às propriedades específicas, tais como sua resistência aos antimicrobianos. Biofilmes de *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram encontrados e demonstraram uma menor susceptibilidade a uma variedade de agentes antifúngicos (incluindo fluconazol, nistatina, clorexidina, terbinafina, anfotericina B, e os triazóis voriconazol e ravuconazol. Os mecanismos de resistência dos biofilmes de *Candida* aos antifúngicos ainda são mal compreendidos (COOGAN et al., 2006).

Os microrganismos em biofilmes se comportam de maneira diferente dos que estão livremente suspensos em relação à resistência antimicrobiana. Células de *Candida*, no biofilme são marcadamente resistentes aos agentes antimicrobianos. Células de *C. albicans* em biofilmes sobre discos de cloreto de polivinílico têm sido relatadas serem de 30 a 2000 vezes mais resistentes ao fluconazol, anfotericina B, fluocitosina, itraconazol, e cetoconazol. A estrutura do biofilme permanece intacta em uma concentração de Anfotericina B de 11 vezes o MIC e também foram resistentes em espécies de *Candida* não-*albicans*. *In vitro*, o mais recente triazol,

ravuconazol, também se encontrou ineficaz contra biofilmes de *C. albicans* e *C. parapsilosis*, no entanto, Caspofungina demonstrou ser eficaz contra biofilme de *C. albicans* (KOJIC; DAROVICHE, 2004).

Substâncias extracelulares poliméricas podem conferir resistência pela desaceleração da entrada de antimicrobianos nas células, assim, agindo como uma barreira física, além de absorver uma parte significativa dos medicamentos, o que contribui para reduzir a concentração da droga que atinge as células do biofilme (COOGAN et al., 2006).

A diferenciação celular do biofilme e aparecimento de diferentes fenótipos levam a uma resistência a antifúngicos pelas células de leveduras que se encontram dentro do biofilme. Assim, enquanto algumas células do biofilme são mortas, outros descendentes que são resistentes aos antifúngicos podem sobreviver e restabelecer uma nova comunidade (COOGAN et al., 2006). As células do biofilme de *Candida* podem regular a expressão de alguns genes, conferindo resistência a antifúngicos (COOGAN et al., 2006).

O ambiente celular do biofilme pode ter um pH e potencial de oxirredução que não são propícios à atividade dos antifúngicos. Estes mecanismos, individualmente ou em combinação, podem conferir resistência antifúngica sobre os biofilmes, em particular, a variante da candidíase pseudomembranosa comumente vista em pacientes HIV positivos. É bem conhecido que os indivíduos infectados pelo HIV, em comparação com pessoas saudáveis, têm um aumento da incidência e frequência de candidíase oral por *C. albicans*. Uma possível razão para isto pode ser a maior capacidade de formação de biofilme de *Candida*, que colonizam a cavidade oral dos infectados por HIV. Existem outros fatores genéricos que pode explicar o aumento de *C. albicans* e a maior frequência de candidíase oral em infectados por HIV. O primeiro, sem dúvida, é o comprometimento do sistema imunitário, o que poderá também conduzir a eventuais alterações na qualidade do acolhimento das células da mucosa, que oferecem variável receptividade e avidéz para as leveduras (COOGAN et al., 2006).

Embora a incidência de OPC em pacientes HIV positivos tenha sido significativamente reduzida desde a introdução da terapia anti-retroviral altamente ativa (HAART), esta infecção oportunista continua a ser comum em pacientes infectados pelo HIV em todo o mundo (LEWANDOWSKI ET al., 2006).

Estes mecanismos, individualmente ou em combinação, conferem resistência antifúngica nos biofilmes. A candidíase pseudomembranosa comumente vista em pacientes HIV, levam a permanência da doença. É bem sabido que os indivíduos infectados pelo HIV, em comparação com controles saudáveis, têm uma incidência aumentada de *C. albicans* e um aumento da frequência de candidíase oral (SAMARANAYAKE et al., 2002b). Uma possível razão para isto pode ser o aumento da formação de biofilme e a capacidade de colonizar a cavidade oral dos infectados pelo HIV. Existem outros fatores que podem explicar o aumento do transporte e o aumento de *C. albicans* na frequência de candidíase oral em infectados pelo HIV. O primeiro, sem dúvida, é o comprometimento do sistema imunitário, o que também pode levar a possíveis alterações em células da mucosa (Tsang e SAMARANAYAKE, 1999).

3 – Conclusão

As leveduras do gênero *Candida* fazem parte da microbiota gastrointestinal de indivíduos saudáveis. Entretanto podem causar freqüentemente infecções superficiais e sistêmicas em pacientes imunodeprimidos, como pode ser observado em portadores do vírus HIV. Assim é de grande relevância tal estudo, para que ocorram prevenção e controle das infecções decorrentes desses microorganismos em imunodeprimidos. Assim o conhecimento de todo processo infeccioso, do tratamento e principalmente da formação de biofilme possuem grande significado quando se trata de pacientes com HIV.

4 – Referências Bibliográficas

CHANG MR., CURY AE. Amphotericin B-metronidazole combination against *Candida* spp. Ver Iberoam Micol, 1998, 15: 78-80.

COOGAN, MM. et al. *Candida* and Mycotic Infections. Adv. Dent. Res., 2006, 19: 130-138.

COSTA, CR. et al. Asymptomatic oral carriage of *Candida* species in HIV-infected patients in the highly active antiretroviral therapy era. Ver. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 2006, 48(5): 257-261.

CROCCO, EI. et al. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica *in vitro*: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. Anais Brasileiros de Dermatologia, Rio de Janeiro, 79(6): 689-697, nov/dez. 2004.

FALKENSAMMER, Barbara et al. Absent reduction by HIV protease inhibitors of *Candida albicans* adhesion to endothelial cells. Journal Compilation, 2007, 50, 172-177.

FIDEL, PL. *Candida*-Host Interactions in HIV Disease: Relationships in Oropharyngeal Candidiasis. Adv. Dent. Res., 2006, 19: 80-84.

HUNG, Chien-Ching et al. Colonization of Human Immunodeficiency Virus-Infected Outpatients in Taiwan with *Candida* Species. Journal of Clinical Microbiology, 2005, 1600-1603.

KOJIC EM., DAROUICHE RO. *Candida* infections of Medical Devices. Clinical Microbiology Reviews, 2004, 17: 255-267.

KONEMAN EW. et al. Diagnóstico Microbiológico. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 2001.

KUMAR, CPG. et al. Anti-*Candida* antibodies and candidemia in ninety patients with HIV/AIDS and cancer. *Journal de Mycologie Médicale*, 2007, 17: 50-53.

KYSELGOF, G. et al. Caspofungin affects adhesion of *Candida* to a human cell line. *Journal de Mycologie Médicale*, 2007, 17: 1-7.

LACAZ CS. et al. *Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. São Paulo, Savier, 2002.

LEWANDOWSKI, Daniel et al. Altered CD4⁺ T Cell Phenotype and Function Determine the Susceptibility to Mucosal Candidiasis in Transgenic Mice Expressing HIV-1. *The journal of Immunology*, 2006, 177: 479-491.

REPENTIGNY, Louis et al. Immunopathogenesis of Oropharyngeal Candidiasis in Human Immunodeficiency Virus Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 2004, 17: 729-759.

SIDRIM JJC., ROCHA MFG. *Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 2004.

SILVA JO, FERREIRA JC, CANDIDO RC. Atividade enzimática, produção de slime e sensibilidade a antifúngicos de *Candida* sp. *Revista da Sociedade de Medicina tropical*, 2007, 40(3): 354-355.