

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**Marli Sales de Oliveira Montani Caseiro**

**PRESENÇA DE LEVEDURAS DO GÊNERO**  
***Candida* EM INDIVÍDUOS COM HEPATITE C**  
**SUBMETIDOS A TRATAMENTO ESPECÍFICO**

Dissertação apresentada para obtenção do  
Título de Mestre, pelo Programa de Pós-  
Graduação em Odontologia, do Departamento  
de Odontologia da Universidade de Taubaté.  
Área de Concentração: Periodontia  
Orientador: Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso  
Jorge

**Taubaté – SP**  
**2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**MARLI SALES de OLIVEIRA MONTANI CASEIRO**

**PRESENÇA DE LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida* EM INDIVÍDUOS COM  
HEPATITE C  
SUBMETIDOS A TRATAMENTO ESPECÍFICO**

Dissertação apresentada para obtenção do  
Título de Mestre, pelo Programa de Pós-  
Graduação em Odontologia, do Departamento  
de Odontologia da Universidade de Taubaté.  
Área de Concentração: Periodontia

Data: \_\_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Universidade \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Universidade \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Universidade \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Dedico este trabalho ao meu filho Matheus,  
meu maior incentivador, minha maior riqueza.

Aos meus amados pais, Maria e Francisco,  
pelo valioso exemplo de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge, Coordenador Geral do Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade de Taubaté, meu orientador, pela imensurável confiança em mim depositada, por sua demonstração de tranqüilidade, equilíbrio e organização na condução desta pesquisa e pelos ensinamentos que tive a oportunidade de receber.

Ao Ricardo Montani Caseiro, meu marido, pelo apoio, paciência e compreensão durante a realização do curso e deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcos Montani Caseiro, responsável pela Liga de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Ciências Médicas de Santos / Hospital Guilherme Álvaro, pela viabilização da população estudada, literatura recomendada e brilhante exemplo de espírito de pesquisa e dedicação aos seus pacientes.

Ao Professor Paulo Habice Moretti, vice-reitor acadêmico do Centro Universitário Lusíada pela gentileza da cessão do laboratório de Microbiologia e Química , possibilitando a realização de fases laboratoriais deste estudo.

Ao auxiliar de laboratório de Microbiologia e Química do Centro Universitário Lusíada, Ronaldo Rodrigues Fontes, por sua freqüente disponibilidade.

Ao Prof. Dr. Nelson Thomaz Lascala Junior, Coordenador do Curso de Especialização da Associação Brasileira de Odontologia / SP, pelo incentivo e visão criteriosa às idéias desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Roberto Cortelli, Coordenador da subárea Periodontia, pela amizade, exemplo de esforço e dedicação e principalmente ensinamentos oferecidos ao longo do curso.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Débora Pallos, minha querida amiga, por todas as palavras de incentivo e carinho demonstrado.

Às Prof<sup>as</sup>. Dra. Ana Christina Claro Neves, Dra. Lucilene Hernandes Ricardo e Dra. Mariella Vieira Pereira Leão, pela participação na banca de qualificação com análise crítica e enriquecedora.

Ao Prof. Ivan da Silva de Faria, auxiliar docente do Departamento de Microbiologia e à técnica de laboratório, Tânia Cristina Sumita, por todo suporte quando da execução da metodologia desta pesquisa e pelas constantes vibrações ao término de cada etapa.

Aos funcionários do laboratório de Microbiologia da UNITAU pelo sorriso permanente em seus rostos e auxílio sempre que solicitado.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação da UNITAU, Adriana Peloggia e Alessandra Borges Serra pelo carinho, empenho e capacidade profissional.

A todos os indivíduos que aceitaram participar deste estudo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram à realização deste trabalho.

## RESUMO

A hepatite C constitui um dos mais importantes problemas de saúde pública da atualidade, sendo pouco sintomática e podendo levar a alterações sistêmicas e bucais. Existem poucas informações na literatura sobre a presença e possíveis efeitos de fungos do gênero *Candida*, na cavidade bucal de indivíduos com hepatite C. O objetivo do presente estudo foi avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida* em indivíduos portadores do vírus da hepatite C, submetidos a tratamento específico com fármacos, comparando-os aos que ainda encontravam-se sem tratamento. Foram analisadas amostras de saliva de 72 indivíduos, dos quais 36 constituíam o grupo controle (sem tratamento) e 36 faziam parte do grupo teste (sob tratamento), aos quais estava sendo administrados Interferon peguilado e Ribavirina (IFNpeg/RBV) há pelo menos 45 dias. Amostras de saliva foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e a seguir, as leveduras foram isoladas e as espécies identificadas por meio de provas morfológicas e bioquímicas. Os resultados demonstraram que a presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de indivíduos com hepatite C apresentou-se elevado (84,72% dos indivíduos). Não ocorreu entretanto, diferença significativa entre os portadores de hepatite C submetidos (grupo IFNpeg/RBV) ou não (grupo controle) a tratamento medicamentoso. O número de espécies de leveduras do gênero *Candida* encontradas na cavidade bucal de indivíduos com hepatite C e submetidos a tratamento foi maior que no grupo controle. Ocorreu maior frequência de isolados de *Candida* não identificados fenotipicamente na cavidade bucal dos indivíduos com hepatite C submetidos a tratamento com fármacos, (grupo teste) em relação ao grupo controle e denominados neste estudo como *Candida* spp. Não ocorreu diferença na quantidade de leveduras do gênero *Candida* (UFC/mL de saliva) na cavidade bucal dos indivíduos portadores de hepatite C submetidos ou não a tratamento medicamentoso.

Palavras-chave: *Candida* spp. HCV. Hepatite C. Interferon peguilado. Ribavirina. Alterações bucais.

## ABSTRACT

Hepatitis C is considered one of the most important problems of public health at the present time, being few symptomatic and causes several systemic and oral modifications. There is few information in the literature about the presence and possible effects of *Candida* gender yeasts in the oral cavity of individuals with hepatitis C. The aim of the present study was to evaluate the presence of yeasts of the *Candida* gender in carriers virus of hepatitis C submitted to a specific treatment, comparing the results with individuals without treatment. Samples of saliva from 72 patients were analyzed, 36 were included in the control group (without treatment) and 36 in the test group (interferon peguilated-ribavirin). Samples were plated in Sabouraud dextrose agar with cloramphenicol, yeasts were isolated and species identified by morphologic tests and biochemicals. *Candida* gender yeasts in the oral cavity of hepatitis C individuals is very high (84.72% of the individuals). No significant difference among the carriers of hepatitis C submitted to interferon peguilated-ribavirin or not (control group) was observed. *Candida* gender species diversity was observed in the oral cavity of hepatitis C individuals in the test group was greater than in the control group. Higher frequency of isolates of *Candida* fenotipically no identify in the oral cavity of the individuals with hepatitis C submitted to treatment with drugs (test group) in relation to the control group and call in this study *Candida* spp. Differences in counts of yeasts (cfu/mL of saliva) of the *Candida* gender were not observed in the oral cavity of the hepatitis C patients submitted or not to the specific treatment.

Keywords: *Candida* spp. HCV. Hepatitis C. Interferon peguilated. Ribavirin. Oral alterations.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HCV	Vírus da hepatite tipo C
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
RBV	Ribavirina
IFN	Interferon
PEG	forma peguilada para o Interferon
IFNpeg/RBV	Interferon peguilado e Ribavirina
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
TG	Tubo germinativo
CLAM	Clamidoconídio
A	Formação de ácido
G	Formação de gás
GL	Glicose
G	Galactose
S	Sacarose
M	Maltose
L	Lactose

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	10
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	12
2.1 HEPATITE C	12
<b>2.1.1 Fármacos utilizados no tratamento da hepatite C</b>	15
2.2 LEVEDURAS DO GÊNERO <i>Candida</i>	18
<b>3 PROPOSIÇÃO</b>	25
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b>	26
4.1 POPULAÇÃO ESTUDADA	26
4.2 FATORES DE EXCLUSÃO E INCLUSÃO	27
4.3 COLETA E ISOLAMENTO DAS AMOSTRAS	28
4.4 IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS DE <i>Candida</i>	29
<b>4.4.1 Formação de tubo germinativo</b>	29
<b>4.4.2 Produção de clamidocinídios</b>	29
<b>4.4.3 Fermentação de carboidratos (zimograma)</b>	30
<b>4.4.4 Assimilação de carboidratos (auxanograma)</b>	30
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
<b>5 RESULTADOS</b>	34
5.1 INDIVÍDUOS COM DIAGNÓSTICO DE HEPATITE C NÃO SUBMETIDOS A TRATAMENTO ESPECÍFICO (GRUPO CONTROLE)	34
5.2 INDIVÍDUOS COM DIAGNÓSTICO DE HEPATITE C SUBMETIDOS A TRATAMENTO ESPECÍFICO (GRUPO IFNpeg/RBV)	36
5.3 COMPARAÇÃO ENTRE GRUPO CONTROLE E GRUPO IFNpeg/RBV	37
<b>6 DISCUSSÃO</b>	40
<b>7 CONCLUSÕES</b>	47
<b>REFERÊNCIAS</b>	49
<b>ANEXOS</b>	52
<b>APÊNDICE</b>	56

## 1 INTRODUÇÃO

As hepatites virais representam um importante problema mundial de saúde pública. Nos últimos anos, tem despontado no cenário médico mundial a hepatite causada pelo vírus tipo C (HCV). Estima-se que cerca de 175 milhões de pessoas estão infectadas pelo HCV, representando desta forma uma pandemia viral. Calcula-se que o número de indivíduos portadores do HCV é cerca de cinco vezes maior que a pandemia causada pelo vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV). Estes dados, associados ao fato de que a maioria dos infectados evolui para a forma crônica da doença, e posteriormente para cirrose e ou câncer hepático, agravam o cenário da hepatite C (SHAW-STIFELL, 2004).

A prevalência da hepatite C varia em diferentes países, sendo o Egito, o país com as maiores taxas de infecção, com cerca de 20% da população, em média, infectada. Nos Estados Unidos da América, cerca de 1,4% da população apresenta-se infectada pelo HCV (FOCACCIA et al., 1997). No Brasil, a prevalência estimada dos infectados está em torno de 0,9 a 2,4% para a região Norte, entre 1,7 a 3,4% para o Nordeste, entre 1,0 e 1,4% para a região Centro-Oeste, entre 0,8 a 2,8% para o Sudeste, e, na região Sul a taxa situa-se entre 1,1 a 2,1% (CAMPIOTTO et al., 2005).

A principal forma de contaminação pelo HCV, anterior a 1992, era por meio da transfusão de sangue e derivados. Atualmente, esta forma de transmissão é praticamente nula. Contudo, outras formas têm adquirido importância epidemiológica, como a transmissão sexual e transmissão pelo uso de drogas endovenosas com compartilhamento de seringas. Apesar dos dados existentes, em cerca de 40% dos casos, segundo alguns estudos, não se sabe a maneira exata de como ocorreu a transmissão. Algumas formas como tatuagens, colocação de

*piercing*, manipulação em manicures com material não adequadamente esterilizado, bem como procedimentos dentários além de outros procedimentos invasivos, sem a esterilização adequada do material, parecem desempenhar algum papel na disseminação deste vírus (HENDERSON, 2003).

Visto ser a infecção por hepatite C uma alteração patológica que começa a surgir com mais frequência entre os indivíduos que procuram tratamento odontológico, seria bastante correto termos ciência tanto da conduta médica quanto dos efeitos de ordem bucal que a patologia e os fármacos administrados para seu tratamento podem causar.

Por outro lado, a presença de espécies do gênero *Candida* na cavidade bucal de indivíduos saudáveis varia de 35 a 60%. *Candida albicans* é a espécie mais prevalente, constituindo de 60 a 70% do total de isolados. Fatores predisponentes locais e ou sistêmicos podem atuar na microbiota bucal, aumentando a quantidade de *Candida* na boca e em determinadas situações causar candidose (KOGA-ITO; MARTINS; JORGE, 2006).

Os indivíduos infectados pelo HCV apresentam diminuição do fluxo salivar, aumento do número de cáries, condições periodontais precárias e grande incidência de líquen plano bucal (COATES et al., 2000). Assim, considerando-se a importância da hepatite C e a prevalência desta doença na população, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de indivíduos portadores de hepatite C submetidos ou não a tratamento específico com fármacos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HEPATITE C

O vírus da hepatite C (HCV) apresenta variabilidade genética e distribuição geográfica característica no Brasil. No estudo realizado por Oliveira et al (1999), o genótipo HCV-1 foi o mais prevalente (72%), seguido por HCV-3 (25,3%), HCV-2 (2%) e HCV-4 (0,7%). Além disso, a distribuição genotípica do HCV, variou segundo as diferentes categorias de exposição à infecção. O HCV-1 foi mais freqüente em doadores de sangue, hemofílicos e pacientes submetidos a hemodiálise. Alta freqüência de HCV-3 foi observada em pacientes com cirrose, doadores de sangue do sul do Brasil e usuários de drogas injetáveis. A distribuição geral de genótipos do HCV em diferentes categorias de indivíduos expostos no Brasil, é similar a outras regiões do mundo.

Diferentes pesquisadores desenvolveram classificações próprias para os tipos de HCV, causando dificuldades na interpretação da literatura. Um consenso no sistema de nomenclatura foi proposto na 2<sup>a</sup> Conferência Internacional de HVC e Virose Relacionadas, para ser usado em futuros estudos genotípicos. De acordo com esse sistema, o vírus foi classificado baseado na similaridade da seqüência de nucleotídeos de seu ácido nucléico. Os genótipos são numerados na ordem de sua descoberta (algarismos arábicos) e os subtipos recebem letras (ordem alfabética), também na seqüência de sua identificação (ZEIN, 2000).

Segundo Gow e Mutimer (2001), o curso natural da hepatite C é atualmente bem conhecido. Uma significativa parcela de indivíduos não tratados desenvolverá cirrose hepática e vários poderão ir a óbito. Dos pacientes infectados, 15% poderão experimentar regressão espontânea da doença; enquanto os outros 85%, poderão

desenvolver hepatite crônica com gradual ou rápida fibrose hepática e destes, de 30 a 50%, progredirão para cirrose. Em 5 a 15% dos casos, pode-se esperar uma cirrose descompensada ou tumores hepáticos. A cirrose induzida por hepatite C é atualmente a principal causa de transplantes hepáticos. Os autores ressaltaram ainda, que a cura seria desejável, porém nem sempre é possível e os benefícios do tratamento são válidos, mesmo quando não se obtém a total erradicação do vírus.

Segundo Flamm (2003), a infecção pelo vírus HCV pode progredir para cirrose com subsequente desenvolvimento de complicações como ascite, encefalopatia, sangramento visceral e carcinoma hepatocelular. Desta forma, sua detecção precoce e conseqüentemente terapia apropriada é de grande valor. O vírus da hepatite C é um vírus RNA, membro da família *Flaviviridae*. Os vírus RNA possuem alto índice de mutação e têm sido relatados desenvolvimentos de diferentes genótipos de HCV, baseado na seqüência heterogênea dos nucleotídeos. Existe uma pequena diferença no modo de transmissão ou na história natural da infecção segundo as diferenças genotípicas, porém em resposta ao tratamento com interferon há uma grande diferença relacionada também aos genótipos.

Pawlotsky (2003), relatou que o estudo epidemiológico do genótipo do HCV proporciona informações da distribuição mundial do vírus. O genótipo é um importante preditor da terapia antiviral com interferon alfa, de tal forma a modular as indicações terapêuticas. A natureza do vírus influencia sua transmissão, a patogênese das doenças hepáticas e manifestações extra-hepáticas durante e após a terapia viral.

A classificação mais utilizada para HCV, o classifica em genótipos, de 1 a 6. A variação geográfica da prevalência reflete a evolução do vírus e sua transmissibilidade. Os genótipos 1a e 1b são os mais freqüentes nos Estados Unidos

e no oeste da Europa. Os tipos 4, 5 e 6 são mais prevalentes no Egito, África do Sul e sudoeste da Ásia (SHAW-STIFFEL, 2004).

A hepatite C pode acarretar alterações extra hepáticas bucais, importantes para o cirurgião dentista, relatadas a seguir.

Em uma revisão, Roy e Bagg (1999) abordaram manifestações bucais em casos de hepatite C, apontando como principais a Síndrome de Sjögren e o líquen plano. Em particular, a síndrome citada é uma doença sistêmica auto imune, caracterizada por infiltrações linfocíticas das glândulas salivares e lacrimais, resultando em xerostomia, levando a problemas fisiológicos bucais e predispondo os indivíduos a lesões de cárie progressivas e infecções oportunistas por *Candida spp.*

Visando o conhecimento das condições bucais de indivíduos infectados pela hepatite C, Coates et al. (2000), realizaram levantamento clínico das condições periodontais e dentárias de 87 indivíduos com idade entre 25 e cinquenta anos. Observaram que o número de dentes cariados e perdidos era maior no grupo infectado. Segundo o Índice de Necessidade de Tratamento Periodontal Comunitário, não foram encontradas diferenças significativas na saúde periodontal de indivíduos com hepatite C, apesar de ser observada tendência para saúde periodontal deficitária nos mesmos. Além disso, foram avaliados: fluxo salivar, utilização de outros fármacos, presença de líquen plano e limitações cotidianas geradas pela problemática odontológica. Os autores concluíram que pessoas infectadas com o vírus da hepatite C necessitam de cuidados odontológicos prioritários, os quais devem ser incorporados como programa preventivo aos cuidados de saúde.

Um estudo onde se observou a saúde bucal de indivíduos com hepatite C foi realizado por Henderson et al. (2001), dando-se maior ênfase à prevalência de

líquen plano e xerostomia, além de relatos de discriminação contra os infectados por parte dos próprios profissionais da área odontológica. Quarenta indivíduos com HCV e sem tratamento específico foram examinados intra e extrabucalmente, observando-se índice de cárie e condição periodontal. Oito indivíduos tiveram evidências clínicas de líquen plano, mas sem comprovação histológica e a taxa de fluxo salivar foi menor comparada ao grupo saudável. Os autores concluíram que portadores de hepatite C apresentam necessidade de manter sua saúde bucal, e mais especificamente, tanto os portadores como profissionais da área odontológica precisariam ser mais efetivos quanto aos cuidados específicos dispensados.

Em revisão de literatura, Carozzo e Gandolfo (2003) abordaram sobre condições extra-hepáticas em indivíduos com hepatite C, envolvendo a região bucal, nas quais estavam incluídas líquen plano e sialoadenite. Para os autores, essas manifestações variam com diferenças geográficas relacionadas a fatores imunogenéticos e sugerem que o HCV poderia estar envolvido na patogênese de tais doenças. Somando-se a isso, observações foram feitas no sentido de se dispensar maior atenção à saúde bucal dos infectados, e também ao fármaco (interferon, IFN-alfa) utilizado como terapêutica sobre os tecidos bucais.

### **2.1.1 Fármacos utilizados no tratamento da hepatite C**

Até meados de 1990, a administração de interferon alfa era o único tratamento realizado para indivíduos portadores de HCV. Estudos recentes definiram a importância do genótipo viral (variantes naturais do vírus da hepatite C) como um determinante da resposta ao tratamento. Para indivíduos infectados pelo vírus com

genótipos desfavoráveis, a resposta à monoterapia com interferon alfa foi menor que 10% (HINO et al., 1994).

De acordo com Kjaergard et al. (2001), o tratamento com interferon alfa e ribavirina tem apresentado efeito benéfico sobre a resposta virológica e histológica de indivíduos com hepatite C, independente do tratamento prévio, pois tal terapia pode trazer resultados positivos aos reincidentes da doença e aos não respondedores. Os autores verificaram também, que esta associação aumenta significativamente os efeitos adversos da terapia.

O tratamento clássico para indivíduos portadores de hepatite C em recidiva ou que nunca receberam tratamento, é atualmente a combinação de interferon peguilado alfa 2-b e ribavirina. Este tratamento tem permitido a erradicação do vírus em 40% dos indivíduos tratados. O interferon apresenta história como fármaco antiviral eficaz, mas as investigações continuam para que se consiga aumento de sua eficácia na terapêutica, tal como alteração na dose, frequência e associação com outros fármacos. A tecnologia de modificação da molécula de interferon alfa mediante a união de polietilenoglicol (PEG) permitiu otimizar a farmacologia do interferon, dando-lhe assim o que se denomina de forma peguilada (PEGINTRON, 2002).

Chander et al. (2002), em uma sistemática revisão de literatura, relataram que a combinação de altas doses de interferon peguilado e ribavirina foi mais eficaz do que o uso de interferon não peguilado e ribavirina em pessoas infectadas com o vírus genótipo 1. Segundo os autores, o tratamento diminuiu o risco de carcinoma hepatocelular.

McHutchison e Fried (2003), em um artigo de revisão literária, afirmaram que a combinação de interferon peguilado e ribavirina levava a um aumento significativo

na resposta virológica sustentada, quando comparada ao uso de interferon sem peguilação e ribavirina. Esses novos agentes representam o mais efetivo tratamento para a terapia inicial de indivíduos com hepatite C. Os autores ressaltaram ainda, que para ambas as formas de tratamento, a assiduidade aos programas terapêuticos apresentam grande valor no resultado da terapia para a hepatite C. Embora carga viral e genótipo, gênero, idade e ausência de fibrose sejam considerados importantes preditores da resposta, será necessária a identificação de fatores genéticos e imunes do hospedeiro envolvidos no resultado a esta terapia específica.

Em pesquisas efetuadas, observou-se que quando uma espécie de vírus colonizava células em animais, esta invasão interferia com a capacidade de outros vírus, sem nenhuma relação com os primeiros, produzirem infecção concomitante. A substância responsável pela inibição era secretada pelas células infectadas e foi denominada de interferon. Verificou-se também, que essa proteína não interagia diretamente com o vírus, mas induzia as células infectadas e as vizinhas a produzirem outras proteínas, capazes de impedir a replicação dos vírus invasores. Essas moléculas pertencem à superfamília das citocinas. Sendo assim, os interferons são citocinas potentes, com ações antivirais, imunomoduladoras e antiproliferativas. Os interferons, formam a primeira linha de defesa contra as infecções virais, antes mesmo que, o mecanismo da resposta imune seja completamente mobilizado (SILVA, 2003).

Em relação à ribavirina, esta apresenta efeito virostático contra largo espectro de vírus, inclusive flavivírus. Após sua administração oral, é transportada para quase todas as células do organismo, onde será metabolizada. Um dos mecanismos de ação deste medicamento está relacionado à alteração da reserva de nucleotídeos celulares e inibição da síntese do RNA mensageiro viral (SILVA, 2003).

Segundo Carrozzo (2001), a hepatite C é a principal patologia relacionada com líquen plano, especialmente o bucal, sendo que o interferon alfa (IFN- $\alpha$ ) utilizado como medicação para o tratamento da patologia em si, parece não exercer qualquer influência positiva ou negativa sobre as lesões de líquen plano. O autor adverte ainda, que a exacerbação destas lesões em determinados casos, pode estar relacionada à indução de anticorpos antiepitéliais desencadeada pela terapia com interferon, porém ainda não existem dados conclusivos sobre tal fato. O uso concomitante da ribavirina com interferon, demonstrou, também, aumento de risco ao aparecimento de reações adversas cutâneas, freqüentemente do tipo liquenóide, mas dados relacionados aos efeitos sobre a mucosa bucal são ainda escassos.

A ribavirina apresenta efeito mínimo sobre a hepatite C quando usada em monoterapia, porém, quando associada ao interferon peguilado apresenta efeitos clínicos sinérgicos. Anemia hemolítica é o maior efeito adverso da ribavirina, visto que tal estado é devido ao acúmulo do fármaco nos eritrócitos. Os efeitos adversos dos fármacos usualmente estão correlatos com sua concentração plasmática, e a combinação dos mesmos mostra toxicidade como anemia, erupção, anorexia e depressão (UCHIDA et al., 2004).

## 2.2 LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida*

Jorge et al. (1987) afirmaram que a microbiota bucal coexiste em estado balanceado e harmônico com o hospedeiro, porém mudanças nesse ambiente podem provocar alterações qualitativas e quantitativas do referido equilíbrio. As candidoses bucais tem origem em infecções endógenas, devido a alterações locais e/ou sistêmicas, traduzindo portanto parasitismo ocasional. Os autores relataram

ainda, que vários autores estudaram a presença de *Candida albicans* na cavidade bucal em amostras de saliva, biofilme dentário, sulco gengival e dorso da língua, encontrando diferentes percentuais, de acordo com a metodologia utilizada.

Em trabalho realizado por Budtz-Jorgensen (1990), foi relatado que a *Candida* spp. representa associação obrigatória em seres humanos e outros animais, sendo freqüentemente encontrada como comensal inofensivo do trato digestório e vaginal, constituindo parte da microbiota normal. Nas últimas décadas, a prevalência da candidose superficial e invasiva tiveram crescimento, atribuindo-se o fato ao uso indiscriminado de antibióticos e agentes imunorreguladores. *Candida* spp. pode causar doença no homem por invasão tecidual, sugerindo a possível participação de enzimas hidrolíticas ou pela produção de potentes toxinas, sendo que para conseguir colonizar e infectar a superfície da mucosa do hospedeiro, deverá aderir-se à superfície epitelial. Este processo de invasão tecidual é seguido por uma resposta inflamatória aguda caracterizada predominantemente por neutrófilos.

Oksala (1990) descreveu os múltiplos fatores predisponentes das infecções fúngicas. Esses fatores podem ser de ordem natural, por dieta, mecânicos e fatores médicos iatrogênicos. Sendo assim, o autor citou como fatores predisponentes: irritantes locais crônicos, aparatologia médica de apoio e inadequada manutenção dos mesmos, desequilíbrio da ecologia bucal por meio de antibióticos, corticosteróide ou xerostomia, além de fatores dietéticos, desordens endócrinas, deficiência imunológica, doenças crônicas e malignas, discrasias sanguíneas severas, radiação em áreas de cabeça e pescoço, anormalidade nutricional, fator idade e hospitalização, como também displasia epitelial bucal e tabagismo.

As leveduras são de ocorrência comum na cavidade bucal de indivíduos saudáveis, sendo *Candida albicans* a espécie predominante na microbiota bucal,

constituindo 60 a 70% do total de isolamentos, seguida por *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*. Em relação ao gênero *Candida*, são em geral comensais, mas em determinados indivíduos e em situações especiais, podem transformar-se na forma parasitária, produzindo candidose bucal (JORGE et al., 1997).

Segundo McIntyre (2001), candidose bucal é encontrada freqüentemente na prática odontológica. Mesmo que muitas das candidoses na cavidade bucal apresentem sintomas mínimos, estes podem indicar a presença de um comprometimento sistêmico inicial, e a persistência deste processo pode ser tida como um dos primeiros sinais de imunossupressão não diagnosticada. *Candida albicans* é o patógeno oportunista mais isolado dentre as espécies que produzem lesões bucais, mas outras espécies de *Candida* também são participantes da etiologia da candidose bucal. O controle da candidose está na relação direta de um preciso diagnóstico e identificação e eliminação de qualquer fator predisponente quando possível. Além disso, a doença pode ocasionar implicações para a saúde geral de indivíduos imunocomprometidos, em especial quando causada por outras espécies de *Candida*, tidas como espécies de *Candida* não *albicans*.

Candidíase ou candidose caracteriza-se por uma infecção comum da pele, cavidade bucal e esôfago, bem como do trato gastrintestinal, vagina e sistema vascular de humanos. Embora muitas infecções ocorram em indivíduos imunocomprometidos ou debilitados de alguma outra forma, *Candida albicans* é o microrganismo mais frequentemente responsável por doença, expressando fatores de virulência que contribuem para a patogenicidade. Dentre esses fatores podem ser relacionados: biomoléculas de reconhecimento do hospedeiro (adesinas), morfogênese vista por certa transição entre células fúngicas unicelulares e

filamentosas, bem como secreção de aspartil proteases e fosfolipases (CALDERONE; FONZI, 2001).

Em artigo de revisão, Ostrosky-Zeichner et al. (2002) relataram que embora *Candida* spp. estejam presentes na microbiota normal de humanos e cause freqüentemente uma gama extensa de alterações mucocutâneas, elas também podem causar candidose invasiva, possivelmente devido ao aumento de intervenções médicas em hospedeiros imunocomprometidos. Os autores relataram ainda, que todos os mecanismos do sistema imune são envolvidos no controle das infecções causadas por essas leveduras, tais como: a) monócitos e células polimorfonucleares podem destruir pseudohifas e blastósporos; b) linfócitos são importantes no desenvolvimento da imunidade mediada por células, e indivíduos com defeitos nas funções ou números de linfócitos são vulneráveis a infecções mucocutâneas recorrentes; c) citocinas também são componentes da resposta imune que contribuem para o controle desta infecção.

Hobson (2003) constatou que candidose invasiva é uma condição médica de grande importância e que sua incidência aumentou drasticamente nos últimos cinquenta anos, refletindo um aumento dos cuidados médicos básicos. O autor também relatou que a candidose representa a quarta causa mais comum de infecção em corrente sanguínea. Esta alteração invasiva de ordem geral, torna-se difícil de quantificar devido às variações geográficas existentes, porém nos Estados Unidos a taxa de mortalidade por candidose que foi vista em grande escala nos anos oitenta, teve seu decréscimo na década de noventa. A participação de espécies de *Candida* que *Candida* não *albicans* nestas infecções está aumentando, elevando com isso as taxas de mortalidade e morbidade em grupos de indivíduos

hospitalizados. Segundo o autor, estima-se que ocorram anualmente 3600 casos de candidemia e destes, 2400 são atribuídas diretamente a espécies de *Candida*.

Em estudo sobre presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de receptores de transplante cardíaco, Ribeiro (2003) comparou indivíduos transplantados que utilizavam imunossupressores sem evidências clínicas de candidose bucal e que não utilizavam antifúngicos com um grupo controle composto de indivíduos não transplantados e em semelhantes condições bucais. Os resultados mostraram que a quantidade de leveduras foi maior nos indivíduos transplantados (88% de isolamento) em comparação com o controle (56%).

Yakoob, Jafri e Hussainy (2003), em relato de caso clínico, descreveram a ocorrência de esofagite por *Candida albicans* associada à hepatite C. Uma vez que a levedura em questão é oportunista, os autores discutiram a evidência da lesão hepática causar uma debilidade sistêmica sem sintomatologia, devido à alteração imunológica.

*Candida* spp. é reconhecida como a quarta causa mais comum de infecção com alta taxa de mortalidade. Enquanto *Candida albicans* permanece como a mais comum, outras espécies incluindo *Candida glabrata* e *Candida krusei*, têm apresentado maior resistência aos antifúngicos. Essas mudanças epidemiológicas são atribuídas a uma combinação de fatores, como o uso profilático de fluconazol, mudanças demográficas dos indivíduos e patologias sub-clínicas (MARR, 2004).

As infecções fúngicas invasoras estão apresentando aumento de sua prevalência em indivíduos tidos como imunodeficientes, com taxa de mortalidade inaceitável e tendo como agentes causais *Candida* spp. e *Aspergillus* spp. Porém, outros fungos estão sendo identificados cada vez mais e com mais frequência, requerendo um conhecimento e enfoque clínico individualizado. Além disso, pode-se

definir imunossupressão de uma forma superficial, como sendo a facilidade ou a predisposição de adquirir infecções que habitualmente não se apresentariam em indivíduos com sistema imunológico competente (GARCIA-RUIZ et al., 2004).

Segundo relatos de Sullivan et al. (2004), estudos epidemiológicos demonstraram que *Candida dubliniensis* tem sido isolada por todo o mundo, tendo sua importância taxonômica relatada em 1995. Entretanto, é raro seu aparecimento na microbiota bucal de indivíduos em bom estado de saúde, sendo responsável por menos de 2% de casos de candidose. Esta situação é contrastante ao se comparar com *Candida albicans*, pois esta levedura está presente em aproximadamente 65% da microbiota bucal em idêntica condição de saúde. Dados de estudos epidemiológicos sugerem que *Candida dubliniensis* é menos patogênica que *Candida albicans* e que as razões para essa redução de virulência não estão muito esclarecidas, pois se nota que as duas espécies expressam fatores de virulência muito similares. Porém, mesmo com a produção de hifas pela *Candida dubliniensis*, parece que as condições e dinâmica de indução de lesões diferem das da *Candida albicans*. Isto pode levar a certa vantagem competitiva quando da colonização e infecção do corpo humano.

Muzyka (2005) afirmou que a candidose é a mais comum infecção fúngica diagnosticada em humanos. Isto pode ser decorrente de disfunção do sistema imune ou de tratamento médico local ou sistêmico. Uma vez que as alterações são localizadas, os métodos de tratamento tópicos representam a primeira opção terapêutica, para as variantes pseudomembranosa e eritematosa. Os portadores de próteses dentais devem ser alertados da necessidade de desinfetá-las rotineiramente, durante o tratamento ativo da candidose, pois as mesmas podem

atuar como fonte de reinfecção. Além disso, as escovas dentais para próteses merecem atenção e devem ser descontaminadas e/ou descartadas.

### **3 PROPOSIÇÃO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida* em indivíduos portadores de hepatite C, submetidos ou não a tratamento específico com Interferon peguilado e Ribavirina.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

### 4.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

O presente estudo foi realizado no Hospital Guilherme Álvaro, em Santos, Estado de São Paulo, no Ambulatório de Referência para Portadores de Hepatite C. Todos os indivíduos avaliados estavam diagnosticados como apresentando patologia hepática de hepatite C (Anexo A). Esses indivíduos eram participantes de parte do estudo intitulado “Estudo observacional prospectivo de pacientes portadores de hepatite C crônica candidatos ao tratamento com Interferon Peguilado em Serviços de Referência”. Uma vez diagnosticada a hepatite C, o indivíduo seguiu uma seqüência de procedimentos clínicos e laboratoriais determinada pelo Centro de Referência (Anexo B / Tabela 3).

Foram examinados em suas condições bucais, 72 indivíduos com diagnóstico conclusivo de hepatite C, e que estavam em tratamento no serviço de referência citado, os quais foram divididos em dois grupos:

- Grupo Controle: indivíduos com diagnóstico clínico e histopatológico de hepatite C, não fazendo uso de medicação específica para a patologia em questão, com idade variando de 18 a 56 anos (média  $41,5 \pm 9,7$ ), sendo 18 indivíduos do gênero masculino e em igual número do gênero feminino.
- Grupo Teste / Interferon peguilado e Ribavirina (IFNpeg/RBV): indivíduos com diagnóstico clínico e histopatológico de hepatite C, com idade variando de 25 a 69 anos (média  $44,9 \pm 10,1$ ), sendo 24 indivíduos do gênero masculino e 12 indivíduos do gênero feminino fazendo uso de interferon peguilado associado a ribavirina nas seguintes dosagens:
  - Interferon peguilado:  $1,5 \mu\text{g/Kg}$  de peso, subcutaneamente, uma vez por semana;

- Ribavirina: via oral em doses divididas pelo peso do indivíduo da seguinte forma: a) indivíduos abaixo de 75 kg de peso corporal, portador do vírus da hepatite C (HCV) genótipo 1: 1000 mg/dia; b) indivíduos igual ou acima de 75 kg de peso corporal e portador de HCV genótipo 1: 1200 mg/dia; c) indivíduos com HCV genótipo 2 ou 3: 800 mg/dia.

O tempo de administração desta associação medicamentosa, seguiu protocolo médico e variou de seis a 12 meses, de acordo com a variação do genótipo do HCV encontrado em cada indivíduo.

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté (Protocolo n° 053 / 2005, Anexo C) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Guilherme Álvaro, Santos, Estado de São Paulo (Protocolo n° 147 / 04 - Anexo D).

Todos os indivíduos, após serem esclarecidos sobre os objetivos e metodologia do estudo, e concordarem com sua participação no mesmo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B). Em seguida foram coletados os dados necessários para anamnese (Apêndice C).

#### 4.2 FATORES DE EXCLUSÃO E INCLUSÃO

Foram considerados fatores de exclusão, uso de prótese total ou removível, uso de aparelho ortodôntico, presença de lesões de cárie dentária sem tratamento, presença do vírus da Síndrome da Imunodeficiência Humana (HIV), presença de Diabetes Mellitus, além de indivíduos aos quais estavam sendo administrados outros fármacos.

Como fatores de inclusão, os indivíduos tanto do grupo controle como do grupo teste, precisariam apresentar diagnóstico clínico e histopatológico de hepatite

C há pelo menos três meses. O grupo controle não deveria estar sob tratamento medicamentoso específico e para os indivíduos do grupo teste (IFNpeg/RBV), o tratamento deveria ter sido iniciado há quarenta e cinco dias no mínimo e no máximo há seis meses.

#### 4.3 COLETA E ISOLAMENTO DAS AMOSTRAS

Foi coletada uma amostra de saliva de cada participante do estudo, sem estimulação, em um coletor estéril universal descartável, mantido em gelo até ser levado ao Laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário Lusíada, em Santos, no período de até três horas entre coleta e processamento. A seguir, 0,1 mL de saliva foi semeado em placas contendo meio de cultura ágar Sabouraud Dextrose (Difco) com cloranfenicol (Carlo Erba, 0,1 mg/mL de meio) em duplicata, que foram incubadas a 37<sup>o</sup> C por 48 horas. Após este período, o crescimento de colônias características foi observado e nas placas onde não ocorreu crescimento, as mesmas permaneceram à temperatura ambiente por mais cinco dias. Após crescimento das colônias, as placas foram transportadas para o laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté, onde se realizou a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) (Apêndice A / Figuras 1 e 2). À partir de cada tipo de colônia característica, foram selecionadas duas colônias das quais esfregaços foram realizados e corados pelo método de Gram, para confirmação microscópica de presença de leveduras. A seguir, as colônias foram transferidas para tubos contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco) inclinado, incubados a 37°C por 48 horas e armazenados em geladeira para posterior identificação (Apêndice A / Figura 3).

#### 4.4 IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS DE *Candida*

A identificação das leveduras foi realizada por meio de provas morfológicas e bioquímicas (fenotípicas), seguindo metodologia preconizada por Koga-Ito, Martins e Jorge (2006), Samaranayake e MacFarlane (1990), Sandvén (1990), Williams e Lewis (2000), descrita a seguir.

##### **4.4.1 Formação de tubo germinativo**

A partir de cultura pura de 24 horas do isolado em ágar Sabouraud (Apêndice A / Figura 4), uma alçada da mesma foi transferida para tubos de ensaio (13x17 mm) identificados, contendo 0,5 mL de soro estéril humano, os quais foram incubados em banho-maria a 37°C pelo período de duas a três horas. Neste período, realizou-se a leitura em microscópio de luz (aumento de 400 X), colocando-se uma gota da suspensão obtida entre lâmina e lamínula e verificando a formação ou não de tubos germinativos (Apêndice A / Figura 5).

##### **4.4.2 Produção de clamidoconídios (microcultivo)**

Após o preparo do meio ágar Corn Meal (Difco) adicionado com 1% de Tween 80 (Polisorbato, Inlab), uma fina camada do mesmo foi distribuída em lâminas de vidro posicionadas no interior de placas de Petri esterilizadas. Feito isto, cada cepa de levedura a ser testada foi semeada em dupla estria na superfície do meio e sobre a mesma foi colocada uma lamínula. Para que a umidade do meio fosse mantida, adicionou-se um chumaço de algodão embebido em água destilada, ambos

esterilizados. Após a incubação por 48 a 72 horas em temperatura ambiente, a leitura foi efetuada em microscopia de luz (aumento de 400X), avaliando-se presença de clamidoconídios, hifas e pseudo-hifas (Apêndice A / Figura 6).

#### **4.4.3 Fermentação de carboidratos (Zimograma)**

Para a realização desta prova, foi utilizado meio de cultura caldo vermelho de fenol (Difco) distribuído em tubos de ensaio (15 X 150 mm) com tubos de Durhan invertidos em seu interior, sendo os açúcares (glicose, maltose, lactose, sacarose e galactose) adicionados ao meio de forma a se obter concentração de 1% e autoclavados a 120°C por 15 minutos. Os tubos foram identificados e semeados a partir de cultura pura de 24 horas da levedura a ser testada, feita em ágar Sabouraud dextrose. Após 72 horas, a leitura desta prova foi efetuada e se necessário confirmada após uma semana, sendo considerada a produção de ácido, pela mudança de pH do meio (passando da cor vermelha para amarela) e produção de gás no interior dos tubos de Durhan ( Apêndice A / Figura 7).

#### **4.4.4 Assimilação de carboidratos (Auxanograma)**

Para esta prova, foi utilizado meio de cultura quimicamente definido, sem carboidratos, estando seus componentes representados na Tabela 1, e após a dissolução dos mesmos em banho-maria a 45-50°C, o meio foi distribuído (18 a 20 mL) em tubos de ensaio (20 X 200 mm), autoclavados a 120°C por 15 minutos e armazenados em geladeira.

Tabela 1- Meio de cultura quimicamente definido\*

COMPONENTES	QUANTIDADE
Sulfato de amônia (Reagen)	5,0g
Fosfato de potássio básico (Merck)	1,0g
Sulfato de magnésio (Reagen)	0,5g
Ágar (Difco)	20,0g
Água destilada	1000mL

\*Fonte: baseado em Jorge, 1997

Quando da execução da prova, foi preparada uma suspensão de levedura em 5 mL de solução fisiológica esterilizada, com turvação equivalente ao tubo número dez da escala MacFarlane, a partir de cultura pura de 24 horas em ágar Sabouraud dextrose. Obtida a suspensão, esta foi adicionada à quantidade de 0,1 mL ao tubo contendo o meio quimicamente definido liquefeito à temperatura de 45°C, homogeneizada e em seguida distribuída em placas de Petri. Após sua solidificação, discos de filtro esterilizados e embebidos em solução de carboidratos a 1% (glicose, galactose, lactose, maltose e sacarose) foram colocados na superfície do referido meio, respeitando-se intervalos regulares entre os discos. A seguir, as placas foram incubadas por 72 horas a 37°C e a leitura foi realizada observando-se a formação de halo de crescimento da cepa analisada ao redor do açúcar assimilado (prova positiva – Apêndice A / Figura 8).

Após a execução dos testes relacionados, as amostras foram identificadas nas diferentes espécies utilizando-se da Tabela 2, representada a seguir.

Tabela 2 - Identificação das espécies do gênero *Candida* de acordo com características morfológicas, de microcultivo, assimilação e fermentação de carboidratos\*\*

Espécies de <i>Candida</i>	TG	CLAM	HIFAS	FERMENTAÇÃO					ASSIMILAÇÃO				
				GL	G	S	M	L	GL	G	S	M	L
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	A/G	A/G	A/-	A/G	-/-	+	+	+	+	-
<i>Candida stellatoidea</i> *	V	V	+	A/G	A/G	A/-	A/G	-/-	+	+	-	+	-
<i>Candida guilliermondii</i>	-	-	+	A/G	A/G	A/G	-/-	-/-	+	+	+	+	-
<i>Candida glabrata</i>	-	-	-	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	-	-	+	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-
<i>Candida lipolytica</i>	-	-	+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-
<i>Candida lusitanae</i>	-	-	+	A/G	A/G	A/G	-/-	-/-	+	+	+	+	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	+	A/G	V	-/-	-/-	-/-	+	+	+	+	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	V	+	A/G	V	A/G	A/G	-/-	+	+	+	+	-
<i>Candida kefyr</i>	-	-	+	A/G	A/G	A/G	-/-	A/G	+	+	+	-	+
<i>Candida rugosa</i>	-	-	+	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	+	+	-	-	-

\*Atualmente considerada como variante de *Candida albicans*. TG: formação de tubo germinativo. CLAM: formação de clamidoconídio. A: produção de ácido. G: produção de gás. (+) prova positiva. (-) prova negativa. V: variável. GL: glicose. G: galactose. S: sacarose. M: maltose. L: lactose

\*\*Fonte: baseado em Koga-Ito, Martins e Jorge, 2006 com modificações

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio do teste de qui-quadrado e teste de Mann-Whitney, sendo utilizado nível de significância 5% ( $p \leq 0,05$ ).

A estatística dos resultados obtidos foi realizada da seguinte forma: a) análise da presença ou não de leveduras do gênero *Candida* no grupo de indivíduos com hepatite C sem medicação específica (grupo controle) em comparação com o grupo

de indivíduos com hepatite C sob medicação (grupo IFNpeg/RBV); b) análise da presença das diferentes espécies de *Candida* em ambos os grupos; c) análise da quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) entre o grupo controle e o grupo IFNpeg/RBV.

## 5 RESULTADOS

Foram avaliados 72 indivíduos com diagnóstico comprovado de hepatite C, sendo 36 no grupo controle (sem uso de medicação específica) e 36 no grupo Interferon peguilado e Ribavirina (com uso de medicação específica).

Importante ressaltar, que alguns dos isolados de *Candida* não puderam ser identificados fenotipicamente de acordo com a metodologia e tabelas de identificação preconizadas, e devido ao fato, este grupo de leveduras foi denominado no estudo de *Candida* spp.

### 5.1 INDIVÍDUOS COM DIAGNÓSTICO DE HEPATITE C NÃO SUBMETIDOS A TRATAMENTO ESPECÍFICO (GRUPO CONTROLE)

No grupo controle, observou-se a presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de trinta (83,3%) indivíduos, conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição dos indivíduos com diagnóstico comprovado de Hepatite C (n=36), quanto ao isolamento de leveduras do gênero *Candida* nas amostras de saliva do grupo controle

<b>Indivíduos</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Isolamento de <i>Candida</i>	30	83,3
Ausência de isolamento	6	16,7
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>100,0</b>

A espécie de *Candida* mais freqüentemente encontrada nas amostras do grupo controle foi *Candida albicans* (58,3%), presente em 21 indivíduos. Foram também encontradas neste grupo, *Candida parapsilosis* (36,1%) em 13 indivíduos e *Candida* spp. (11,1%) em quatro indivíduos dos estudados. Em apenas um indivíduo, foi observado isolamento de *Candida glabrata* (2,8%) e de *Candida tropicalis* (2,8%).

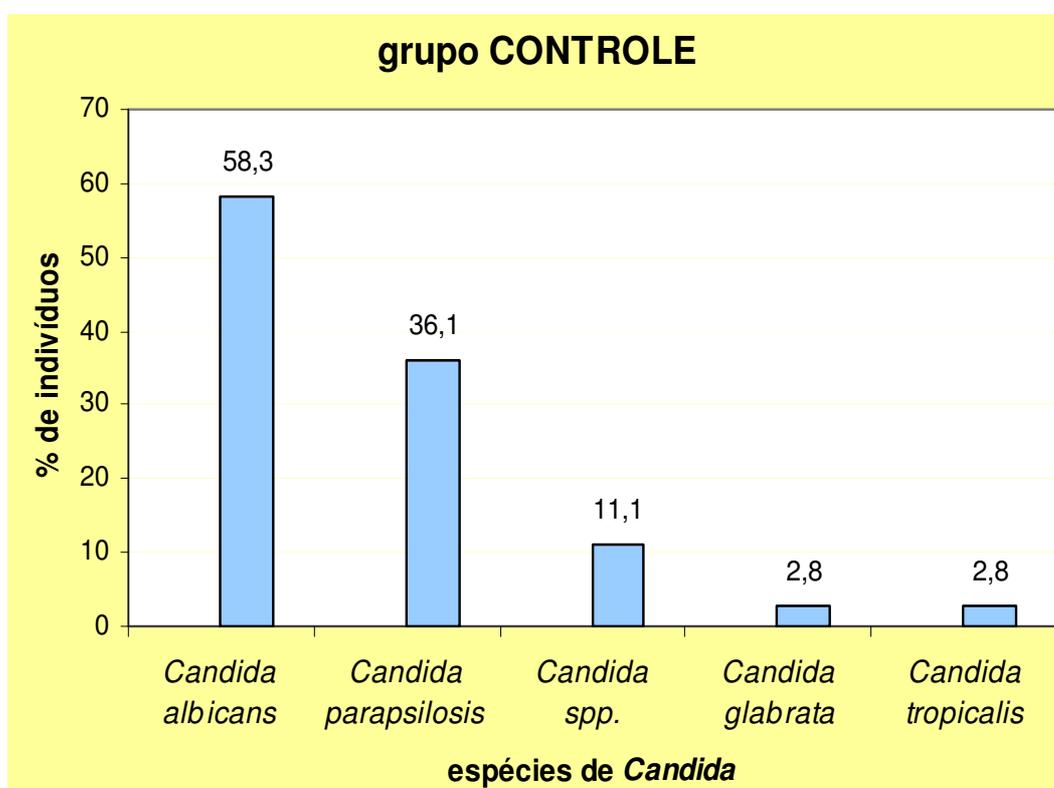


Figura 1 - Distribuição do número de indivíduos com diagnóstico de hepatite C, quanto às espécies de *Candida* encontradas em amostras de saliva do grupo controle

## 5.2 INDIVÍDUOS COM DIAGNÓSTICO DE HEPATITE C SUBMETIDOS A TRATAMENTO ESPECÍFICO (GRUPO IFNpeg/RBV)

Para os indivíduos com hepatite C e uso de medicação específica (grupo Interferon peguilado e Ribavirina), ocorreu isolamento de leveduras do gênero *Candida* em 31 indivíduos, representando 86,1% da amostra, conforme pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição dos indivíduos diagnosticados com hepatite C e que estavam sob terapia medicamentosa (grupo IFNpeg/RBV), quanto ao isolamento de *Candida* nas amostras de saliva

<b>Grupo IFNpeg/RBV</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Isolamento de <i>Candida</i>	31	86,1
Ausência de isolamento	5	13,9
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>100,0</b>

A espécie de *Candida* mais frequentemente encontrada nas amostras do grupo IFNpeg/RBV foi *Candida albicans* (52,8%), encontrada em 19 dos 36 indivíduos estudados, seguido de *Candida* spp. (33,3%) e *Candida parapsilosis* (22,2%), em 12 e oito indivíduos respectivamente. Nas amostras de dois indivíduos (5,6%) houve isolamento de *Candida glabrata* e em outros três casos obteve-se isolamento de *Candida krusei* (2,8%), *Candida lipolytica* (2,8%) e *Candida rugosa* (2,8%), conforme pode ser observado na Figura 2.

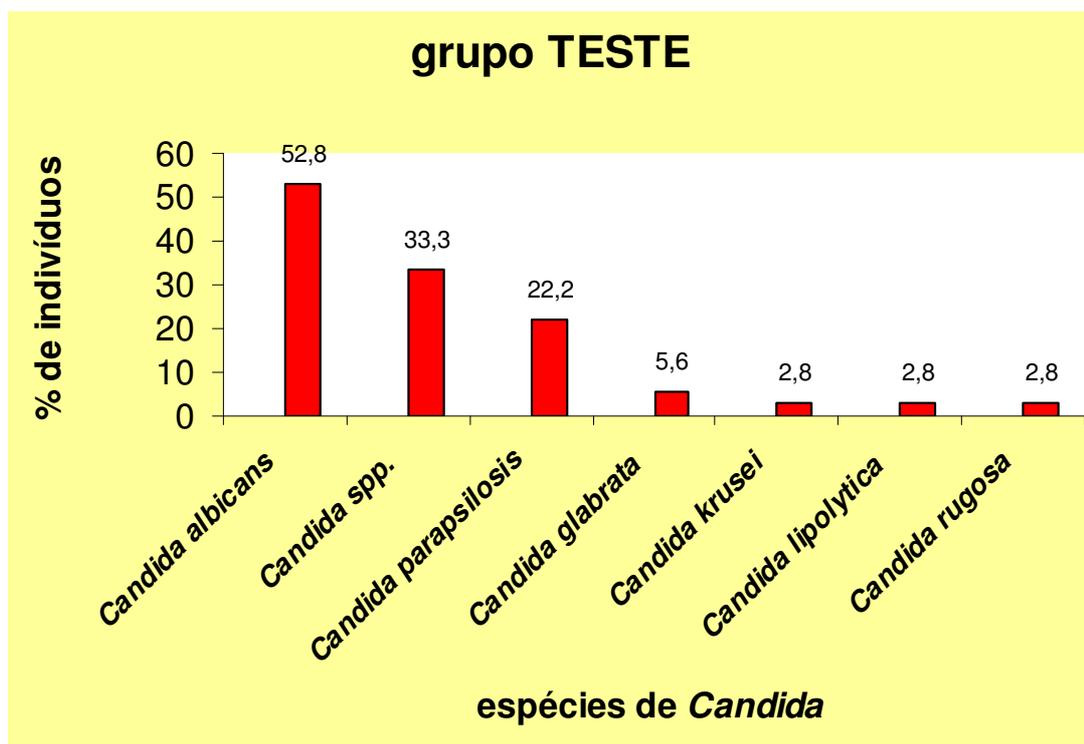


Figura 2 – Distribuição do número de indivíduos com diagnóstico de hepatite C submetidos a medicação (grupo IFNpeg/RBV) quanto às espécies de *Candida* encontradas em amostras de saliva

### 5.3 COMPARAÇÃO ENTRE GRUPO CONTROLE E GRUPO INTERFERON PEGILADO E RIBAVIRINA

Não ocorreu diferença estatisticamente significativa quando se comparou o número de indivíduos que apresentaram isolamento de *Candida* em suas amostras de saliva, entre o grupo controle e o grupo IFNpeg/RBV. Na Tabela 5 estão expressos os resultados obtidos em ambos os grupos.

Tabela 5 - Distribuição dos indivíduos diagnosticados com hepatite C não submetidos à medicação e indivíduos que estavam sob medicação (grupo IFNpeg/RBV), quanto ao isolamento de *Candida* nas amostras de saliva

Grupos	Controle		IFNpeg/RBV	
	n	%	n	%
Isolamento de <i>Candida</i>	30	83,3	31	86,1
Ausência de isolamento	6	16,7	5	13,9
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>100,0</b>	<b>36</b>	<b>100,0</b>

Teste de qui-quadrado:  $\chi^2=0,107$  (p=0,743)

Não foi observada diferença significativa entre os grupos com relação ao número de indivíduos que apresentaram isolamento de *Candida albicans* (p=0,635) ou *Candida parapsilosis* (p=0,195). No entanto, foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto a ocorrência de *Candida* spp. (p=0,023). No grupo teste a frequência de ocorrência de *Candida* spp. (33,3%) foi mais elevada que no grupo controle (11,1%).

Quando se realizou comparação entre os grupos com relação a quantidade de UFC/mL obtida, optou-se pelo teste de Mann-Whitney (não paramétrico), o qual demonstrou não haver diferença significativa (p=0,2807) entre o grupo controle e grupo IFNpeg/RBV.

Os valores acima de três mil foram considerados como três mil apenas, para que fosse possível o cálculo da média e desvio padrão. A média e desvio padrão estão indicados na Tabela 6. Na Figura 3 estão expressos os valores individuais de UFC/mL em cada grupo.

Tabela 6 - Quantidade de UFC/mL das amostras de saliva coletadas de indivíduos com diagnóstico de hepatite C (grupo controle) e indivíduos com hepatite C submetidos à medicação (grupo IFNpeg/RBV)

Grupos	n	Média*	DP*	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	36	492	685	0	163	> 3000
IFNpeg/RBV	36	364	736	0	30	> 3000

\* valores aproximados

Teste de Mann-Whitney (comparação entre os grupos):  $p = 0,2807$

DP: desvio-padrão

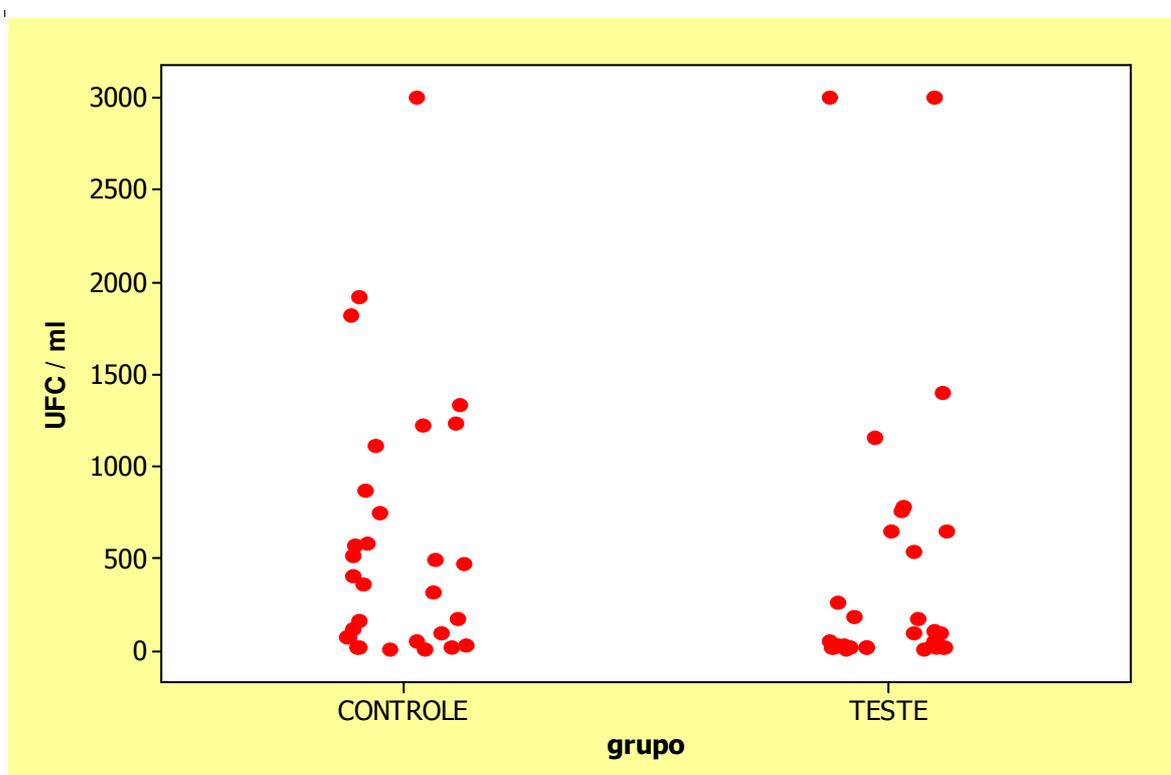


Figura 3 - Valores individuais de UFC/mL observados nos indivíduos com hepatite C, para o grupo sem medicação (controle) e para o grupo IFNpeg/RBV (teste)

## 6 DISCUSSÃO

A infecção por hepatite C é um significativo problema para a medicina e para a sociedade em todo o mundo, pois se trata de uma pandemia viral, com estimativa de 175 milhões de indivíduos infectados, ou seja, 3% da população mundial (CAMPIOTO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 1999; SHAW-STIFELL, 2004).

Desde a identificação do vírus C, ocorrida há aproximadamente 15 anos, são realizados estudos para o entendimento da prevalência da doença, conhecimento de inúmeros fatores relacionados à mesma, resposta imunológica do hospedeiro à exposição do vírus, imunopatogênese de síndromes associadas à infecção, como também o desenvolvimento de intervenções terapêuticas à doença.

Existe consenso que o diagnóstico confirmado da doença representa um risco substancial aos profissionais da área de saúde com relação à exposição sanguínea e de outros fluidos corporais contendo o vírus (CARROZZO; GANDOLFO, 2003; COATES, 2000; HENDERSON et al., 2001; ROY; BAGG, 1999). Isto poderia justificar a necessidade de protocolos odontológicos específicos na maioria dos Centros de Referência de Tratamento para Hepatites Virais.

Indivíduos infectados com o vírus da hepatite C (HCV) apresentam no decorrer da evolução da doença, inúmeras alterações sistêmicas e este fato nos levou a argumentar a relação desta patologia com a cavidade bucal. Nesta condição, vários fatores são relevantes, mas atenção diferenciada deve ser dada àqueles que podem levar a um possível agravamento do estado de saúde geral desses indivíduos já debilitados (CARROZZO; GANDOLFO, 2003; GARCIA-RUIZ et al., 2004; YAKOUB; JAFRI; HUSSAINY, 2003).

A hepatite C possui um protocolo de tratamento com a utilização de dois fármacos, que podem causar efeitos adversos considerando-se a variação individual.

Não existe entretanto, suporte na literatura que permita afirmar que a medicação utilizada na hepatite C produz conseqüências à cavidade bucal (CHANDER et al., 2002; KJAERGARD; KROGSGAARD; GLUUD, 2001; McHUTCHISON; FRIED, 2003; UCHIDA et al., 2004).

A doença leva à redução do fluxo salivar e a principal teoria para isso seria a infiltração das glândulas salivares pelo HCV, ou um possível mecanismo imunológico induzido pelo mesmo. Este comportamento salivar, como mecanismo de defesa do hospedeiro é bem reconhecido e a xerostomia descrita pode predispor que indivíduos com hepatite C apresentem alterações nos tecidos duros e moles da cavidade bucal (HENDERSON et al., 2001). Líquen plano, sialoadenite (CARROZZO, 2001) e Síndrome de Sjögren (ROY; BAGG, 1999) também são descritas como doenças associadas com hepatite C.

Atualmente, o conceito de indivíduo com imunodeficiência, não pode ser aplicado exclusivamente aos grupos clássicos (neoplasias e síndrome da imunodeficiência humana adquirida / AIDS). O tratamento com fármacos citotóxicos ou anticorpos monoclonais para certas alterações como asma, inflamações intestinais, artrite reumatóide e outras doenças do colágeno, pode apresentar como resultado, um universo de indivíduos com distintos níveis de comprometimento imunológico (GARCIA-RUIZ et al., 2004).

Ao nos reportarmos à literatura existente, alguns estudos fazem referência aos escassos cuidados bucais dispensados a esses indivíduos (CARROZZO; GANDOLFO, 2003; COATES et al., 2000; HENDERSON et al., 2001; ROY; BAGG, 1999) e os autores afirmam incisivamente a necessidade de maiores estudos para que se possa comprovar ou não a relação da doença com aspectos patológicos tais como: líquen plano, sialoadenite e Síndrome de Sjögren.

Foi com esta linha de pensamento e dada a importância das leveduras do gênero *Candida* e a necessidade de prevenção desta infecção, que achamos por bem observar as condições bucais dos indivíduos com hepatite C, com medicação instituída ou não.

As leveduras do gênero *Candida* vivem em equilíbrio com a cavidade bucal, porém quando as defesas naturais do hospedeiro tornam-se debilitadas, estes microrganismos podem adquirir a capacidade de desenvolver infecções diversas utilizando uma série de fatores de virulência. Além disso, certas condições são tidas como potentes fatores predisponentes para um maior isolamento destas leveduras na cavidade bucal, tal como a xerostomia, freqüente nos indivíduos com hepatite C (BUDTZ-JORGENSEN, 1990; CALDERONE; FONZI, 2001; JORGE et al., 1987; JORGE et al., 1997; MUZYKA, 2005; OKSALA, 1990; SULLIVAN et al., 2004).

Importante ressaltar a observação de Garcia-Ruiz et al. (2004), que *Candida albicans* sofrendo adaptações morfológicas conseguiria atravessar a mucosa gastrintestinal, atingindo a circulação sanguínea. Poderíamos especular aqui, cientes das inúmeras soluções de continuidade presentes à mucosa bucal, agravadas pela xerostomia dos portadores de hepatite C, que a ocorrência dessa transposição seria possível.

Podemos dizer, que por não haver diferença significativa entre os grupos estudados e baseados na metodologia aplicada, não se demonstrou interferência da medicação constituída de Interferon peguilado e Ribavirina na presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de indivíduos com hepatite C submetidos à medicação.

Em relação à determinação dos grupos, não houve necessidade da análise de um grupo saudável em relação à *Candida*, uma vez que a literatura apresenta

diversos trabalhos relacionando presença de *Candida* na cavidade bucal de indivíduos sem fatores predisponentes à essa condição, estudos estes que fizeram uso da mesma metodologia aplicada à presente pesquisa (BELLAZI et al., 2005; JORGE et al., 1997; MARTINS; KOGA-ITO; JORGE, 2002; OSTROSKY-ZEICHNER et al., 2002; RIBEIRO, 2003; SULLIVAN et al., 2004; ZÖLLNER; JORGE, 2003).

Segundo Koga-Ito, Martins e Jorge (2006), leveduras do gênero *Candida* são encontradas em percentuais de 35 a sessenta na cavidade bucal de indivíduos saudáveis, percentuais inferiores aos encontrados no presente estudo, que foi de 84,72% de isolamento de *Candida* nos indivíduos com hepatite C (ambos os grupos). Assim, parece ter ocorrido predisposição para presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal dos indivíduos portadores do HCV, com percentual de 24,72% a mais de *Candida* na boca em relação aos indivíduos saudáveis relatados na literatura.

Os diferentes genótipos do vírus C determinam protocolos medicamentosos variáveis em relação ao prazo de administração, visto que para indivíduos portadores do genótipo 1, em geral são necessárias 48 semanas de tratamento e para aqueles com genótipo 2 ou 3, o período de tratamento gira em torno de 24 semanas (PAWLOTSKY, 2003; ZEIN, 2000). As coletas foram realizadas 45 dias após o início do tratamento como prazo mínimo e por até 6 meses como prazo máximo, caracterizando um mesmo esquema farmacológico utilizado pelos indivíduos do estudo, independente do genótipo. Assim, não ocorreu necessidade de subdivisão da amostra de acordo com o genótipo do vírus (FLAMM, 2003; GOW; MUTIMER, 2001; HINO et al., 1994; KJAERGARD et al., 2001; PEGINTRON, 2002; SHAW-STIFELL, 2004).

Em relação às espécies encontradas, *Candida albicans* foi a mais prevalente em ambos os grupos (58,3% no grupo controle e 52,8% no grupo IFNpeg/RBV), o que está concorde com a maioria dos autores (JORGE et al., 1997; KOGA-ITO; MARTINS; JORGE, 2006; OSTROSKY-ZEICHNER et al., 2002; RIBEIRO, 2003; SULLIVAN et al., 2004) que estudaram presença de *Candida* na cavidade bucal de indivíduos em diferentes situações. Importante salientar que não foi realizada diferenciação entre as espécies *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* no presente estudo. *C. albicans* foi considerada como um grupo, envolvendo *C. albicans*, *C. dubliniensis* e *C. stellatoidea*. A identificação, com segurança, dessas espécies deve ser feita com identificação molecular (CHAVASCO et al., 2006; SULLIVAN et al., 2004).

*Candida parapsilosis* foi a segunda espécie mais prevalente no grupo controle, representando 36,1% das cepas e contrastando com *Candida* spp. no grupo IFNpeg/RBV, cuja freqüência foi de 33,3%. A terceira maior freqüência de isolados que se obteve no grupo controle foi *Candida* spp. (não identificados fenotipicamente), demonstrando percentual de 11,1% das cepas e no grupo IFNpeg/RBV foi da espécie *Candida parapsilosis* com 22,2% dos isolados. Parece possível especular alguma interferência da condição da hepatite C na cavidade bucal, com ou sem tratamento medicamentoso, com espécies de *Candida* de difícil identificação por não corresponderem a qualquer tabela de classificação de leveduras, ou mesmo pouco comuns na cavidade bucal, e portanto denominadas como *Candida* spp.

Analisando estatisticamente os resultados do presente estudo, não se encontrou diferença significativa entre os grupos em relação ao número de portadores que apresentaram isolamento de *Candida albicans* ( $p=0,635$ ). O mesmo

ocorreu em relação a *Candida parapsilosis* ( $p=0,195$ ). Entretanto, observamos uma diferença estatística significativa entre os grupos quanto à ocorrência de *Candida* spp. ( $p=0,023$ ), que foi mais freqüente no grupo IFNpeg/RBV.

A freqüência de ocorrência de isolados de *Candida* não identificados fenotipicamente (*Candida* spp.), foi três vezes maior no grupo IFNpeg/RBV (33,3%) em relação ao grupo controle (11,1%). Poderíamos inferir a possibilidade dos fármacos estarem contribuindo para tal situação, porém não existem bases concretas para discutir o mecanismo pelo qual isto poderia ocorrer. A alta prevalência de *Candida* spp. merece atenção, uma vez que pode estar relacionada com uma série de alterações como: candidose bucal (McINTYRE, 2001); candidemia (HOBSON, 2003; MARR, 2004); infecções invasoras com alta taxa de mortalidade (GARCIA-RUIZ, 2004), além de alterações mucocutâneas (OSTROSKY-ZEICHNER, 2002).

Quantidade maior de unidades formadoras de colônias (UFC/mL), poderia ser um indicador de que mesmo em condição saudável, o indivíduo teria predisposição em desenvolver candidoses. Sendo assim, nossos resultados tornam-se relevantes por sugerirem um comportamento eqüitativo em relação ao desenvolvimento de *Candida* entre os grupos, uma vez que não houve diferença significativa ( $p=0,2807$ ) entre o grupo controle (média  $492 \pm 685$ ) e o grupo IFNpeg/RBV (média  $364 \pm 736$ ). Tendo em vista a média para todos os indivíduos com hepatite C avaliados (ambos os grupos), observou-se valores elevados de UFC/mL de saliva (média 428 UFC/mL de saliva). Segundo Koga-Ito, Martins e Jorge (2006), na saliva de indivíduos sadios, as contagens de *Candida* geralmente são inferiores a 400 UFC/mL de saliva.

Durante o exame intra bucal para constatação dos fatores de exclusão, pudemos observar clinicamente certas alterações, tais como: mobilidade dentária,

retração gengival, alterações descamativas na mucosa bucal e principalmente ausência de saliva, as quais eram mais comuns no grupo IFNpeg/RBV, vindo a ser mais um indicativo da necessidade prioritária da instituição de um serviço odontológico, junto aos centros de referência próprios.

Independente das possíveis especulações para futuros estudos sobre as condições bucais dos indivíduos com hepatite C e diante de ampla literatura a respeito dos fatores predisponentes que favorecem ao aumento de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal, deve-se dizer que a hepatite C poderá ser considerada como mais um destes fatores a ser avaliado na clínica odontológica.

## 7 CONCLUSÕES

Considerando-se os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir:

- a presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de indivíduos com hepatite C apresentou-se elevada (84,72% dos indivíduos). Não ocorreu entretanto, diferença significativa entre os portadores de hepatite C submetidos (grupo IFNpeg/RBV) ou não (grupo controle) ao tratamento com fármacos;
- *Candida albicans* foi a espécie de levedura mais prevalente nos indivíduos com hepatite C submetidos ou não a tratamento específico;
- o número de espécies de leveduras do gênero *Candida* encontradas na cavidade bucal de indivíduos com hepatite C e submetidos a tratamento com fármacos (grupo IFNpeg/RBV) foi maior que no grupo controle;
- maior freqüência de isolados não identificados fenotipicamente foi observada na cavidade bucal dos indivíduos com hepatite C submetidos a tratamento com fármacos (grupo IFNpeg/RBV) em relação ao grupo controle, denominados no presente estudo de *Candida* spp.
- não ocorreu diferença na contagem de leveduras do gênero *Candida* (UFC/mL de saliva) na cavidade bucal dos indivíduos portadores de hepatite C submetidos (grupo IFNpeg/RBV) ou não ao tratamento com fármacos, porém a média de UFC/mL de

saliva obtida de todos os indivíduos com hepatite C, foi maior que a demonstrada em indivíduos saudáveis, segundo dados recentes obtidos na literatura.

## REFERÊNCIAS

- BELAZI, M. et al. Candidal overgrowth in diabetic patients: potential predisposing factors. **Mycoses**, London, v. 48, n. 3, p. 192-196, Feb. 2005.
- BUDTZ-JORGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 48, n. 2, p. 61-69, Feb. 1990.
- CALDERONE, R. A.; FONZI, W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends Microbiol.**, v. 9, n. 7, p. 327-325, July 2001.
- CAMPIOTO, S. et al. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 38, n. 1, p. 41-49, Jan. 2005.
- CARROZZO, M. Oral health in patients with hepatitis C virus infection: an underestimated problem? **Oral Diseases**, v. 7, n. 4, p. 267-270, July 2001.
- CARROZZO, M.; GANDOLFO, S. Oral Diseases Possibly Associated with Hepatitis C Virus. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 14, n. 2, p. 115-117, Feb. 2003.
- CHANDER, G. et al. Treatment of chronic hepatitis C: A Systematic Review. **Hepatology**, v. 36, n. 5, p. 135-144, Nov. 2002.
- CHAVASCO, J. K. et al. Molecular identification of *Candida dubliniensis* isolated from oral lesions of HIV-positive and HIV-negative patients in São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 21-26, jan/fev. 2006.
- COATES, E. A. et al. Hepatitis C infection and associated oral health problems. **Australian Dent. J.**, v. 45, n. 2, p. 108-114, Feb. 2000.
- FOCACCIA, R. et al. Hepatite C: In: FOCACCIA, R. **Hepatitis Virais**. São Paulo: Atheneu, 1997. p. 51-66.
- FLAMM, S. L. Chronic hepatitis C virus infection. **JAMA**, v. 289, n. 18, p. 2413-2417, May 2003.
- GARCIA-RUIZ, J. C. et al. Infección fúngica invasora en pacientes inmunodeficientes. **Rev. Iberoam. Micol.**, Bilbao, v. 21, n. 1, p. 55-62, Jan. 2004.
- GOW, P. J.; MUTIMER, D. Regular review. Treatment of chronic hepatitis. **BMJ**, v. 323, n. 17, p. 1164-1167, Nov. 2001.
- HENDERSON, L. et al. Oral health of patients with hepatitis C virus infection: a pilot study. **Oral Diseases**, v. 7, n. 5, p. 271-275, Out. 2001.
- HENDERSON, D.K. Managing occupational risks for Hepatitis C transmission in the health care setting. **Clinical Microbiol. Reviews**, v. 16, n. 3, p. 546-568, July 2003.

HINO, K. et al. Genotypes and titers of hepatitis C virus for predicting response to interferon in patients with chronic hepatitis C. **J. Med. Virology**, v. 42, n.1, p. 299-305, Jan. 1994.

HOBSON, R. P. The global epidemiology of invasive *Candida* infections – is the tide turning? **J. Hosp. Infect.**, v. 55, n. 3, p.159-168, Aug. 2003.

JORGE, A. O. C. et al. Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de *Candida albicans* na cavidade bucal. **Rev. Ass. Paul. Cirurg. Dent.**, São Paulo, v. 41, n. 6, p. 308-310, nov./dez. 1987.

JORGE, A. O. C. **Microbiologia: atividade prática** São Paulo: Santos, 1997. 146 p.

JORGE, A. O. C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de controle. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 279-285, out./dez. 1997.

KOGA-ITO, C. Y.; MARTINS, C. A. P.; JORGE, A. O. C. Estudo do gênero *Candida*. In: JORGE, A. O. C. **Princípios de microbiologia e imunologia**. São Paulo: Santos, 2006. cap. 15, p. 219-235.

KJAERGARD, L. L. et al. Interferon alfa with or without ribavirin for chronic hepatitis C: a systematic review of randomised trials. **BMJ**, v. 323, n. 17, p. 1151-1155, Nov. 2001.

MARTINS, C. A. P.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. Presence of *Staphylococcus* spp. and *Candida* spp. in the human oral cavity. **Braz. J. Microbiol.**, v. 33, n. 3, p. 236-240, Aug. 2002.

MARR, K. A. Invasive *Candida* infections: the changing epidemiology. **Oncology**, Danvers, v. 18, n.14, Suppl 13, p. 9-14, Dec. 2004.

McHUTCHISON, J. G.; FRIED, M. W. Current therapy for hepatitis C: pegylated interferon and ribavirin, **Clin. Liver Dis.**, v. 7, n. 3, p. 149-161, July 2003.

McINTYRE, G. T. Oral candidosis. **Dent. Update**, v. 28, n. 3, p. 132-139, Apr. 2001.

MUZYKA, B. C. Oral fungal infections. **Dent. Clin. North Am.**, v. 49, n. 1, p. 49-65, Jan. 2005.

OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 48, n. 2, p. 71-74, Feb. 1990.

OLIVEIRA, M. L. A. et al. Distribution of HCV genotypes among different exposure categories in Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 32, n. 3, p. 279-282, Mar. 1999.

OSTROSKY-ZEICHNER, L. et al. Deeply invasive candidiasis. **Infect. Dis. Clin. N. Am.**, v. 16, n. 10, p. 821-835, Oct. 2002.

PAWLITSKY, J. M. Hepatitis C virus genetic variability: pathogenic and clinical implications. **Clin. Liver Dis.**, v. 7, n.1, p. 45-66, Feb. 2003.

PEGINTRON – **PegInterferon alfa 2b** – Monografia do produto, 2002. Disponível em: <<http://www.pegintron.com.br.htm>> Acesso em: 23 fev. 2005.

RIBEIRO, P. M. **Presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de receptores de transplante cardíaco**. 2003. 85 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de São Paulo, São José dos Campos, 2003.

ROY, K. M.; BAGG, J. Hepatitis C virus and oral disease: a critical review. **Oral Diseases**, v. 5, n. 6, p. 270-277, June 1999.

SAMARANAYAKE, L. P.; MacFARLANE, T. W. **Oral Candidosis**. London: Wright, 1990.

SANDVÉN, P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 48, n. 1, p. 27-36, Jan. 1990.

SHAW-STIFFEL, T. Virology: From Non-A, Non-B Hepatitis to Hepatitis C. In: \_\_\_\_\_ **Hepatitis C Infection**. London: Sciences Press, 2004. cap. 2, p. 7-12.

SILVA, L. C. Drogas utilizadas no tratamento das hepatites. In: \_\_\_\_\_ **Hepatites: Agudas e Crônicas**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 40, p. 345-358.

SULLIVAN, D. J. et al. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. **FEMS Yeast Res.**, v. 4, n. 4-5, p. 369-376, Feb. 2004.

UCHIDA, M. et al. Assessment of Adverse Reactions and Pharmacokinetics of Ribavirin in Combination with Interferon- $\alpha$ -2b in Patients with Chronic Hepatitis C. **Drug Metab. Pharmacokinet**, v. 19, n. 6, p. 438-443, Nov./Dec. 2004.

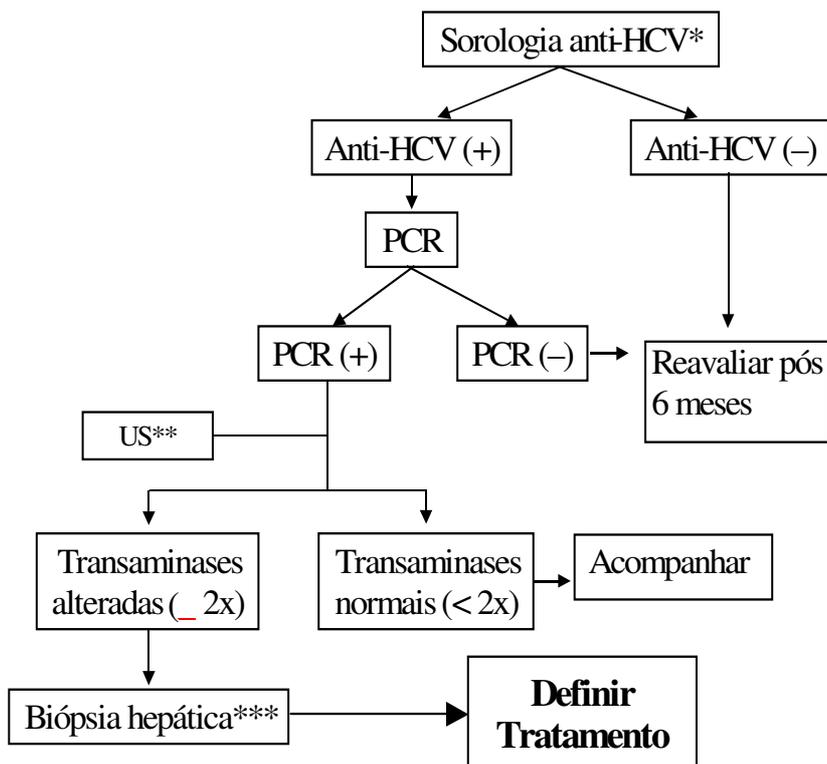
WILLIAMS, D. W.; LEWIS, M. A. O. Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. **Oral Dis.**, v.6, n.1, p. 3-11, Jan. 2000.

YAKOUB, J.; JAFRI, W.; HUSSAINY, A. S. *Candida* oesophagitis with hepatitis C virus: an uncommon association. **Eur. J. Gastr. Hepatology**, v. 15, n. 6, p. 701-703, Jun. 2003.

ZEIN, N. N. Clinical significance of Hepatitis C virus genotypes. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 13, n. 2, p. 223-235, Apr. 2000.

ZÖLLNER, M. S. A. C.; JORGE, A. O. C. *Candida* spp. occurrence in oral cavities of breastfeeding infants and their mother's mouths and breasts. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 17, n. 2, p. 151-155, Apr./June 2003.

ANEXO A - Fluxograma do diagnóstico da hepatite C, adotado pelo Serviço de Referência do Hospital Guilherme Álvaro, Santos, SP



\*Avaliar possibilidade de tratamento antes de aprofundar propedêutica; \*\*Caso de imagens sugestivas de nódulos ou hepatopatia crônica, o paciente deve ser submetido a propedêutica específica; \*\*\*Avaliar indicações de tratamento, contra-indicações de biópsia hepática e método de imagem prévio

## ANEXO B - Protocolo de tratamento

Tabela 3: Protocolo de tratamento clínico do indivíduo com Hepatite C efetuado pelo Serviço de Referência

Procedimento	1ª consulta	2ª consulta, se PCR (+)	3ª consulta, se tratamento indicado	1º mês	2º - 11º mês	12º mês	Pós-tratamento
Consulta clínica	X		X	X	Mensal	X	Mês 3, 6, 12
PCR qualitativo	X						Mês 6
Bioquímica*	X			X	Mensal	X	Mês 3, 6, 12
Eletroforese de proteína	X						
Coagulograma**	X						
Hemograma	X			15/15 dias	Mensal	X	Mês 3, 6, 12
Plaquetas	X			15/15 dias	Mensal	X	Mês 3, 6, 12
US abdominal		X					
T <sub>4</sub> livre/TSH			X				
Teste de gravidez			X				
Eletrocardiograma			X				
Biópsia hepática		X***					
PCR quantitativo		X				3º mês	
Genotipagem		X					

\*aminotransferases, gama-GT, fosfatase alcalina, bilirrubina total e frações, glicemia de jejum, colesterol total, amilase, ácido úrico; \*\* tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada; \*\*\* solicitar biópsia se aminotransferases aumentadas 2,0 vezes. Pedir exames pré-biópsia (hemograma com plaquetas e coagulograma) pelo menos 15 dias antes do procedimento

## ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté



**Universidade de Taubaté**  
Autarquia Municipal de Regime Especial  
Reconhecida pelo Dec. Fed. Nº 78.924/76  
Recredenciada pela portaria CEE/GP nº 30/03  
CNPJ 45.176.153/0001-22

**Reitoria**  
Rua 4 de Março, 432 Centro Taubaté-SP 12020-270  
tel.: (12) 225.4100 fax: (12) 232.7660 www.unitau.br reitoria@unitau.br

**PRPPG - Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação**  
**Comitê de Ética em Pesquisa**  
Rua Visconde do Rio Branco, 210 Centro Taubaté-SP 12020-040  
tel.: (12)225.4217 225.4143 fax: (12)232.2947 edwiges@unitau.br

## DECLARAÇÃO

**Protocolo CEP/UNITAU nº 053/05** (Esse número de registro deverá ser citado pelo pesquisador nas correspondências referentes a este projeto)

**Projeto de Pesquisa:** *Estudo da presença de Candida ssp. em indivíduos portadores de Hepatite C antes e após a administração de medicação específica*

**Pesquisador(a) Responsável:** Marli Sales de Oliveira Montani Caseiro

**Apresentar relatório final ao término da pesquisa:** 31/07/2006

O Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião de 13/05/2005 e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 196/96, considerou o Projeto acima **aprovado**, após o atendimento às pendências.

Taubaté, 19 de maio de 2005

Prof. Dra. Maria Júlia Ferreira Xavier Ribeiro  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté

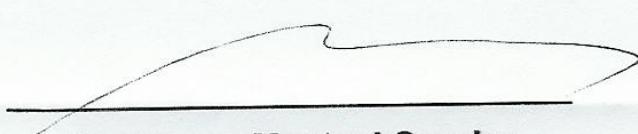
## ANEXO D – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Guilherme Álvaro

Santos, 04 de Maio de 2005.

**DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins que o estudo intitulado “**Estudo observacional prospectivo de pacientes portadores de Hepatite C crônica candidatos ao tratamento com Interferon alfa peguilado em serviços de referência**” recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Guilherme Álvaro em 16/08/2004 e está sendo conduzido no meu consultório, situado a Avenida Conselheiro Nébias 635 conjunto 07.

Sem mais,



**Dr. Marcos Montani Caseiro**

**LIGA DE MOLÉSTIAS INFECCIOSAS**

**Marcos M. Caseiro**

**CRM - 62.023**

**F.C.M.S. - H.G.A.**

## APÊNDICE A



Figura 1 - Unidades formadoras de colônias de leveduras em ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol de um portador de hepatite C, sem medicação



Figura 2 - Unidades formadoras de colônias de leveduras em ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol de um portador de hepatite C, com medicação

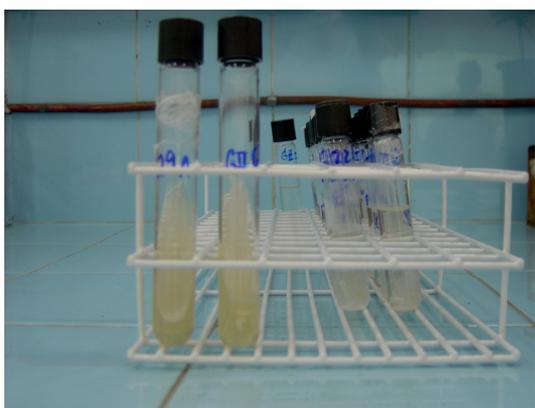


Figura 3 - Cultura pura de leveduras em ágar Sabouraud Dextrose inclinado



Figura 4 - Cultura pura de leveduras de 24 horas repicada em ágar Sabouraud Dextrose



Figura 5 - Prova positiva para formação de tubo germinativo (cortesia Prof. Dr. Olavo Jorge)



Figura 6 - Prova positiva para produção de clamidoconídios (cortesia Prof. Dr. Olavo Jorge)

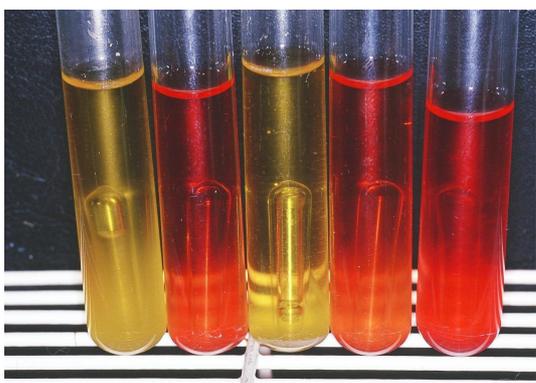


Figura 7 - Prova para fermentação de carboidratos. Prova positiva quando da mudança de vermelho para amarelo



Figura 8 - Prova para assimilação de carboidratos. Prova positiva quando da formação de halo de crescimento ao redor do carboidrato

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO: Presença de *Candida* spp. em indivíduos com hepatite C submetidos a tratamento específico.

PESQUISADORES: Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge e Marli Sales de Oliveira Montani Caseiro

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Marli Sales de Oliveira Montani Caseiro

### DESCRIÇÃO

Este trabalho tem por finalidade avaliar se indivíduos portadores de hepatite C, apresentam *Candida* spp. na cavidade bucal, fazendo ou não uso de medicação específica para a patologia em questão. A análise será feita por meio de coleta de saliva sem estimulação. A finalidade do estudo será propor uma conduta para os casos positivos, ao se comparar a proporção de leveduras no grupo que não faz uso de medicação com o grupo que já faz tal uso, visando desta forma minimizar os efeitos deletérios da presença de *Candida* spp. proporcionando uma melhor qualidade de vida. Além disso, pretendemos chegar a resultados que possam ter importância para o tratamento e prevenção de futuros pacientes.

### TEMPO ENVOLVIDO E BENEFÍCIOS

Caso este protocolo seja aceito pelos indivíduos portadores de HCV, nenhum tempo adicional será despendido em relação ao tratamento específico da patologia. As informações obtidas no final do trabalho poderão conduzir para um maior conhecimento sobre a doença, podendo melhorar a forma de tratamento e sua prevenção. Em se tratando de um levantamento sobre a presença ou não de *Candida* spp. na cavidade bucal, nenhum tratamento odontológico será efetuado durante esta pesquisa.

## CUSTO E PAGAMENTO

Não haverá custo adicional para voluntários por este tratamento. Todo material necessário será fornecido pelos membros da pesquisa.

## SIGILO

Caso o convite para participar do estudo seja aceito, será feito um cadastro em ficha apropriada que pertence aos membros do grupo, que se comprometem a manter segredo sobre a identidade e não divulgá-la na publicação deste trabalho ou a outras pessoas.

## DIREITO DE SE RETIRAR DA PESQUISA

Você pode se retirar da pesquisa, sem nenhum problema, e isto não afetará negativamente seu atendimento médico. Terá assim, liberdade de desistir de participar em qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou punição.

## CONSENTIMENTO VOLUNTÁRIO

Você deve estar ciente de que leu este documento ou foi lido a você, e que compreendeu o seu conteúdo. Uma cópia ficará com você e uma com os pesquisadores. Sua assinatura significa que concorda em participar deste estudo.

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_, residente a \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, na cidade de \_\_\_\_\_ acredito

ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: Presença de *Candida* spp. em indivíduos portadores de hepatite C que estão ou não sob medicação com Interferon Peguilado alfa 2b e Ribavirina. Declaro que fui informado e esclarecido de todos os propósitos e objetivos do estudo, bem como, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

.

Santos, de \_\_\_\_\_ de 200....

Assinatura do paciente/representante

Assinatura da testemunha

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Taubaté, maio de 2005

Marli Sales de Oliveira Montani Caseiro

## APÊNDICE C - FICHA ANAMNÉTICA DO PACIENTE

Prezado(a) Sr.(a).

Com o intuito de aprimorar o atendimento, solicitamos de V. Sa., o obséquio de preencher este questionário anamnético.

Estas informações visam unicamente um melhor conhecimento entre vossa pessoa e o profissional responsável pelo atendimento.

Gostaríamos de esclarecer que as informações aqui contidas são de caráter absolutamente sigiloso, portanto pedimos a gentileza de responder a todas as questões corretamente.

Certo de contarmos com vossa cooperação, antecipadamente agradecemos.

Nome:.....

End.Res.: .....

Cidade: ..... Cep.: .....

Fone Res.: ..... Fone celular: .....

Estado civil: ..... Sexo:..... Data Nasc.: ..... / ..... / .....

Profissão: .....

End. Com.: .....

Fone Com.: ..... .....

e-mail: .....

## SAÚDE GERAL

1. Está sob tratamento médico ? sim ( ) não ( )  
Qual(is) ? .....  
Medicamentos em uso: .....
2. Nos últimos meses ganhou ou perdeu peso ? sim ( ) não ( )  
Por que ? .....
3. Fica doente com freqüência ? sim ( ) não ( )
4. Sofreu alguma intervenção cirúrgica ? sim ( ) não ( )  
Qual ? .....  
Quando ? .....  
Por que ? .....
5. Teve ou tem alguma destas doenças ?  
Hepatite sim ( ) não ( ) qual tipo ? .....  
Tuberculose sim ( ) não ( ) quando ? .....  
Ataque cardíaco sim ( ) não ( ) quando ? .....  
Febre reumática sim ( ) não ( ) quando ? .....  
Diabetes sim ( ) não ( ) qual tipo ? .....  
Alguma outra ? .....
6. Tem anemia ? sim ( ) não ( )
7. Tem algum problema hematológico ? sim ( ) não ( )  
Qual ? .....
8. Tem algum tipo de alergia ? sim ( ) não ( )  
Alergia a que ? .....
9. Teve alguma vez problemas com anestésicos ? sim ( ) não ( )  
Sabe qual ? .....
10. Teve alguma reação adversa com medicamento ? sim ( ) não ( )  
Sabe qual ? .....
11. Já recebeu transfusão de sangue ? sim ( ) não ( )  
Por que ? .....
12. Faz uso de drogas ? sim ( ) não ( )
13. Faz uso de drogas injetáveis ? sim ( ) não ( )
14. Consome álcool em demasia ou diariamente? sim ( ) não ( )
15. Mantém relações homo e/ou bi sexuais ? sim ( ) não ( )
16. Faz alguma dieta ou regime alimentar ? sim ( ) não ( )
17. É fumante ? sim ( ) não ( )  
Quantos cigarros você fuma por dia? .....



Autorizo cópia total ou parcial desta obra, apenas para fins de estudo e pesquisa, sendo expressamente vedado qualquer tipo de reprodução para fins comerciais sem prévia autorização específica do autor.

Marli Sales de Oliveira Montani Caseiro  
Taubaté, junho de 2006

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)