

PRESENÇA DE LEVEDURAS NA CAVIDADE ORAL DE CÃES

WALLER, Stefanie Bressan¹; SANTIN, Rosema²; ARAÚJO, Flávia Biasoli³; NASCENTE, Patrícia da Silva⁴;

¹ Graduanda em Medicina Veterinária - UFPel, Bolsista BIC/FAPERGS waller.stefanie@yahoo.com.br

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFRGS

³ Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel

⁴ Profº Adjunto – Departamento de Microbiologia e Parasitologia – Instituto de Biologia – UFPel

MEIRELES, Mário Carlos Araújo⁵

⁵ Profº Associado – Departamento Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária – UFPel

1 INTRODUÇÃO

A cavidade oral de humanos e de animais abriga uma variedade extensa de leveduras e de bactérias, o que torna importante a identificação dos principais microrganismos com potencial patogênico que levam às enfermidades dessa região, pois fornecem suporte clínico e auxiliam no diagnóstico e tratamento dos pacientes acometidos (BRAGA et al., 2005). As leveduras do gênero *Candida* são componentes da microbiota de humanos e animais clinicamente sadios e são descritos como agentes oportunistas causadores de micoses em todo o mundo. Em cães, *Candida* spp. já foi isolada da mucosa vaginal, oral e anal, bem como da pele, meato acústico externo e espaço interdigital (CLEFF et al., 2005; BRITO et al., 2009). *Malassezia pachydermatis* é a espécie mais estudada em animais e é considerada parte da microbiota de vários sítios anatômicos em cães e gatos, principalmente do meato acústico externo e tegumento cutâneo, embora também possa ser isolada do reto, sacos anais, vagina e espaço interdigital (NOBRE et al., 1998; NASCENTE et al., 2004). Este trabalho objetivou isolar e identificar leveduras do gênero *Candida* e *Malassezia* da cavidade oral de fêmeas caninas do município de Pelotas, RS.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

O estudo da cavidade oral foi realizado em 59 fêmeas caninas adultas previamente anestesiadas, as quais foram submetidas a coletas de amostras em três sítios anatômicos distintos da cavidade oral – mucosa gengival, biofilme dental e sulco periodontal – através de diferentes métodos de colheita, como *swab*, cureta, sonda periodontal milimetrada e ponta de membrana HA em éster de celulose, totalizando 413 amostras. Os dados referentes aos locais e métodos de coletas em cada sítio anatômico encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Locais e métodos de coleta utilizados na cavidade oral de cães

Sítios Anatômicos	Método de Coleta
Mucosa Gengival	Swab e Cureta estéreis
Biofilme Dental do CS*	Cureta estéril
Sulco Periodontal do 4º PMSD**	Sonda Periodontal milimetrada estéril Ponta de membrana HA esterilizada***
Sulco Periodontal do CSE*	Sonda Periodontal milimetrada estéril Ponta de membrana HA esterilizada***

* CS refere-se ao Canino Superior; CSE refere-se ao Canino Superior Esquerdo; ** 4º PMSD refere-se ao 4º Pré-Molar Superior Direito; ***Ponta de membrana HA em éster de celulose esterilizada.

As amostras foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose com Cloranfenicol acrescido de azeite de oliva e incubadas a 36°C por até dez dias com observação diária para posterior identificação. As colônias foram caracterizadas macroscopicamente e suas características microscópicas foram observadas através do esfregaço corado pela técnica de Gram e visualização ao microscópio (100X em óleo de imersão). Os isolados compatíveis com *Malassezia* sp. foram repicados em meio de cultura sem adição de ácidos graxos de cadeia longa para comprovar a lipodependência. Nas leveduras compatíveis com o gênero *Candida* foi realizado teste do tubo germinativo em soro equino, onde mesmo os isolados positivos foram identificados posteriormente através do sistema ID32C.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir das 413 amostras coletadas de diferentes sítios anatômicos da cavidade oral de fêmeas caninas foi possível isolar colônias leveduriformes do gênero *Candida* em nove amostras (quatro da mucosa gengival e cinco do sulco periodontal do 4º pré-molar superior direito) e *Malassezia pachydermatis* em 31 amostras (17 da mucosa gengival, nove do biofilme dental, dois do sulco periodontal do 4º pré-molar superior direito e três do sulco periodontal do canino superior esquerdo). Os presentes dados encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados referentes ao número de isolados do gênero *Candida* e *M. pachydermatis* quanto ao local de isolamento na cavidade oral

Sítios Anatômicos	<i>Candida</i> ssp.	<i>M. pachydermatis</i>
Mucosa Gengival	4	17
Biofilme Dental	-	9
Sulco Periodontal do 4º PMSD*	5	2
Sulco Periodontal do CSE**	-	3
Total	9	31

* 4º PMSD refere-se ao 4º Pré-Molar Superior Direito; ** CSE refere-se ao Canino Superior Esquerdo.

As espécies de leveduras do gênero *Candida* encontradas foram identificadas como *C. albicans* (n=2), *C. catenulata* (n=3), *C. famata* (n=2), *C. guilliermondii* (n=1), *C. parapsilosis* (n=1) e *C. intermedia* (n=1). *C. albicans* é um agente oportunista que já foi isolado de cães como agente etiológico de estomatite e, frequentemente provoca doença em humanos (JADHAV & PAL, 2006). Segundo FERREIRO et al. (2002), *C. albicans* é a única levedura isolada da cavidade oral de felinos com e sem lesão nesta região, o que difere deste trabalho por ser outra espécie animal em estudo. A espécie *C. parapsilosis* já foi isolada da mucosa oral de cães por BRITO et al. (2009) e pode estar envolvida na candidíase oral em humanos, bem como a *C. guilliermondii* (AKPAN; MORGAN, 2002). Embora não tenha sido possível isolar leveduras a partir do biofilme neste experimento, Gasparetto et al (2005) cita que diferentes espécies de *Candida* possuem capacidade de adesão e de produção de biofilme.

Todas as amostras identificadas como pertencentes ao gênero *Malassezia* foram classificadas como *M. pachydermatis*, que faz parte da microbiota oral de cães, sendo encontrada com maior frequência na mucosa gengival e no biofilme dental, o que difere do trabalho de BRAGA et al. (2005), cujas amostras foram coletadas do sulco periodontal, revelando maior incidência do gênero *Malassezia* em cães com doença periodontal. A frequência de isolamento de *M. pachydermatis* do

nariz, boca e vulva em cães da raça Basset Hound saudáveis e com seborréia foi significativamente maior do que em cães sem raça definida e, apesar da *M. pachydermatis* ser isolada da pele e mucosas de cães saudáveis, o papel destes na epidemiologia das dermatites por *M. pachydermatis* não é claro (BOND & LLOYD, 1997). Sabe-se que a multiplicação celular da *M. pachydermatis* em casos de otite externa é facilitada por alguns fatores, como produção excessiva de cerume, alterações do pH, terapia antibiótica ou com glicocorticóides, deficiência nutricional, principalmente de vitaminas e ferro, doenças metabólicas e endocrinopatias, e que o aumento do número de células é que as tornam patogênicas (GUILLOT et al., 1996). Neste estudo, *M. pachydermatis* foi isolada do biofilme dental, embora não tenham sido encontrados artigos referentes a este achado na literatura consultada, para Canizzo et al (2007), todas as amostras de *M. pachydermatis* provenientes do meato acústico de cães foram capazes de produzir biofilme, o que demonstra que a levedura apresenta habilidade para se aderir e formar biofilme sobre as superfícies de diferentes materiais, como poliestireno e poliuretano.

Além disso, o conhecimento da microbiota oral de cães permite estabelecer os prováveis patógenos envolvidos nas infecções de feridas por mordidas animais e em seres humanos, assim como em infecções de feridas cirúrgicas de cães pelo próprio paciente (CARNEIRO et al., 2001) e, conseqüentemente, orientar na escolha do melhor tratamento.

4 CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que as leveduras do gênero *Candida* e *Malassezia pachydermatis* podem fazer parte da microbiota oral de cães. Entretanto, são necessários mais estudos sobre esses microrganismos para que se possa compreender sua capacidade de tornarem-se patógenos orais.

AGRADECIMENTOS

À FAPERGS, CAPES e CNPq.

5 REFERÊNCIAS

AKPAN, A.; MORGAN, R. Oral candidiasis. **Post Graduate Medical Journal**, Wirral, v.78, n.992, p.455-459, 2002.

BOND. R.; LLOYD. D.H. Skin and mucosal populations of *Malassezia pachydermatis* in healthy and seborrhoeic Basset Hounds. **Veterinary Dermatology**, Hatfield, v.8, n.2, p.101-106, june 1997.

BRAGA, C.A.S.; RESENDE, C.M.F.; PESTANA, A.C.N.; CARMO, L.S.; COSTA, J.E.; SILVA, L.A.; ASSIS, L.N.; LIMA, L.A.; FARIAS, L.M.; CARVALHO, M.A.R. Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p.385-390, março-abril 2005.

BRITO, E.H.S.; FONTENELLE, R.O.S., BRILHANTE, R.S.N.; CORDEIRO, R.A.; MONTEIRO, A.J.; SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. The anatomical distribution and antimicrobial susceptibility of yeast species isolated from healthy dogs. **The Veterinary Journal**, Fortaleza, v. 182, n.2, p. 320-326, november 2009.

CANIZZO, F. T.; ERASO, E.; EZKURRA, P. A.; VILLAR-VIDAL, M.; BOLLO, E. CASTELLÁ, G.; CABAÑES, F. J.; VIDOTTO, V.; QUINDÓS, G. Biofilm development by clinical isolates of *Malassezia pachydermatis*. **Medical Mycology**. Bilbao, v.45, n.4, p.357-361, june 2007.

CARNEIRO, L.P.; REZENDE, C.M.F.; SILVA, C.A.; LARANJEIRA, M.G.; CARVALHO, M.A.R.; FARIAS, L.M. External skeletal fixation in dogs: clinical and microbiological evaluation. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.4, p.437-444, 2001.

CARVALHO, M.A.R. Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p. 385-390, 2005.

CLEFF, M.; LIMA, A.; FARIA, R.; MEINERZ, A.R.; ANTUNES, T.; ARAÚJO, F.B.; NASCENTE, P.; NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A. Isolation of *Candida* spp from vaginal microbiota of healthy canine females during estrous cycle. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.36, n.2, p.201-204, april-june 2005.

FERREIRO, L.; MOREIRA, J.; APPELT, C.E.; BERG, V.; OLIVEIRA, I.A.; MUSCHNER, A.C.; REISCHAK, D.; CHERMETTE, R. Associações entre o isolamento de *Candida albicans* com a infecção pelo vírus da leucemia felina (FeLV), tratamentos com corticosteróides ou antimicrobianos em gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.30, n.3, p.179- 183, 2002.

GASPARETTO, A.; NEGRI, M.F.N.; PAULA, C.R.; SVIDZINSKI, T.I.E. Produção de biofilme por leveduras isoladas de cavidade bucal de usuários de prótese dentária. **Acta Scientiarum Health Science**, São Paulo, v.27, n.1, p.37-40, 2005.

GUILLOT, J.; GUÉHO, E.; LESOURD, M.; MIDGLEY, G.; CHÉVRIER, G.; DUPONT, B. Identification of *Malassezia* species: a practical approach. **Journal de Mycologie Médicale**, Paris, v.6, n.3, p.103-110, 1996.

JADHAV, V.J.; PAL, M. Canine mycotic stomatitis due to *Candida albicans*. **Revista Iberoamericana de Micología**, Gujarat, v.23, n.4, p.233-234, dec. 2006.

NASCENTE, P.S.; NOBRE, M.O.; MEINERZ, A.R.M.; GOMES, F.R.; SOUZA, L.L.; MEIRELES, M.C.A. Ocorrência de *Malassezia pachydermatis* em cães e gatos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro, v.26, n.2, p.79-82, 2004.

NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A.; GASPAR, L.F.; PEREIRA, D.; SCHRAMM, R.; SCHUCH, L.F.; SOUZA, L.L.; SOUZA, L. *Malassezia pachydermatis* e outros agentes infecciosos nas otites externas e dermatites em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.3, p. 447-452, julho-setembro 1998.