

Aplicação da genômica nos estudos sobre leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal

GENOMIC APPLICATION IN STUDIES ABOUT *CANDIDA* ORAL YEASTS

Francine Cristina da Silva
Antônio Olavo Cardoso Jorge
Cristiane Yumi Koga-Ito

Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos -UNESP

RESUMO

Durante as últimas décadas registrou-se um aumento das infecções causadas por microrganismos do gênero *Candida*, em particular associadas a numerosas doenças como a AIDS e neoplasias. Esses fatores explicam a necessidade da implementação de métodos moleculares de detecção mais rápida, específica e sensível. Estes dados são de grande valia no estudo de aspectos relacionados à epidemiologia, nas relações genéticas, estudos taxonômicos, avaliação de polimorfismos e no estudo da resistência a antifúngicos das leveduras do gênero *Candida*. Considerando-se a grande importância clínica dessas leveduras e o significativo avanço da genômica observado nas últimas décadas, o objetivo desta revisão foi elucidar a aplicabilidade da biologia molecular no estudo destes microrganismos, contribuindo para que os profissionais da saúde possam acompanhar esses novos avanços científicos e conhecer sua aplicabilidade no diagnóstico, no tratamento e na prevenção de patologias causadas por leveduras do gênero *Candida*.

PALAVRAS-CHAVE

Biologia Molecular. *Candida*. Odontologia.

INTRODUÇÃO

Estudos sobre patogenicidade das leveduras do gênero *Candida* são de extrema importância na atualidade devido ao aumento do número de infecções mucosas e sistêmicas causadas por este microrganismo e da crescente ocorrência de infecções hospitalares por *Candida*

atribuídas a deficiências na cadeia asséptica (CIRAK et al., 2003; LACAZ; PORTO; MARTINS, 1991; PINTO et al., 2004; REISS et al., 1998; RIBEIRO et al., 2003).

Estes microrganismos comensais podem tornar-se patogênicos em indivíduos sob tratamento prolongado com antibióticos de amplo espectro, com doenças degenerativas, neoplásicas ou ainda com imunodeficiências congênitas ou adquiridas (BRANCHINI et al., 1995; CHEN et al., 2000; PINTO et al., 2004; TORTORA et al., 2000). A ocorrência desta patologia é comum na cavidade bucal de indivíduos imunocomprometidos e imunocompetentes, com uma predominância da espécie *Candida albicans* (BORIOLLO et al., 2003; HOFLING et al., 2001; PINTO et al., 2004; WILLIAMS et al., 1995)

O interesse epidemiológico pelas infecções fúngicas por espécies do gênero *Candida* tem atingido grandes proporções devido, principalmente, à alta capacidade disseminadora das espécies sendo a taxa de mortalidade relacionada à *Candida albicans* estimada em cerca de 80 a 85% nos pacientes imunocomprometidos (SCHABERG et al., 1991). Em nível hospitalar, observa-se que o gênero *Candida* é relacionado a cerca de 80% das infecções fúngicas documentadas (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

O papel dessas leveduras é indiscutivelmente importante, sendo necessários estudos que possam contribuir na compreensão dos aspectos epidemiológicos, microbiológicos, moleculares, e na ação de drogas antifúngicas sobre as espécies isoladas, principalmente sobre aquelas que vêm emergindo como patógenos potenciais (BECK-SAGUE; JARVIS, 1993; COLOMBO; GUIMARÃES, 2003; PINTO et al., 2004; RIBEIRO, 2003; ROSA et al., 2000; SCHABERG et al., 1991).

Estudos envolvendo métodos moleculares podem ampliar o conhecimento clínico da epidemiologia, permitindo analisar surtos e incidência de transmissão. Outro ponto importante é a possibilidade de esclarecer a ocorrência de similaridade genética importante para o rastreamento de transmissão entre pacientes (REISS et al., 1998).

A identificação e o estudo molecular dos fatores de virulência dos microrganismos relacionados com patologias podem levar ao desenvolvimento de vacinas direcionadas contra determinados microrganismos e ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas (SILVA, 2003).

Considerando-se a grande importância clínica das leveduras do gênero *Candida* e o grande avanço da genômica observado nas últimas décadas, o objetivo desta revisão foi elucidar a aplicabilidade da biologia molecular no estudo destes microrganismos de grande importância na área médico-odontológica.

REVISÃO DA LITERATURA

As leveduras do gênero *Candida* têm grande importância pela alta frequência com que colonizam e infectam o hospedeiro humano (BORIOLLO et al., 2003; COLOMBO; GUIMARÃES, 2003; ODDS, 2003; PINTO et al., 2004; WAHYUNINGSIH et al., 2000). Embora estejam amplamente distribuídas na natureza como saprófitas, podem tornar-se patogênicas na presença de fatores predisponentes (TORTORA, 2000).

Durante as décadas de 1980 e 1990 registrou-se um aumento das infecções causadas por microrganismos pertencentes ao gênero *Candida* associadas a numerosas doenças, particularmente neoplasias endoteliais e hematológicas, pacientes recebendo quimioterapia ou radioterapia, pacientes com AIDS, diabetes *mellitus* e procedimentos cirúrgicos cada vez mais invasivos (BRANCHINI et al., 1995; PINTO et al., 2004; RIBEIRO, 2003; SCHABERG et al., 1991; SHEEHAN et al., 1999).

O aumento dos casos de infecções oportunistas associadas a terapias imunossupressivas e doenças debilitantes despertou um interesse maior dos profissionais da odontologia, já que a candidose bucal pode ser considerada a manifestação clínica mais frequente (PINTO et al., 2004; RODRIGUES et al. 2004; WILLIAMS; LEWIS, 2000).

Outra manifestação patológica associada a presença da espécie na cavidade bucal é a estomatite por

prótese. Este tipo de candidose, comumente observada clinicamente, é caracterizada pela presença de lesões eritematosas relacionadas ao uso de alguns tipos de prótese reabilitadora da cavidade bucal (RODRIGUES et al., 2004; WILLIAMS et al., 2000).

Em 1963, eram conhecidas apenas cinco espécies de *Candida* como causadoras de doenças em humanos, incluindo *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea* e *C. guilliermondii*. Atualmente são conhecidas cerca de dezessete espécies de *Candida* causadoras de micoses superficiais ou invasivas em seres humanos (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). Recentemente, *C. dubliniensis* foi reconhecida como uma nova espécie cujas características morfológicas e bioquímicas são muito semelhantes à *C. albicans*, sendo necessária a utilização de métodos moleculares para diferenciá-las. Esta nova espécie foi descrita inicialmente na Irlanda, onde 17 a 35% dos pacientes com infecção por HIV/AIDS estudados estavam colonizados por esse agente na cavidade oral (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003; PINTO et al., 2004; XU et al., 1999).

Candida albicans é, sem dúvida, a espécie mais frequentemente isolada de infecções superficiais e invasivas em diferentes sítios anatômicos e em casuística de todas as partes do mundo. Trata-se de levedura com potencial patogênico bastante conhecido, apresentando como principais fatores de virulência a capacidade de aderência, o dimorfismo com produção de estruturas filamentosas que auxiliam a invasão tissular, a termotolerância significativa e a produção de enzimas como proteinases e fosfolipases (BOLDO et al., 2003; COLOMBO, GUIMARÃES, 2003; PINTO et al., 2004)

Colombo e Guimarães (2003) citam em seu estudo uma casuística em que se observou que entre 1976 e 1980 as espécies de *Candida* representavam a 13ª causa de infecção de corrente sanguínea, enquanto no período de 1991 a 1996 passaram a ser a 4ª causa de infecção neste sítio, perdendo em frequência apenas para infecções causadas por estafilococos coagulase negativa, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. É importante observar que além da alta incidência de candidemia nos hospitais, esta complicação infecciosa apresenta índices de mortalidade geral de 60% e mortalidade atribuída de cerca de 40% (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). Este panorama justifica a importância do conhecimento, por parte dos profissionais de saúde, das medidas necessárias para o diagnóstico, controle e tratamento de infecções invasivas por *Candida* spp.

A identificação de leveduras no nível de espécie é etapa fundamental para monitorização das taxas de infecção hospitalar, bem como para a identificação precoce de surtos de infecções por *Candida* (BRANCHINI et al., 1995; CHEN et al., 2000; ODDS, 2003; PINTO et al., 2004; REISS et al., 1998; ROSA et al., 2000; RIBEIRO, 2003). Dentre todas as peculiaridades apresentadas justifica-se, portanto, a necessidade de identificar as leveduras no nível de espécie quando tais microrganismos estão associados a doenças sistêmicas. Esse procedimento é fundamental para permitir a escolha da melhor abordagem terapêutica a ser instituída no paciente infectado e em relação aos aspectos epidemiológicos.

O diagnóstico de candidose é geralmente baseado na presença de lesões na mucosa oral e estudos histopatológicos. A identificação das espécies do gênero *Candida* é baseada, em geral, em características fisiológicas e morfológicas. Este vem sendo considerado, em alguns casos, um procedimento insatisfatório, devido às dificuldades técnicas relacionadas aos procedimentos de cultura e à gama de variações encontradas nas espécies estudadas. Os métodos de tipagem baseados nas características fenotípicas, por sua vez, são geralmente baratos e fáceis de serem realizados, mas têm mostrado uma falha na reprodutibilidade (BOLDO et al., 2003; BORIOLLO et al., 2003; CIRAK et al., 2003; ROSA et al., 2000; WAHYUNINGSIH et al., 2000; YOKOYAMA et al., 2000).

Esses fatores explicam a necessidade de métodos de detecção mais rápidos, específicos e sensíveis, que sejam de grande utilidade no esclarecimento da epidemiologia de infecções por leveduras do gênero *Candida* (BRANCHINI et al., 1995; CIRAK et al., 2003; HOFLING et al., 2001). Os métodos genotípicos são mais dispendiosos e requerem tecnologia sofisticada, mas usualmente permitem uma boa reprodutibilidade (BOLDO et al., 2003; CIRAK et al., 2003; CORTELLI et al., 2003; HOFLING et al., 2001; ODDS, 2003; SHEEHAN et al., 1999; WILLIAMS et al., 1995).

Os recentes avanços na análise da molécula de DNA têm facilitado parte da necessidade de identificação de espécies de *Candida*. A identificação precisa das espécies de *Candida* spp. é de grande importância devido à alta incidência das candidoses na população crescente de pacientes de alto risco (REISS et al., 1998; CIRAK et al., 2003).

Técnicas moleculares como a caracterização do DNA mitocondrial, o RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*), a PCR (*Polymerase Chain Reaction*), o

PFGE (*Pulsed-Field Gel Electrophoresis*), análise de perfis eletroforéticos, padrões de bandas cromossômicas de DNA, entre outros, são ferramentas utilizadas na atualidade para estudos sobre as relações genéticas entre as espécies, estudos taxonômicos, avaliação de polimorfismos e resistência a antifúngicos (BIRREN; LAI, 1994; BRANCHINI et al., 1995; CHEN et al., 2000; PINTO et al., 2004; SHEEHAN et al., 1999; YOKOYAMA et al., 2000).

Cirak et al. (2003) analisaram e identificaram espécies de *Candida* pela PCR e puderam observar que a técnica consegue diferenciar as cepas de *C. albicans* das não-*albicans*. Os autores, comparando a técnica com o método convencional de identificação, concluem ser a PCR um método confiável e prático. No mesmo trabalho os autores conseguem aplicar a análise molecular RFLP (análise do polimorfismo dos fragmentos originados pela utilização de enzimas de restrição) posteriormente à diferenciação das cepas de *Candida* em *albicans* e não-*albicans*, para identificar as espécies de *Candida*. Segundo os autores, o método é usado com sucesso para identificação de cinco espécies de *Candida*.

Observa-se na literatura a aplicação do método AP-PCR, que se baseia na obtenção de polimorfismos de DNA amplificados aleatoriamente, não necessitando de iniciadores específicos, em estudos sobre resistência das leveduras do gênero *Candida* aos antifúngicos (CIRAK et al., 2003; PINTO et al., 2004; SHEEHAN et al., 1999).

Em estudos sobre diversidades e similaridades genotípicas das leveduras patogênicas, Xu et al. (1999), utilizaram a técnica RAPD (*Randon Amplified Polymorphic DNA*), comparando as cepas de diferentes sítios do corpo e Boldo et al. (2003), comparando cepas de origens geográficas diversas. Os autores evidenciaram em seus estudos, que os métodos moleculares existentes para genotipagem de cepas de leveduras são métodos de alto poder discriminatório e reprodutibilidade, requerem poucos materiais e são técnicas rápidas e simples de serem realizadas.

Diferentes tipos de técnicas eletroforéticas têm sido usados para a caracterização ou tipagem de *Candida* (BIRREN; LAI, 1994; BORIOLLO et al. 2003; HOFLING et al., 2001; PINTO et al., 2004; ROSA et al., 2000). Rosa et al. (2000) avaliaram o pareamento entre os diferentes métodos eletroforéticos (SDS-PAGE - proteínas totais; MLEE - enzimas multiloculares) para caracterização das espécies de *Candida* comumente isoladas da cavidade oral de humanos.

Pelo método SDS-PAGE, Hofling et al. (2001) descreveram a aplicação da técnica para observar a influência da composição nutricional presente nos meios de cultura sobre a expressão de determinadas proteínas de células leveduriformes. Segundo os autores, o estudo tem implicações na diferenciação de espécies, com objetivos epidemiológicos, ecológicos e taxonômicos. Estudos recentes, como de Borjollo et al. (2003) utilizam a técnica SDS-PAGE para avaliar os graus de polimorfismos protéicos a fim de identificar subespécies de *C. albicans* e suas similaridades, e estabelecer suas possíveis rotas de transmissão.

Como método de controle de infecção hospitalar, Branchini et al. (1995) preconizam caracterização molecular de espécies de *Candida* por meio da técnica de reação de polimerase em cadeia utilizando RAPD. As técnicas de PFGE e PCR-RAPD, segundo os autores, podem ser utilizadas como medidas efetivas de prevenção e controle de infecção hospitalar.

A análise do perfil protéico por SDS-PAGE permitiu agruparem isolados da cavidade bucal em diversos estudos (RODRIGUES et al., 2004; ROSA et al., 2000), assim como a técnica do PCR é muito aplicável em estudos de amostras da cavidade bucal. Esses estudos são amplamente difundidos na odontologia quando se objetiva caracterização de espécies, identificação de isolados, fatores diagnósticos e tratamentos, dentre outros aspectos.

Existe também Kit de testes rápidos como Wahyuningsih et al. (2000) mostraram em seus estudos. Esses autores utilizaram essa metodologia a fim de obter dados sobre a presença de DNA de *Candida* no diagnóstico de candidose invasiva, concluindo ser um método de grande valor para identificação de pacientes de risco para esta patologia.

DISCUSSÃO

A preocupação dos autores ao analisar os diversos aspectos que caracterizam o gênero *Candida* como um grupo de microrganismo patogênico responsável por infecções graves, candidoses das mais variadas e, principalmente na atualidade, com o crescimento do número de pacientes imunocomprometidos é evidente na literatura (BORIOLLO et al., 2003; COLOMBO; GUIMARÃES, 2003; PINTO et al., 2004; REISS et al., 1998; RIBEIRO, 2003; ROSA et al., 2000; SHEEHAN et al., 1999).

Nas últimas décadas, com o desenvolvimento das técnicas moleculares pode-se observar grande avanço nos estudos voltados à identificação, à patogenicidade, à resistência a antifúngicos das leveduras do gênero *Candida* (BIRREN; LAI, 1994; BOLDO et al., 2003; BORIOLLO et al., 2003; BRANCHINI et al., 1995; CIRAK et al., 2003; HOFLING et al., 2001; ODDS, 2003; PINTO et al., 2004; REISS et al., 1998; TORTORA et al., 2000).

Não só por serem métodos rápidos, específicos e sensíveis, a biologia molecular vem sendo utilizada no estudo minucioso do gênero *Candida*, mas também por serem muito mais satisfatórios que os métodos fenotípicos, carregados de uma série de dificuldades técnicas quanto aos procedimentos de cultura e de identificação, e quanto à falta de precisão e reprodutibilidade (BOLDO et al., 2003; BORIOLLO et al., 2003; CORTELLI et al., 2003; ROSA et al., 2000; YOKOYAMA et al., 2000).

Embora os métodos genotípicos tenham muitas vantagens, são mais dispendiosos e requerem tecnologia sofisticada, impedindo, muitas vezes, de serem utilizados em todos institutos de pesquisa. Deste modo, os métodos de tipagem baseados em características fenotípicas são ainda muito utilizados por serem, geralmente, baratos e não apresentarem grande dificuldade de realização (BRANCHINI et al., 1995; CIRAK et al., 2003; HOFLING et al., 2001; ODDS, 2003; PINTO et al., 2004).

Observou-se neste estudo a aplicação de diferentes técnicas moleculares em estudos sobre as leveduras do gênero *Candida*. Pinto et al (2003), Cirak et al. (2003), Williams et al. (1995), por exemplo, utilizaram a PCR na identificação de *Candida*. Em estudos sobre resistência das leveduras do gênero *Candida* aos antifúngicos, a técnica AP-PCR foi o método de eleição (CIRAK et al., 2003; SHEEHAN et al., 1999).

Para comparação de cepas de *Candida*, Xu et al. (1999) e Boldo et al. (2003) utilizaram a técnica RAPD. A técnica SDS-PAGE foi utilizada sob aspectos diversos, como por exemplo, para caracterização da espécie *Candida* (ROSA et al., 2000). Neste estudo foram descritas as principais técnicas que vêm sendo aplicadas em estudos sobre as leveduras do gênero *Candida*, no entanto, diversas outras técnicas existem e também são aplicáveis com esse intuito.

Na cavidade bucal a espécie é, sem dúvida, uma das mais freqüentemente isoladas de infecções bucais.

O interesse reside na alta prevalência de candidoses bucais, no aumento de infecções oportunistas, justificando a aplicabilidade das inovações científicas nos estudos relacionados às infecções orais por *Candida* spp. (BORIOLLO et al., 2003; HOFLING et al., 2001; PINTO et al., 2004; RODRIGUES et al., 2004; WILLIAMS et al., 2000).

CONCLUSÃO

Tendo em vista os aspectos abordados sobre a aplicação da genômica, observa-se que tem sido largamente empregada no estudo do gênero *Candida* contribuindo de modo importante no estudo de métodos diagnósticos, terapia e prevenção de patologias causadas por estes microrganismos.

ABSTRACT

During the decades of 1980 and 1990 an increase in the number of infections caused by *Candida* genus yeasts associated with several diseases as AIDS and cancer was observed. These factors explain the need of the application of faster and more specific molecular methods of detection for *Candida* spp. These methods are of utmost importance to the highlight the aspects related to epidemiology, genetic correlation, taxonomic studies, polymorphisms evaluation and resistance of antifungal *Candida* yeasts genus. Considering the great clinical importance of these yeasts and the great advance of genomics observed in the last decades, the aim of this review was to elucidate the applications of the molecular biology for this microorganisms' study, to contribute health professionals to follow the new scientific improvement and to know its applicability in diagnosis, treatment and prevention of diseases caused by *Candida* genus yeasts.

KEY WORDS

Candida. Dentistry. Molecular biology.

REFERÊNCIAS

BECK-SAGUE, C.; JARVIS, W. R. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infection in the United States, 1980 – 1990. National Nosocomial Infections Surveillance system. *J Infect Dis*, v.167, n.5, p. 1247-1251, 1993.

BIRREN, B.; LAI, E. Rapid pulsed field separation of DNA molecules up to 250 kb. *Nucleic Acids Res*, v.22, n.24, p.5366-5370, 1994.

BOLDO, X. M. et al. Genetic diversity among clinical isolates of *Candida glabrata* analyzed by randomly amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis analyses. *J Clin Microbiol*, v.41, n. 10, p.4799-804, oct. 2003.

BORIOLLO, M. F. G. et al. Padrões eletroforéticos de proteínas e análise numérica de *Candida albicans* isoladas da cavidade oral de crianças saudáveis. *Rev Inst Med trop S Paulo*, v. 45, n.5, p.249-257, set./out. 2003.

BRANCHINI, M. L. M. et al. Molecular typing of *Candida albicans* strains isolated from nosocomial candidemia. *Rev Inst Med trop S Paulo*, v. 37, n.6, p.483-487, nov./dez. 1995.

CHEN, Y.C. et al. Identification of medically important yeasts using PCR-based detection of DNA sequence polymorphisms in the internal transcribed spacer 2 region of the rRNA genes. *J Clin Microbiol*, v.38, n.6. p. 2302-2310, 2000.

CIRAK, M. Y. et al. Use of molecular methods in identification of *Candida* species and evaluation of fluconazole resistance. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.98, n.8, p. 1027-1032, dec. 2003.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.36, n.5, p. 599-607, set./out. 2003.

CORTELLI, S. C. et al. PCR e cultura na detecção subgengival de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: estudo comparativo. *Ciênc Odontol Bras*, v.6, n.2, p.58-64, abr./jun. 2003.

HOFLING, J. F. et al. Differentiation and numerical analysis of oral yeasts based on SDS-PAGE profiles. Influence of the culture media on the whole-cell protein extracts. *Braz J Biol*, v.61, n.3, p.507-516, ago. 2001.

LACAZ, C.S.; PORTO, C.; MARTINS, J.E.C. *Micologia médica*. 8 ed. São Paulo: Sarvier, 1991.p. 216-25.

LIVINGSTON, E. et al. Species and genotypic diversities and similarities of pathogenic yeast colonizing women. *J Clin Microbiol*, v.37, n.12, p.3835-3843, dec 1999.

ODDS, F. C. Reflections on the question: what does molecular mycology have to do with the clinician treating the patient? *Med Mycol*, v. 41, n. 1, p. 1-6, feb 2003.

PINTO, P.M. et al. Genetic variability analysis among clinical *Candida* spp. Isolates using random amplified polymorphic DNA. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 99, n. 2, p.147-132, mar 2004.

REISS, E. et al. Molecular diagnosis and epidemiology of fungal infections. *Med Mycol*, v.36, n.1, p. 249-257, 1998.

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

RODRIGUES, J.A.O. et al. Evaluation of biochemical and serological methods to identify and clustering yeast cells of oral *Candida* species by CHROMagar test, SDS-PAGE and Elisa. *Braz J Biol*, v.64, n.2, p. 317-326, 2004.

ROSA, E. A. R. et al. Analysis of parity between protein-based electrophoretic methods for the characterization of oral *Candida* species. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 95, n. 6, p. 801-806, nov./dez. 2000.

SCHABERG, D. R. et al. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med*, v.91, n. 3B, p. 725-755, 1991.

SHEEHAN, D.J. et al. Current and emerging azole antifungal agents. *Clin Microbiol Res*, v. 12, n. 1, p.40-79, 1999.

SILVA, S. R. Os novos caminhos da Odontologia Molecular. *Rev Assoc Paul Cir Dent*, v. 57, n.53, mai./jun. 2003.

TORTORA, G. J. *Microbiologia*. 6. ed. Porto Alegre:Artmed, 2000.

WAHYUNINGSIH, R. et al. Simple and rapid detection of *Candida albicans* DNA in serum by PCR for diagnosis of invasive candidiasis. *J Clin Microbiol*, v.38, n.8, p.3016-3021, aug. 2000.

WILLIAMS, D.W.; LEWIS, M.A.O. Isolation and identification from the oral cavity. *Oral Diseases*, v.6, p.3-11, 2000.

WILLIAMS, D. W. et al. Identification of *Candida* species by PCR and restriction fragment length polymorphism analysis of intergenic spacer regions of ribosomal DNA. *J Clin Microbiol*, v.33, n.9, p.2476-2479, 1995.

XU, J. et al. Specific and genotypic diversities and similarities pathogenic yeast colonizing women. *J Clin Microbiol*, v.37, n.12, p.3835-3843, 1999.

YOKOYAMA, K. et al. Identification and phylogenetic relationship of the most common pathogenic *Candida* species inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences. *J Clin Microbiol*, v.38, n.12, p. 4503-4510, 2000.

Francine Cristina da Silva

Profa. Assistente da Disciplina de Microbiologia e Imunologia - Universidade Federal da Bahia e doutoranda em Biopatologia Bucal - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP
Av. Olívia Flores, 3000
Candeias - Vitória da Conquista-BA
CEP: 45055-090
e-mail: franmicro@ufba.br

TRAMITAÇÃO

Artigo recebido em: 24/04/2006

Aceito para publicação em: 27/09/2006