

MARILDA APARECIDA GONÇALVES TOTTI

RECUPERAÇÃO DE CANDIDA ALBICANS, C. PARAPSILOSIS,  
C. TROPICALIS, C. GUILLIERMONDII E C. KRUSEI  
DA CAVIDADE BUCAL DE RATOS NORMAIS E  
SIALOADENECTOMIZADOS

Tese apresentada ao Curso de  
Pós-Graduação em Biologia e Patologia  
Buco-Dental, Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba, Universidade de  
Campinas, para obtenção do Título de  
Mestre em Ciências.

PIRACICABA - S. P.

★1994★

T641r

17997/BC

UNICAMP  
BIBLIOTECAS

MARILDA APARECIDA GONÇALVES TOTTI

RECUPERAÇÃO DE CANDIDA ALBICANS, C. PARAPSILOSIS,  
C. TROPICALIS, C. GUILLIERMONDII E C. KRUSEI  
DA CAVIDADE BUCAL DE RATOS NORMAIS E  
SIALOADENECTOMIZADOS

*Este exemplar foi  
devidamente corrigido  
conforme resolução CCPE/06/03  
Piracicaba, 22 junho 1994  
Antonio Jorge*

Tese apresentada ao Curso de  
Pós-Graduação em Biologia e Patologia  
Buco-Dental, Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba, Universidade de  
Campinas, para obtenção do Título de  
Mestre em Ciências.

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE

PIRACICABA - S. P.

★1994★

Este trabalho é dedicado

ao meu esposo JEFFERSON; grande  
companheiro de vida, pelo constante  
estímulo, dedicação e incansável  
apoio.

a meus pais, GERALDO e ELZA, cujo  
convívio encorajou-me à luta e  
dignificou minha caminhada.

Ao Prof.Dr. ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE, da  
disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia  
de São José dos Campos - UNESP, nossa gratidão pela orientação  
preciosa, objetiva e segura na realização deste trabalho e cujo  
exemplo de dedicação profissional nos incentiva à constância de  
ideais.

Ao Prof.Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA, Titular da disciplina de Patologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, amigo sincero e constante, a quem sempre recorreremos. Nossos agradecimentos pelas valiosas sugestões, confiança que temos recebido e pelo estímulo permanente à pesquisa científica.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof.Dr. MATHIAS VITTI, ex-coordenador e ao Prof.Dr. JOSÉ FRANCISCO HÖFLING, atual coordenador do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos que nos permitiu realizar o curso de Pós-Graduação.

Aos professores, alunos e amigos do Curso de Pós-Graduação (Mestrado e Doutorado) em Biologia e Patologia Buco-Dental, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Aos amigos do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela amizade, excelente ambiente de trabalho e admirável espírito de equipe.

À Sra. MARIA HELENA DE VASCONCELOS PERON e Srta. ROSA MARIA FORNASIER, pela eficiente colaboração.

Ao Prof.Dr. LUIZ VALDRIGHI, da disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, que cordialmente colocou seu laboratório a nossa disposição.

Ao Prof. Dr. JOSÉ FRANCISCO HÖFLING, da disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela gentileza no empréstimo de materiais.

Ao aluno de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Farmacologia, FRANCISCO CARLOS GROPPPO, pelo auxílio na confecção dos gráficos.

À amiga de curso, ROZANGELA VERLENGIA, pela manifestação de apoio e companheirismo durante a realização dos créditos e desenvolvimento do trabalho.

À aluna de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, ELIZABETE BRASIL DOS SANTOS, pelo valioso auxílio durante a fase experimental e sobretudo pela essência de nossa amizade.

À aluna de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, CLÁUDIA MARIA NAVARRO, pela amizade sincera e disposição em transmitir seus conhecimentos e experiências.

Expressamos, também, nossos agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma contribuíram, tornando possível a realização deste trabalho.

## SUMARIO

|                                                                                                    | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| INTRODUÇÃO .....                                                                                   | 02     |
| REVISÃO DA LITERATURA .....                                                                        | 04     |
| 1    GÊNERO <i>Candida</i> .....                                                                   | 04     |
| 2    PRESENÇA DE FUNGOS NA BOCA .....                                                              | 07     |
| 3    CANDIDOSE BUCAL .....                                                                         | 10     |
| 4    XEROSTOMIA .....                                                                              | 14     |
| 5    MECANISMOS DE PATOGENICIDADE DO GÊNERO <i>Candida</i> .....                                   | 20     |
| PROPOSIÇÃO .....                                                                                   | 35     |
| MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                           | 37     |
| 1    ANIMAIS .....                                                                                 | 37     |
| 2    AMOSTRAS .....                                                                                | 37     |
| 3    SIALOADENECTOMIA .....                                                                        | 38     |
| 4    PRESENÇA DE LEVEDURAS NA BOCA DE RATOS NORMAIS .....                                          | 38     |
| 5    PREPARO DA SUSPENSÃO DE <i>Candida</i> E INOCULAÇÃO DAS AMOS-<br>TRAS .....                   | 39     |
| 6    QUANTIFICAÇÃO DE SALIVA, RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO<br>DAS ESPÉCIES DE <i>Candida</i> ..... | 40     |
| 6.1    Formação de tubo germinativo .....                                                          | 41     |
| 6.2    Produção de clamidósporo .....                                                              | 41     |
| 6.3    Fermentação de carboidratos .....                                                           | 42     |
| 6.4    Assimilação de carboidratos .....                                                           | 43     |
| 6.5    Análise e interpretação das provas .....                                                    | 44     |
| 7    ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                                                     | 44     |
| RESULTADOS .....                                                                                   | 46     |
| 1    PRESENÇA DE LEVEDURAS NA BOCA DE RATOS NORMAIS .....                                          | 46     |

|     |                                                                                               |     |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2   | QUANTIFICAÇÃO DE SALIVA NA BOCA DE RATOS NORMAIS E SIALOADENECTOMIZADOS .....                 | 46  |
| 3   | RECUPERAÇÃO DE <i>Candida</i> DA CAVIDADE BUCAL DE RATOS NORMAIS E SIALOADENECTOMIZADOS ..... | 48  |
| 3.1 | Número de ratos que apresentaram levedura após inoculações de <i>Candida</i> .....            | 48  |
| 3.2 | <i>C. albicans</i> .....                                                                      | 50  |
| 3.3 | <i>C. parapsilosis</i> .....                                                                  | 51  |
| 3.4 | <i>C. tropicalis</i> .....                                                                    | 52  |
| 3.5 | <i>C. guilliermondii</i> .....                                                                | 53  |
| 3.6 | <i>C. krusei</i> .....                                                                        | 54  |
|     | DISCUSSÃO .....                                                                               | 58  |
|     | CONCLUSÕES .....                                                                              | 71  |
|     | RESUMO .....                                                                                  | 73  |
|     | SUMMARY .....                                                                                 | 75  |
|     | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                              | 77  |
|     | APÊNDICE .....                                                                                | 110 |

## I N T R O D U Ç Ã O

## INTRODUÇÃO

A candidose bucal está associada a fatores locais ou sistêmicos que alteram os mecanismos de defesa do indivíduo, diminuem o fluxo salivar ou interferem com a microbiota bucal (BUDTZ-JØRGENSEN, 1990a; WILKIESON e cols., 1991; ALLEN, 1992). Está bem estabelecido que a xerostomia em humanos facilita a instalação de candidose bucal (HERNANDEZ e DANIELS, 1989; SCULLY, 1989; IACOPINO e WATHEN, 1992; MCCARTHY, 1992).

A colonização, permanência e patogenicidade de *C. albicans* na cavidade bucal de ratos foram descritos por vários autores (SHAKIR e cols., 1986a e b; ALLEN e BECK, 1987; FROMTLING e cols., 1987; REED e cols., 1990), entretanto, existem poucos dados dos efeitos da xerostomia na permanência de espécies do gênero *Candida* na cavidade bucal de ratos. MEITNER e cols. (1990) obtiveram maior quantidade de *C. albicans* na boca e esôfago de ratos xerostômicos. JORGE e cols. (1993a e b), recuperaram maior número de *C. albicans* da boca de ratos sialoadenectomizados e relataram maior incidência de candidose nestes animais.

O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da xerostomia na recuperação de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados.

REVISÃO DA LITERATURA

## REVISÃO DA LITERATURA

### 1 GÊNERO *Candida*

Foram caracterizados até o momento, 56 gêneros e 489 espécies de fungos, sendo que 25 gêneros e 167 espécies já foram isolados de humanos (STENDERUP, 1990). As leveduras representam os únicos fungos pertencentes à microbiota normal do homem (STENDERUP, 1990). Neste grupo encontra-se o gênero *Candida* que compreende 196 espécies distribuídas na natureza, podendo viver como saprófitas ou parasitas no homem e animais (KREGER-van RIJ, 1984; SHEPHERD e cols., 1985).

Em virtude de sua maior patogenicidade, *Candida albicans* é a espécie mais estudada, entretanto *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* são frequentemente isoladas de seres humanos saudáveis (RUSSELL e LAY, 1973; DAMASCENO e cols., 1974; KREGER-van RIJ, 1984; STENDERUP, 1990) e como agentes etiológicos de micoses superficiais e sistêmicas (AHEARN, 1978; WINGARD e cols., 1979; HOPFER e cols., 1981; CARCASSI e cols., 1982; NGUYEN e PENN, 1987; MESTRES e cols., 1990).

#### 1.1 *Candida albicans*

Na forma de levedura, apresenta-se como células globosas, ovaladas ou alongadas, medindo aproximadamente 3,5 a 6  $\mu\text{m}$  de largura por 6 a 10  $\mu\text{m}$  de comprimento (LODDER, 1971). Em microcultivo forma pseudohifas, podendo apresentar hifas verdadeiras. No ágar-fubá produz clamidósporos e em soro a 37°C forma tubo germinativo (KREGER-van RIJ, 1984). Em meio de cultura líquido, *C. albicans* forma sedimento. Cultivada em ágar Sabouraud a 37°C, mostra colônias brancas

ou branco-amareladas, com diâmetro em média de 4 a 8 mm, úmidas e cremosas e com odor característico. Fermenta glicose e maltose, sendo variável para galactose. Assimila glicose, galactose, maltose e sacarose (SANDVEN, 1990).

*C. albicans* é a espécie relatada com maior frequência em candidoses bucais, vaginites, infecções em vários órgãos (BUDTZ-JØRGENSEN, 1974; AHEARN, 1978; BASSIOUNY e cols., 1984; ALLEN, 1992), fungemias hospitalares (KLEIN e WATANAKUNAKORN, 1979; HARVEY e MYERS, 1987; KOMSHIAM e cols., 1989; MARINA e cols., 1991) e pacientes debilitados (PAULA e cols., 1990; FRANKER e cols., 1990; HEIMDAHL e NORD, 1990; WILKIESON e cols., 1991).

### 1.2 *Candida tropicalis*

Em microscopia demonstra células em brotamento, esféricas, ovais ou alongadas, medindo 2,5  $\mu\text{m}$  de largura por 3 a 14  $\mu\text{m}$  de comprimento, podendo apresentar-se em cachos ou cadeias. Cresce bem a 25 e 37°C em ágar Sabouraud, em aerobiose, produzindo colônias lisas e brancas. Forma película em caldo. No microcultivo *C. tropicalis* forma pseudohifa, mas não clamidósporo. Embora algumas amostras possam formar tubos germinativos atípicos, a maioria não os produz. (TIERNO e MILSTOC, 1977; MARTIN, 1979; GELFAND, 1989). Assimila glicose, maltose, sacarose, galactose, celobiose, xilose e trealose e fermenta glicose, maltose, sacarose, galactose e trealose (GELFAND, 1989; SANDVEN, 1990).

*C. tropicalis* é implicada em candidoses invasivas (MYEROWITZ e cols., 1977; WINGARD e cols., 1979; HARVEY e MYERS, 1987; MARINA e cols., 1991), com infecções indistinguíveis das produzidas por *C. albicans*. É encontrada no ambiente e culturas de rotina do nariz,

garganta, pele, vagina e trato gastrointestinal de indivíduos saudáveis (RICHART e DAMMIN, 1960; AHEARN, 1978).

### 1.3 *Candida parapsilosis*

As células são ovóides, curtas ou alongadas, medindo 2,5 a 4  $\mu\text{m}$  de largura por 2,5 a 9  $\mu\text{m}$  de comprimento, podendo ocorrer pseudomicélio longo (LODDER, 1971). As colônias são normalmente rugosas sobre ágar Sabouraud e delicado crescimento ramificado é produzido em ágar-fubá. Em caldo forma sedimento. É capaz de assimilar glicose, maltose, sacarose e galactose. Fermenta glicose e eventualmente a galactose (SANDVEN, 1990).

*C. parapsilosis*, é considerada saprófita da pele e cavidade bucal (AHEARN, 1978); entretanto apresenta potencial patogênico limitado, podendo causar infecções como endocardite e estar presente em complicações de doenças debilitantes. Casos de fungemia por esta espécie foram associados com nutrição parenteral, uso de drenos e cateteres, antibióticos de largo espectro, terapia imunossupressiva e diabetes (WATANAKUNAKORN e cols., 1968; PAINTER e ISENBERG, 1973; KELLOG e cols., 1974; RUBINSTEIN e cols., 1974; PLOUFFE e cols., 1977; KOLNICK, 1980; SHAIKH e cols., 1980; WEEMS JR e cols., 1987; KONTOU-KASTELLANOU e cols., 1990).

### 1.5 *Candida guilliermondii*

As células são curtas, ovóides ou cilíndricas, medindo cerca de 2 a 4,5  $\mu\text{m}$  de largura por 2,5 a 7  $\mu\text{m}$  de comprimento. As colônias têm coloração creme, são brilhantes e lisas ou opacas e rugosas. Forma pseudomicélio. Fermenta glicose, exibindo fraca reação para galactose e sacarose. Assimila glicose, galactose, sacarose e maltose (SANDVEN, 1990).

A *C. guilliermondii* pode ser recuperada normalmente da cavidade bucal (STENDERUP, 1990) e tem sido citada como agente etiológico em endocardites (AHEARN, 1978), fungemias hospitalares (LOURIA e cols., 1967; BADENHORST e cols., 1991) e outras doenças (GRAHAM e FROST, 1973; McMANNERS e SAMARANAYAKE, 1990).

#### 1.4 *Candida krusei*

Apresenta células ovóides e predominantemente cilíndricas. Pode formar pseudomicélio. O tamanho das células é variável, medindo aproximadamente 3 a 5  $\mu\text{m}$  de largura por 6 a 20  $\mu\text{m}$  de comprimento. Em ágar Sabouraud apresenta colônias amareladas, com aspecto semi-opaco, e superfície lisa ou rugosa. Cultivando-se em meio líquido, uma fina película que se estende contra a parede do vidro é formada na maioria das amostras. Fermenta e assimila apenas glicose. (SANDVEN, 1990).

*C. krusei* é isolada da cavidade bucal de indivíduos saudáveis (DAMASCENO, 1974; STENDERUP, 1990), tendo sido descrita em infecções oculares (SEGAL e cols., 1975), candidoses vaginais (HURLEY e MORRIS, 1964), artrites (CARCASSI e cols., 1982; NGUYEN e PENN, 1987); e fungemias hospitalares (GORDON e cols., 1980; BADENHORST e cols., 1991; McLLROY, 1991; SANDIN e cols., 1993).

## 2 PRESENÇA DE FUNGOS NA BOCA

As leveduras, ocorrem comumente na cavidade bucal de indivíduos sadios. *C. albicans* constitui-se a espécie prevalente, abrangendo cerca de 60 a 70% do total de fungos isolados, seguida de *C. glabrata* e *C. tropicalis* (STENDERUP, 1990).

A primeira tentativa para classificar os fungos e leveduras da boca foi feita por KNIGHTON (1939). Estudando amostras isoladas da mucosa bucal de 146 indivíduos, admitiu que grande proporção pertencia ao gênero *Candida*. Em 1950, LILIENTHAL teve conclusão semelhante em isolados de saliva.

Num estudo realizado por YOUNG e cols. (1951), *C. albicans* foi encontrada na boca de 93,8% em 284 indivíduos examinados, *C. tropicalis* em 2,1%, *C. stellatoidea* em 1,4%, *C. pseudotropicalis* em 0,3%, e *Candida sp.* em 0,6%. Os autores afirmaram que *C. albicans* é um habitante normal da microbiota bucal em 50% da população de adultos jovens, existindo relação direta entre o grau de acidez salivar e a ocorrência desse fungo na boca.

GERGELY e URI (1961), encontraram 70% de *C. albicans* na cavidade bucal de 154 indivíduos sadios, seguida por diferentes espécies de *Penicillium* e outros fungos. Com metodologia semelhante, os mesmos autores (1966) analisaram a variação diária de fungos na boca, durante 8 dias, obtendo no mesmo indivíduo variabilidade acentuada. Grande variabilidade entre indivíduos também foi observada por WILLIAMSON (1972b), cujos resultados sugeriram que as contagens devem ser realizadas em vários dias para se determinar a população de *Candida*.

Num estudo quantitativo do gênero *Candida* em diferentes nichos da cavidade bucal de indivíduos normais, DAMASCENO e cols. (1974) isolaram *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis* e *Candida sp.* da placa dental; *C. albicans* do sulco gengival; *C. tropicalis* e *C. albicans* do dorso da língua; *C. tropicalis*, *C. albicans* e *C. krusei* da saliva.

Culturas positivas para leveduras foram obtidas por ARENDORF e WALKER (1979, 1980), utilizando várias técnicas, sendo *C. albicans* identificada em 88%, *C. krusei* e *C. guilliermondii* em 4%. A *C. albicans* não está distribuída com uniformidade na boca, mas o dorso da língua parece ser o reservatório primário do fungo, a partir do qual o restante da mucosa, superfície dos dentes, placa bacteriana e saliva, podem tornar-se colonizados (ARENDORF e WALKER, 1980; WATSON e KROONE, 1981).

A aquisição de *Candida* foi estudada por SHARP e cols. (1992) entre 163 recém-nascidos e 90 assistentes de uma unidade intensiva de bebês; 46 crianças abrigavam leveduras na boca. *C. albicans* ocorreu em 94,7% de 431 amostras isoladas e 67,4% de 43 isoladas do pessoal assistente. RUSSELL e LAY (1973), encontraram 5,7% de espécies de *Candida* e 7,1% de outras leveduras em 140 crianças no hospital com 1 dia de vida. Após 4 semanas, quando examinadas em casa, 50 das crianças com culturas negativas, apresentaram 96% de levedura, sendo *C. albicans* a espécie predominante (56%) e em menor proporção *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, e *C. pseudotropicalis*.

O estado de portador do gênero *Candida* na boca, ainda não está esclarecido. Entretanto vários fatores têm sido implicados, tais como a dieta (JENKINS e cols., 1977 ; SAMARANAYAKE, 1986), interações com a microbiota bacteriana, diferenças no tecido do hospedeiro e fluidos corpóreos (WILLIAMSON, 1972b), presença de anticorpos específicos e componentes do soro (ROGERS e BALISH, 1980; STENDERUP, 1990; BUDTZ-JØRGENSEN, 1990b). O estado de portador tem sido também relacionado com o grupo sanguíneo O (BURFORD-MASON e cols., 1988). Indivíduos não secretores de antígenos dos grupos sanguíneos na saliva

possuem maior predisposição à candidose (LAMEY, 1991).

As baixas contagens de *C. albicans* geralmente encontradas em indivíduos sadios, levam à conclusão de que os portadores possuem menos que 400 UFC/ml (STENDERUP, 1990). Devido à grande variação nas contagens de *C. albicans* na saliva durante o dia, o reconhecimento de um portador é melhor caracterizado em amostras colhidas pela manhã, (WILLIAMSON, 1972a).

### 3 CANDIDOSE BUCAL

Candidose ou candidíase bucal é o nome coletivo dado a um grupo de desordens causadas por leveduras do gênero *Candida* (SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1990). Os termos "candidose e "candidíase" são sinônimos, entretanto candidose é usado preferencialmente, já que o sufixo "osis" é consistentemente utilizado para a maioria das infecções fúngicas, enquanto a terminação "íase" é mais usada nas parasitoses (SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1990).

Vários fatores predisponentes à infecção por fungos na boca são citados na literatura, sendo rara a ocorrência de doença sem a presença de um ou mais destes fatores (ARENDORF e cols., 1983; ARENDORF e ADDY, 1985; GHANNOUM, 1988; OKSALA, 1990; BUDTZ-JØRGENSEN, 1990a; ALLEN, 1992). Entre eles incluem-se fatores locais e sistêmicos, a seguir:

#### - Fatores locais:

- Xerostomia;
- Antibióticos;
- Dieta rica em carboidratos;

- Câncer bucal;
  - Uso de próteses e aparelhos ortodônticos;
  - Associação com outras doenças bucais como glossite rombóide mediana, leucoplasia e líquen plano;
  - Fumo.
- Fatores sistêmicos:
- Fisiológicos;
  - Desordens endócrinas: como diabetes e hipotireoidismo;
  - Deficiências nutricionais;
  - Comprometimento do sistema imunológico;
  - Hospitalização.

Estudos por TAPPER-JONES e cols. (1980), revelaram prevalência estatisticamente significativa de *C. albicans* em 16 pacientes com síndrome de Sjögren em comparação com indivíduos saudáveis e uma relação inversa entre a quantidade de *Candida* e o fluxo salivar. Efeitos da xerostomia produzida por radiação em pacientes, induzem aumento pronunciado no número de *Candida* na boca (BROWN e cols., 1975).

O uso de antibióticos de largo espectro é um fator importante no estabelecimento de candidoses bucais, pela supressão da população bacteriana (SEELING, 1966). Em candidose experimental de palato em macacos, o uso de tetraciclina por períodos prolongados, resultou em proliferação contínua de *C. albicans* e inflamação mais intensa do que aquela causada apenas pelo fungo (BUDTZ-JØRGENSEN, 1971b).

Dieta rica em carboidratos pode predispor à candidose bucal. Esta hipótese é suportada por estudos *in vitro*, que demonstraram crescimento elevado de *Candida* na saliva com glicose, mesmo na

presença de bactérias (KNIGHT e FLETCHER, 1971). Espécies de *Candida* produzem ácido a partir de saliva suplementada com glicose, o que possivelmente contribua para a patogênese das candidoses bucais (SAMARANAYAKE e cols., 1980).

*Candida* é frequentemente isolada de pacientes com câncer. KIEHN e cols. (1980) isolaram *C. albicans* (88,5%), *C. tropicalis* (12,9%), *C. parapsilosis* (3,7%), *C. krusei* (1,5%) e *C. guilliermondii* (0,4%), durante período de 15 meses em pacientes com câncer. PAULA e cols. (1990) observaram leveduras em 50 pacientes com câncer bucal, antes e durante terapia com radiação. *C. albicans* (30%) foi a espécie mais isolada antes da radioterapia, seguida por *C. tropicalis* (12%), *C. glabrata* e *C. krusei* (4%), *C. parapsilosis* (2%) e *Candida sp.* (2%). Durante a radioterapia, as leveduras mais isoladas foram *C. albicans* (36%), *C. tropicalis* (16%), *C. krusei* (4%), *C. parapsilosis* e *C. glabrata* (2%).

O uso de próteses e aparelhos ortodônticos favorece o abrigo de *Candida* na boca (WILLIAMSON, 1972a; ARENDORF e WALKER, 1979; ARENDORF e ADDY, 1985; STAFFORD e cols., 1986; JORGE, 1986; JORGE e cols., 1987). Elevado número de leveduras foi encontrado por VANDENBUSSCHE e SWINNE (1984) em portadores de prótese, sendo 82% *C. albicans*, 10,3% *C. tropicalis* e *Candida sp.*, 6,8% *C. parapsilosis* e 4,8% *C. glabrata*. A estomatite por prótese afeta cerca de 65% de seus usuários (IACOPINO e WATHEN, 1992), sendo o trauma e a infecção por *Candida* os principais fatores implicados na doença (DAVENPORT, 1970; BUDTZ-JØRGENSEN, 1974; NATER e cols., 1978; DOREY e cols., 1985).

Outras lesões como queilite angular, glossite rombóide mediana, leucoplasia e líquen plano, demonstram freqüente isolamento

do gênero *Candida* (JEPSEN e WINTHER, 1965; van der WAAL e cols., 1979; DAHLÉN e cols., 1982; ARENDORF e WALKER, 1984; TOUYZ e PETERS, 1987; KROGH e cols., 1987; HOLMSTRUP e AXELL, 1990; WILKIESON e cols., 1991). O tabaco associado à prótese também parece influenciar colonização por espécies de *Candida* (ARENDORF e WALKER, 1979; 1980; ARENDORF e cols., 1983; ARENDORF e WALKER, 1984).

KNIGHT e FLETCHER (1971) verificaram que pacientes diabéticos possuem concentrações elevadas de glicose na saliva, o que sugere forte associação com aumento do crescimento de *Candida*. FISHER e cols. (1987) verificaram a presença de *Candida* em 210 (51%) dos 412 pacientes diabéticos examinados. *C. albicans* foi identificada em 89%; *C. krusei* 2,8%; *C. glabrata* 2,8%; *C. tropicalis* 6,2%; *C. stellatoidea* 2,8% e *C. parapsilosis* em 0,5% dos isolados.

Fatores nutricionais incluindo deficiência de ferro e vitaminas têm sido implicados na patogênese de infecções bucais por *Candida* (WALKER e cols., 1973; FLETCHER e cols., 1975; JENKINS e cols., 1977; SAMARANAYAKE, 1986). Hipovitaminose A foi detectada por MONTES e cols. (1973) em 7 de 12 pacientes com candidose mucocutânea e LUNDSTRÖM e cols. (1984) verificaram aumento do número de *Candida* em pacientes com líquen plano, com decréscimo nos níveis de ácido fólico e vitamina B<sup>12</sup> no soro.

As infecções por fungos, têm se destacado nos últimos anos em pacientes imunocomprometidos (ODDS e cols., 1989; HEIMDAHL e NORD, 1990). *C. tropicalis* é considerada como a segunda espécie de *Candida* que mais produz doença nesses pacientes (MYEROWITZ e cols., 1977; WINGARD e cols., 1979; WALSH e MERZ, 1986; ODDS, 1987; GELFAND, 1989).

Candidoses bucais são manifestações frequentes associadas à

Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SAMARANAYAKE e SCULLY, 1989; SAMARANAYAKE e HOLMSTRUP, 1989; WRAY e cols., 1990; MONIACI e cols., 1990; BUDTZ-JØRGENSEN, 1990b), ocorrendo em 1/3 à metade dos indivíduos adultos HIV-soropositivos e em mais que 90% dos pacientes com AIDS, podendo aumentar sua frequência com o avanço progressivo da infecção. (SAMARANAYAKE, 1992; MCCARTHY, 1992). FRANKER e cols. (1990) encontraram 80% de leveduras isoladas de 54 pacientes soropositivos para HIV. *C. albicans* foi identificada em 81% desses pacientes e *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* em 16% do total isolado. TYLENDÁ e cols. (1989), examinaram a prevalência de leveduras na boca de 10 pacientes infectados pelo HIV (estágio precoce), demonstrando que a saliva continha níveis elevados de leveduras atingindo uma média de  $1,3 \times 10^4$  UFC/ml, comparado com menos que  $1,0 \times 10^0$  nos controles.

*C. guilliermondii* foi isolada de um caso de candidose bucal em paciente com abscesso facial (McMANNERS e SAMARANAYAKE, 1990) e em paciente com artrite reumatóide (GRAHAM e FROST, 1973).

#### 4 XEROSTOMIA

A secreção salivar é produzida quase que na totalidade (90%) pelas glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais. O restante é derivado de glândulas salivares menores (HERRERA e cols., 1988).

A saliva exerce diversas funções no trato digestivo, apresentando importante papel na fisiologia orofaríngea, na digestão e na proteção das células gástricas. Modulando a microbiota bucal pelo fluxo físico, a saliva remove microrganismos da boca para o estômago, onde são controlados pelo meio ácido (MANDEL, 1987; HERRERA e cols., 1988). Na cavidade bucal, a saliva apresenta diversas propriedades

protetoras, atribuídas às proteínas que fazem parte de sua constituição (EDGARD, 1990). Aproximadamente 70% das mucinas são secretadas pelas glândulas salivares menores e o restante pelas submandibulares e sublinguais. As mucinas contribuem para manter a integridade da mucosa, devido a sua baixa solubilidade, alta viscosidade, elasticidade e aderência. Fornecem efetiva barreira contra a dessecação, pois sua estrutura molecular permite a ligação com a água, mantendo o tecido bucal sempre hidratado. Também protegem a mucosa resistindo à ação de diversas proteases produzidas na placa bacteriana e em pacientes com periodontite (TABAK e cols., 1982; MANDEL, 1987). O controle da permeabilidade das superfícies mucosas também é desempenhado pelas mucinas, que limitam a penetração de agentes irritantes e toxinas presentes nos alimentos (MANDEL, 1989).

A lisozima pode causar lise de células bacterianas, especialmente *S. mutans* pela ligação a sua superfície celular e interagindo com ânions salivares e bicarbonato. Essa combinação leva à desestabilização da membrana celular, provavelmente pela ativação de autolisinas (POLLOCK e cols., 1987). Também exerce efeito antibacteriano, inibindo o crescimento ou reduzindo a incorporação de glicose e produção de ácido láctico (TWETMAN e LINDQUIST, 1985; TWETMAN e cols., 1986).

A lactoferrina possui propriedades bacteriostáticas para vários microrganismos, sendo efetiva contra bactérias que requerem ferro para seu metabolismo. Entretanto, algumas bactérias digerem a lactoferrina e a utilizam como fonte de ferro.

A peroxidase através da oxidação de íons tiocianato salivares, usando o peróxido de hidrogênio gerado por bactérias

bucais, produz hipotiocianito e ácido hipotiocianoso, potentes antibacterianos que afetam o metabolismo dos microrganismos. (MANDEL, 1989; EDGARD, 1992).

Poliipeptídeos ricos em histidina presentes na saliva da parótida, possuem atividade antifúngica, sendo capazes de inibir o crescimento de *C. albicans* *in vitro* e provavelmente *in vivo* (POLLOCK e cols., 1984).

A presença de IgA na saliva é outro fator importante para neutralizar microrganismos e toxinas (HERRERA e cols., 1988). Esses anticorpos assim como as mucinas podem ser agentes efetivos na inibição da transmissão do HIV e outros vírus como o da *Herpes simplex* (MANDEL, 1989).

Outras ações atribuídas à saliva são: manutenção de pH relativamente neutro na boca através de sua capacidade tampão, limpeza mecânica de resíduos alimentares e carboidratos, maturação pós-eruptiva do esmalte, regulação do balanço iônico nos processos de remineralização do esmalte, deposição da película adquirida e limitação da difusão de ácidos (MANDEL, 1987; EDGARD, 1990; EPSTEIN e SCULLY, 1992).

Alterações clínicas como a síndrome de Sjögren, medicamentos, radioterapia, doenças locais e sistêmicas, são as causas mais comuns que levam à disfunção das glândulas salivares e conseqüente xerostomia (GLASS e cols., 1984; MANDEL, 1990; EDGARD, 1990; 1992).

A xerostomia pode produzir ressecamento da mucosa bucal, fissuras na língua e lábios, e freqüentes ulcerações. A falta de lubrificação resulta na aderência da língua e bolo alimentar à mucosa bucal ou superfícies de dentes e próteses, dificultando a mastigação,

deglutição e fonação (HERRERA e cols., 1988). A xerostomia também aumenta a incidência de cáries em humanos (MANDEL, 1974; GLASS e cols., 1984; JANSMA e cols., 1988; EDGARD, 1990; EPSTEIN e cols., 1992). WALLACE e PETRUSNECK (1985), admitem que a atrofia da mucosa bucal e aumento do índice de cárie em pacientes idosos, estão associados com a diminuição de saliva.

A redução do fluxo salivar é uma condição predisponente à infecções por *Candida* nas mucosas da boca (EPSTEIN e cols., 1983; HERNANDEZ e DANIELS, 1989; SCULLY, 1989; BUDTZ-JØRGENSEN, 1990a; IACOPINO e WATHEN, 1992; MCCARTHY, 1992). Pacientes com síndrome de Sjögren ou que receberam radiações na cabeça e pescoço, revelaram prevalência na população de *C. albicans* na cavidade bucal (BROWN e cols., 1975; TAPPER-JONES e cols., 1980).

Em 1939, CHEYNE descreveu com detalhes a anatomia das glândulas salivares maiores do rato e a técnica de remoção cirúrgica para estudar os efeitos da saliva na cavidade bucal. Flora acidogênica com elevada virulência (incluindo *S. sobrinus*) é selecionada em ratos sialoadenectomizados, a qual é transmitida rapidamente quando esses animais são colocados nas mesmas gaiolas com animais normais, os quais desenvolveram maior número de cáries de superfícies lisas (BOWEN e cols., 1988b). MADISON e cols. (1990) verificaram que animais xerostômicos apresentaram maior transmissibilidade de amostras cariogênicas de *S. sobrinus*, do que ratos normais.

Em ratos e hamster está bem estabelecido que a sialoadenectomia é seguida de aumento na ocorrência de cáries (WEISBERGER e cols., 1940; GILDA e KEYES, 1947; SHAW e WEISBERGER, 1949; KLAPPER e VOLKER, 1953; MUHLER e SHAFER, 1954; SCHWARTZ e SHAW,

1955; SHAW e WOLLMAN, 1958; BOWEN e cols., 1988b; ITO, 1990).

EDGARD e cols. (1981), verificaram rápido desenvolvimento de cáries em macacos após irradiação das glândulas salivares, semelhante ao que acontece em pacientes sob as mesmas condições. ITO (1990), estudando os efeitos da xerostomia nas estruturas bucais do rato, não verificou qualquer modificação na mucosa do grupo sialoadenectomizado e na quantidade de placa dental nos dentes molares. No entanto, observou maior incidência de cárie e diminuição na placa bacteriana nos dentes incisivos inferiores desses animais, quando comparados aos controles. Ratos sialoadenectomizados mostraram maior incidência de carcinomas espinocelulares na cavidade bucal, após aplicações de óxido de nitroquinolina (4NQO), em relação aos normais (NAVARRO, 1992).

O papel da saliva na adesão de leveduras é pouco conhecido. Entretanto, é provável que componentes específicos da saliva ou do soro possam mediar essa adesão (SAMARANAYAKE e cols., 1980; EPSTEIN e cols., 1982; SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1982a; McCOURTIE e DOUGLAS, 1984; YOON e cols., 1989; NIKAWA e HAMADA, 1990). Em células epiteliais bucais pré-incubadas com saliva, ocorre maior aderência de *C. albicans* (SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1981; 1982a; 1982b; GHANNOUM e cols., 1990; DARWAZEH e cols., 1991). Por outro lado há evidências de que a IgA salivar inibe a adesão de *C. albicans* às células epiteliais da boca (EPSTEIN e cols., 1982; VUDHICHAMNONG e cols., 1982). A adesão de *C. albicans* *in vitro* foi reduzida em peças acrílicas submetidas a pré-tratamento em saliva mista não estimulada (McCOURTIE e cols., 1986).

Existem poucos trabalhos sobre a influência da xerostomia na

permanência de leveduras na cavidade bucal de animais. JONES e ADAMS (1970), desenvolveram candidose bucal após inoculações com *C. albicans* em ratos que tiveram redução do fluxo salivar com hioscina. Os autores não observaram variações na recuperação da levedura, a qual esteve presente em todos os animais. Placas acrílicas maxilares inoculadas com *C. albicans* foram inseridas em macacos que tiveram o fluxo salivar reduzido com injeções de oxifenciclimina. Após 1 semana esses animais apresentaram lesões no palato mais extensas e com regressão mais lenta quando comparados ao grupo controle. Tais resultados sugerem que a saliva poderia exercer algum efeito protetor impedindo a colonização de *C. albicans* na superfície de próteses (OLSEN e HAANAES, 1977).

MEITNER e cols. (1990), estudaram a infecção por *C. albicans* na boca e esôfago de ratos com fluxo salivar reduzido e obtiveram uma quantificação de leveduras significativamente maior nos tecidos desses animais em relação àqueles com fluxo salivar normal. No mesmo trabalho, observaram que a transmissibilidade da infecção ocorreu mais rapidamente entre animais com fluxo reduzido de saliva.

A permanência de *C. albicans* em animais com xerostomia também foi estudada por JORGE (1991). Após 3 inoculações de  $10^8$  células da levedura em dias consecutivos, *C. albicans* foi recuperada em maior quantidade e persistência da boca dos animais sialoadenectomizados (até 18 semanas). Em períodos prolongados de inoculações (32 semanas), 70% dos animais xerostômicos apresentaram candidose no dorso da língua, com características variáveis de acordo com a região afetada.

## 5 MECANISMOS DE PATOGENICIDADE DO GÊNERO *Candida*

Os mecanismos que determinam a patogenicidade do gênero *Candida* não são totalmente esclarecidos. Várias hipóteses têm sido sugeridas: fatores intrínsecos das espécies e amostras, aderência aos tecidos, dimorfismo, produção de toxinas e enzimas, e composição da superfície celular (ODDS, 1987; DOUGLAS, 1987; GHANNOUM e ABU-ELTEEN, 1990).

Em 1959, HASENCLEVER verificou que camundongos são altamente susceptíveis à inoculações intravenosas de *C. albicans*. *C. tropicalis* demonstrou alguma letalidade para camundongos, mas não para coelhos; *C. parapsilosis* e *C. stellatoidea* não produziram morte nos animais, enquanto que *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *C. pseudotropicalis* não tinham efeitos letais sobre camundongos. Espécies de *Candida* foram inoculadas em embrião de galinha e apresentaram resultados gradativos na sua patogenicidade. Inóculos de  $10^5$  células de *C. albicans* e *C. tropicalis* produziram lesões macroscópicas na membrana e morte dos embriões em poucos dias; *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* produziram lesões após vários dias, mesmo quando o inóculo foi aumentado. *C. guilliermondii*, demonstrou pouca evidência de infecção mesmo após vários dias da inoculação (PARTRIDGE e cols., 1971).

*Candida parapsilosis* e *C. guilliermondii* são patogênicas sob determinadas condições experimentais. *C. krusei* pode causar a morte do hospedeiro experimentalmente (HURLEY, 1967); entretanto, em estudos realizados por PERITO e cols. (1984), a espécie não se mostrou patogênica para camundongos, mesmo quando inoculada em altas concentrações. Injeções intravenosas com  $10^6$  células de *Candida*,

provocaram a morte de camundongos na seguinte ordem de virulência: *C. albicans*, *C. stellatoidea* e *C. tropicalis*; outras espécies testadas como *C. krusei* e *C. guilliermondii*, não foram letais quando administradas por essa via (MANKOWSKI, 1957).

Inoculando suspensões de *C. tropicalis* por via intravenosa, HASENCLEVER e MITCHELL (1961) verificaram ser esta espécie patogênica para camundongos. HURLEY e WINNER (1962), confirmaram a patogenicidade desta espécie para camundongos quando todos os animais testados morreram dentro de dez dias com lesões no cérebro, coração e rins, após inoculação intravenosa. FROMTLING e cols. (1987), estudaram a patogenicidade de amostras de *C. tropicalis* em camundongos normais, diabéticos e neutropênicos. Verificaram que a ordem de susceptibilidade para provocar a morte e grau de colonização nos órgãos foi neutropênicos, diabéticos e normais, sendo o rim o órgão-alvo para a infecção. A *C. tropicalis* tem sido mais virulenta que *C. albicans* em camundongos imunocomprometidos após inoculação bucal e gastrointestinal (WINGARD e cols., 1980; WINGARD e cols., 1982).

A virulência de *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* foi estudada por GOLDSTEIN e cols. (1965), após infecção intravenosa em camundongos. Nenhuma das espécies foi capaz de produzir doença progressiva nos animais testados.

Mucosa dorsal da língua de ratos recém-nascidos mantida em cultura foi infectada com *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*. *C. albicans* foi a única espécie capaz de invadir todos os tecidos, inclusive o estrato córneo. *C. tropicalis* e *C. krusei* penetraram o tecido conjuntivo e as células

nucleadas profundas do epitélio, mas não invadiram a camada de queratina, enquanto *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* demonstraram somente discreta invasão do tecido conjuntivo. As cinco espécies revelaram habilidade variada para invasão, a qual poderia indicar as diferenças de patogenicidade (HOWLETT, 1976).

A aderência às células epiteliais é um fator importante em determinadas bactérias para a colonização de superfícies mucosas (GIBBONS e van ROUTE, 1971; 1975; MARDT e WESTROM, 1976) e provavelmente exerça influência na patogênese das infecções por *Candida*. KIMURA e PEARSALL (1978), observaram que *C. albicans* possui capacidade de aderência às células epiteliais bucais de humanos.

Existe correlação entre germinação e aumento de aderência de *C. albicans* às células epiteliais da boca, uma vez que a inibição parcial da germinação com cisteína, resultou em diminuição da aderência (KIMURA e PEARSALL, 1980).

A produção do tubo germinativo pela espécie *C. albicans* promove sua retenção às células epiteliais das mucosas (KIMURA e PEARSALL, 1980; SOBEL e cols., 1984), ao acrílico (TRONCHIN e cols., 1988) e à pele (RAY e PAYNE, 1988) e parece ser fator relevante na indução de candidose bucal em ratos (MARTIN e cols., 1984). Sua inibição pelo uso de drogas, diminuiu a aderência (GHANNOUM e cols., 1990; SPIECHOWICZ e cols., 1990).

SAMARANAYAKE e MacFARLANE (1982a) observaram que as células de *C. albicans* pré-incubadas na saliva por 3 horas, possuem maior capacidade de adesão às células "HeLa" e células epiteliais embrionárias de rim humano. Os autores atribuíram o fato à transição do microrganismo da fase de levedura para a micelial.

A colonização de superfícies epiteliais pelas espécies de *Candida* é considerada como pré-requisito na candidose cutânea. RAY e cols. (1984), demonstraram *in vitro* que *C. albicans* e *C. stellatoidea* exibem marcada aderência a queratinócitos da epiderme e às células epiteliais bucais. Existe uma correlação na aderência de *Candida* aos queratinócitos e nas células epiteliais da mucosa, sugerindo que mecanismos similares estejam envolvidos (COLLINS-LECH e cols., 1984). Examinando a capacidade de aderência às células epiteliais bucais e vaginais de sete espécies de *Candida in vitro*, KING e cols. (1980), demonstraram que *C. albicans* aderiu-se a um nível significativamente maior que as outras espécies. *C. tropicalis* e *C. stellatoidea* revelaram moderada capacidade, e *C. parapsilosis* aderiu-se muito pouco. *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *C. kefyr* não foram capazes de interagir com as células epiteliais das mucosas. Os autores sugeriram que a aderência pode estar diretamente relacionada à patogenicidade.

A aderência é influenciada por vários fatores e sua variação não ocorre apenas por diferenças na virulência entre as amostras, mas outras propriedades do microrganismo ou do hospedeiro do qual ele foi isolado, podem ser responsáveis pela patogenicidade (KIMURA e PEARSALL, 1978; KING e cols., 1980; MACURA e cols., 1983; SEGAL, 1987; OLSEN, 1990). GHANNOUM e cols. (1988) observaram que *C. albicans* possui menor aderência às células epiteliais bucais de pacientes com câncer do que indivíduos saudáveis, provavelmente porque os métodos terapêuticos provocaram mudanças na superfície das células afetando seus sítios receptores.

RAY e cols. (1984) observaram aderência de *Candida* aos queratinócitos e às células mucosas e sugeriram que a aderência às

células epiteliais fornece estímulo à transformação micelial. McCOURTIE e DOUGLAS (1984), demonstraram que amostras de *C. albicans* isoladas de infecções da cavidade bucal são mais virulentas para camundongos e aderentes às células bucais humanas, quando comparadas com amostras de portadores assintomáticos. KING e cols. (1980) e KEARNS e cols. (1983), observaram que a aderência às células epiteliais da mucosa é afetada pelas condições de crescimento do fungo e pela variabilidade das células epiteliais.

A temperatura de crescimento dos fungos também parece influenciar sua virulência. Células de *C. albicans*, que cresceram à temperatura ambiente são mais virulentas para camundongos quando comparadas com aquelas incubadas a 37°C. A elaboração de abundantes tubos germinativos à temperatura ambiente pelas células da levedura no interior de neutrófilos, é um mecanismo pelo qual *C. albicans* pode escapar da ação desses fagócitos (ANTLEY e HAZEN, 1988).

Dos fatores que podem influenciar a adesão de *Candida*, KENNEDY e SANDIN (1988) consideram importante o meio de cultura utilizado, uma vez que a aderência do microrganismo é diretamente dependente das condições pelas quais as células crescem. Os autores sugerem que este fato pode explicar as discrepâncias na literatura referentes à natureza bioquímica dos componentes de superfície responsáveis pela adesão da levedura.

A microbiota comensal interfere com a colonização de *Candida* (PAINE, 1958; CORMANE e GOSLINGS, 1963; SOBEL e cols., 1981; GHANNOUM, 1988) e vários mecanismos têm sido propostos para explicar essa interferência tais como: secreção de substâncias antifúngicas pelas bactérias, competição por nutrientes e receptores celulares, e

alterações do meio por infecções bacterianas (PAINE, 1958; LILJEMARK e GIBBONS, 1973; HELSTROM e BALISH, 1979; ROTROSEN e cols., 1986).

A inibição do crescimento por bactérias segundo CORMANE e GOSLINGS (1963) e SHEPHERD (1986) é devido ao esgotamento de nutrientes, uma vez que a adição de glicose à saliva aumenta o crescimento de *Candida* mesmo na presença de bactérias. Por outro lado, *C. albicans* pode ser aglutinada por bactérias que possuem capacidade de aderência aos tecidos bucais como *Streptococcus sanguis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinomyces viscosus*; estas bactérias podem atuar como uma "ponte bacteriana" entre a levedura e os tecidos (BAGG e SILVERWOOD, 1986).

LILJEMARK e GIBBONS (1973) verificaram que *C. albicans* adere-se em menor número às células epiteliais bucais de ratos convencionais do que em ratos assépticos. O crescimento de *C. tropicalis* e *C. krusei* foi inibido por várias bactérias do intestino (PAINE, 1958). Por outro lado, antibióticos diminuem os níveis da população bacteriana indígena e propiciam a proliferação gastrointestinal e subsequente disseminação de leveduras para os órgãos (KENNEDY e VOLZ, 1983).

O uso de antibióticos tem sido relatado como um importante fator predisponente à candidoses em humanos (OKSALA, 1990). Em modelos experimentais, vários estudos sobre a patogênese da infecção por *Candida*, após administração de antibióticos foram realizados (HUPPERT e cols., 1963; RUSSEL e JONES, 1973; RUSSEL e cols., 1976; ALLEN e cols., 1985). KENNEDY e VOLZ (1983), inocularam intragastricamente diferentes leveduras em camundongos pré-tratados com antibióticos, o que predispôs à proliferação gastrointestinal e subsequente

disseminação sistêmica por *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Os animais controle mostraram-se resistentes à colonização e disseminação intestinal, não se observando nenhuma levedura recuperada dos órgãos sistêmicos.

*Streptococcus salivarius* e *S. mitior*, mas não *S. mutans*, reduziram de forma significativa a adesão de *C. albicans* às células epiteliais *in vivo*, provavelmente pela presença de ácido lipoteicoico liberado por esses microrganismos, o qual compete com *Candida* na ligação aos sítios receptores nessas células (SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1982a; DOUGLAS, 1985b). Do mesmo modo, pré-exposição de células "HeLa" a *S. salivarius* reduzem a adesão de *Candida* às mesmas, o que não ocorreu com *S. mutans* (SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1982b). Certas bactérias piliadas também aumentam a aderência de leveduras às células epiteliais do hospedeiro (CENTENO e cols., 1983).

Sob idênticas condições de crescimento, a adesão de *C. albicans* é alterada, dependendo do estágio fenotípico do microrganismo. (KENNEDY e cols., 1988). SLUTSKY e cols. (1987), relataram que amostras patogênicas de *C. albicans* mudaram a morfologia da colônia de branca para opaca, quando cultivadas a 25°C. KENNEDY e cols. (1988), demonstraram que colônias brancas eram significativamente mais adesivas às células epiteliais bucais do que as opacas. A percentagem de células epiteliais bucais com uma ou mais células de *C. albicans* aderidas foi aproximadamente 90% e 50% para os fenótipos branco e opaco, respectivamente.

É muito comum a presença de espécies de *Candida* na superfície de próteses (DAVENPORT, 1970; BUDTZ-JØRGENSEN, 1972; SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1980; SAMARANAYAKE e cols., 1980; McCOURTIE e DOUGLAS,

1981; KLOTZ e cols., 1985; IACOPINO e WATHEN, 1992). SAMARANAYAKE e cols. (1980), relataram que a incubação de *C. albicans* com sacarose ou glicose, aumenta sua aderência às superfícies acrílicas. O aumento da adesão parece resultar da produção de uma camada fibrilar-flocular adicional sobre a superfície celular da levedura (McCOURTIE e DOUGLAS, 1981), a qual poderia fornecer proteção contra a fagocitose (McCOURTIE e DOUGLAS, 1984). Essas alterações induzidas na composição da superfície da levedura devem assumir importância *in vivo*, principalmente na cavidade bucal, na qual altas concentrações de sacarose e outros açúcares da dieta são normalmente encontrados (DOUGLAS, 1985a).

VASILAS e cols. (1992) obtiveram aumento de adesão da levedura na presença de componentes salivares e admitiram que a película adquirida da saliva deve também desempenhar importante papel na colonização das superfícies de próteses. Entretanto, outros estudos sugerem que a saliva ou diminui ou não afeta a aderência de *C. albicans* a essas superfícies (SAMARANAYAKE e cols., 1980; McCOURTIE e DOUGLAS, 1981; McCOURTIE e cols., 1986).

Há evidências de que interações hidrofóbicas podem ser importantes na adesão de leveduras (MINAGI e cols., 1985; KLOTZ e cols., 1985; MACURA, 1987). Embora alguns autores a considerem de menor importância, admitem que possam exercer uma contribuição co-adesiva (KENNEDY e cols., 1988).

A *C. tropicalis* revela maior aderência que *C. albicans* a uma variedade de materiais de base para prótese, cloreto de polivinil e teflon. Essas observações são importantes em relação à etiologia de estomatites por prótese e fungemia relacionada ao uso de cateteres e

válvulas cardíacas, onde estas superfícies podem agir como reservatórios de infecção (DOUGLAS, 1985a; ROTROSEN e cols., 1986).

Em coágulo de fibrina, *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, apresentam maior aderência do que *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *C. glabrata*. A adesão de leveduras à fibrina provavelmente é importante na patogênese da endocardite por *Candida* em humanos (SAMARANAYAKE e cols., 1988).

O dimorfismo observado no gênero *Candida*, embora reconhecido há muito tempo, é um fenômeno que ainda gera controvérsias na literatura. Espécies de *Candida* podem crescer nas formas de levedura ou micélio, dependendo das condições de crescimento (VIDOTTO e cols., 1988). Ambas podem causar infecções (LOURIA e cols., 1962; SHEPHERD, 1985; 1986; MEITNER e cols., 1990; GHANNOUM e ABU-ELTEEN, 1990) e apesar de elementos miceliais serem vistos com maior frequência nas lesões (GOLDSTEIN e cols., 1985; LOURIA e cols., 1966; JONES e RUSSEL, 1973; SALTARELLI e cols., 1975; OLSEN e HAANAES, 1977; FISKE e cols., 1982a e b; RAY e cols., 1984; SHEPHERD, 1986; OLSEN e STENDERUP, 1990), existem ainda poucas evidências de que essa forma é mais patogênica do que a de levedura.

*C. glabrata*, relatada como a segunda espécie mais frequentemente isolada de candidoses bucais (OLSEN, 1974), usualmente não forma hifas e apesar da capacidade de produzir pseudomicélio, *C. tropicalis* não produziu alterações patológicas na mucosa do palato de ratos (SHAKIR e cols., 1983). A relação entre forma miceliana e infecção implica no fato de que as hifas penetram com maior facilidade os tecidos, em comparação com as leveduras e são mais resistentes à fagocitose (SHEPHERD, 1986; GHANNOUM e ABU-ELTEEN, 1990).

A adesão de leveduras à mucosa bucal ocorre provavelmente pela interação entre adesinas do microrganismo e receptores das células epiteliais da boca. Manoproteínas, glucano, chitina, proteínas da parede celular e lipídeos, são possíveis adesinas (OLSEN, 1990).

Uma relação direta entre a composição da superfície celular, aderência e virulência de *C. albicans* foi proposta em estudos por McCOURTIE e DOUGLAS (1984). Amostras da levedura foram capazes de sintetizar uma camada de superfície fibrilar em resposta a altas concentrações de açúcar no meio (SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1980; 1981) e esta modificação demonstrou aumento de adesão às células epiteliais bucais e virulência para camundongos. Neste sentido, essas alterações devem ter importância *in vivo*, principalmente em indivíduos com dieta rica em carboidratos. Além disso, as fibrilas podem representar apêndices semelhantes às fímbrias bacterianas, cujo papel na adesão é bem reconhecido (DOUGLAS, 1985a).

O antibiótico tunicamicina, quando adicionado à culturas no início da fase estacionária, inibiu a síntese do componente fibrilar que consiste em grande parte de manoproteína (DOUGLAS e McCOURTIE, 1983; DOUGLAS, 1985b; ROTROSEN e cols., 1986). A manoproteína de *C. albicans* também é capaz de interagir com proteínas salivares ou mucina (NIKAWA e HAMADA, 1990). Por outro lado, SEGAL e cols. (1982) e DOUGLAS (1987), sugeriram que a chitina, localizada mais internamente na parede celular de *Candida*, pode estar envolvida no processo de adesão. Extrato solúvel de chitina extraído de *C. albicans* inibiu a adesão da levedura à mucosa vaginal de camundongos (LEHRER e cols., 1988).

Outra propriedade atribuída à glicoproteína da parede celular

de *Candida* é a habilidade para inibir a aderência de neutrófilos e prejudicar suas funções quando do mecanismo de adesão. Uma provável explicação para essa inibição de aderência é a ligação competitiva das glicoproteínas aos receptores sobre a superfície de neutrófilos (GHANNOUM e ABU-ELTEEN, 1990).

Determinadas características da candidose experimental levaram HENRICI (1940) e SALVIN (1952) a considerar a possibilidade de *C. albicans* possuir uma endotoxina. CUTLER e cols. (1972), relataram componentes tóxicos contendo carboidratos (manose e glicose) e proteína, originados da parede celular de *C. albicans*, que eram pirogênicos para coelhos e letal para camundongos e embriões de galinha. Os autores propuseram que frações de carboidratos causam a toxicidade em camundongos e que a quantidade de proteína determina a pirogenicidade. Entretanto, tanto a proteína como o açúcar da molécula de glicoproteína, parecem necessários para a atividade tóxica (GHANNOUM e ABU-ELTEEN, 1990).

Endotoxinas de *Candida* são letais para camundongos quando injetadas endovenosamente (MOURAD e FRIEDMAN, 1961) e produzem eritema em pele de coelhos e cobaias (WINNER, 1958). Extrato solúvel liofilizado de *C. albicans*, livre de células, provoca dermatite semelhante àquela observada em humanos (MAIBACH e KLIGMAN, 1962). Injeções com sobrenadante de culturas de *C. albicans* isento de células, aumenta a atividade mitótica do epitélio bucal de ratos (REED e cols., 1990).

IWATA (1975), isolou e caracterizou uma endotoxina, a canditoxina, de natureza proteica, alto peso molecular, localizada no citoplasma da levedura e que era detectada nos rins dos animais que

morriam 12 a 14 dias após a inoculação desse microrganismo. Sua ação principal está relacionada com a liberação de histamina dos mastócitos.

Após colonização e adesão de *Candida* às superfícies epiteliais, as subseqüentes lesões da mucosa ocorrem devido à destruição do tecido por potentes enzimas proteolíticas e/ou toxinas e a uma resposta inflamatória aos antígenos de *Candida* (BUDTZ-JØRGENSEN, 1990a). Assim, a atividade enzimática também é considerada importante na patogenicidade de espécies de *Candida*, que provavelmente facilita sua invasão aos tecidos do hospedeiro. A relação entre a elaboração de enzimas e a patogenicidade de amostras de *Candida* foi sugerida por diversos autores (CHATTAWAY e cols., 1971; BUDTZ-JØRGENSEN, 1971a; SAMARANAYAKE e cols., 1984a; SHIMIZU, 1990; ALMEIDA, 1991). Estudos relatam uma variedade de enzimas produzidas por espécies de *Candida*, a maioria exclusivamente por *C. albicans*. Entre essas, fosfolipase (PUGH e CAWSON, 1975; PRICE e CAWSON, 1977; PRICE e cols., 1982; SAMARANAYAKE e cols., 1984b; BANNO e cols., 1985; BARRETT-BEE e cols., 1985), proteinase (BUDTZ-JØRGENSEN, 1971a; RUCHEL e cols., 1982; 1983; RUCHEL, 1984; GHANNOUM e ABU-ELTEEN, 1986; CASSONI e cols., 1987; RAY e PAYNE, 1988; BORG e RUCHEL, 1988; 1990; NEELY e HOLDER, 1990), hialuronidase e condroitin-sulfatase (SHIMIZU, 1988).

Amostras de *C. albicans* que revelaram atividade fosfolipásica maior, aderiram-se fortemente às células epiteliais bucais e apresentaram maior patogenicidade para camundongos. Por outro lado, *C. parapsilosis* demonstrou baixa atividade fosfolipásica, discreta aderência e índice zero de mortalidade para camundongos (BARRET-BEE e cols., 1985). Pseudohifas de *Candida* são mais resistentes à fagocitose

e podem penetrar nas células do hospedeiro, provavelmente por causa da atividade fosfolipásica concentrada em suas extremidades (CHEIMDAHL e NORD, 1990).

A atividade proteolítica, também importante, é efetuada pela maioria das espécies patogênicas de *Candida*. Amostras de *C. albicans* são fortemente proteolíticas, seguida por *C. tropicalis* em menor extensão. Moderada atividade proteolítica é detectada em amostras de *C. parapsilosis*. Outras espécies de *Candida* de importância clínica como *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefyr* e *C. guilliermondii* parecem não produzir proteinases extracelulares (RUCHEL e cols., 1983; MACDONALD, 1984).

Relação entre a aderência e produção de proteinase por seis espécies de *Candida* foi estudada em pele de camundongos recém-nascidos. *C. albicans* e *C. stellatoidea* revelaram maior aderência, formaram cavitações e invadiram o envelope do queratinócito. *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. guilliermondii* demonstraram discreta ou nenhuma aderência, *C. tropicalis* mostrou resultados intermediários. Pepstatina, um inibidor da proteinase ácida de *Candida*, não alterou a aderência, porém inibiu as cavitações, levando à conclusão de que essa enzima possui atividade queratolítica, podendo participar na aderência e penetração da levedura no epitélio (RAY e PAYNE, 1988; BORG e RUCHEL, 1988). Além disso, a proteinase de *Candida* possui a capacidade de degradar colágeno (KAMINISHI e cols., 1988) e várias imunoglobulinas humanas, incluindo IgA sérica e secretória da saliva. A clivagem de imunoglobulinas por espécies de *Candida*, pode ainda ser facilitada nos sítios onde há elevada

concentração de carboidratos e um fluxo reduzido de saliva (RUCHEL, 1986; REINHOLDT e cols., 1987).

Além de enzimas, há evidências sugerindo que espécies de *Candida* produzem nitrosamina endógena, um carcinógeno para as células dos tecidos bucais e esôfago (HSIA e cols., 1981; KROGH, 1990).

## PROPOSIÇÃO

## PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da xerostomia, provocada pela sialoadenectomia, na recuperação de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* da cavidade bucal de ratos.

## M A T E R I A L       E       M É T O D O S

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1 ANIMAIS

Foram utilizados 104 ratos (*Rattus norvegicus*, Albinus, Wistar), machos, pesando 50 a 150 g, provenientes do Biotério Central da UNICAMP. Destes 104 ratos, 60 não portadores do gênero *Candida*, foram divididos em 5 grupos, cada um composto por 6 ratos normais e 6 sialoadenectomizados. Os animais foram mantidos individualmente em caixas plásticas, alimentados com ração Labina (Purina) e água *ad libitum*. As caixas plásticas foram lavadas e desinfetadas com hipoclorito de sódio a 2,5% e as mamadeiras e bicos autoclavados.

### 2 AMOSTRAS

Foram utilizadas amostras de *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*, provenientes da disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, que foram mantidas em tubos contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco).

Todas as amostras foram isoladas de pacientes com candidose bucal, e produziam proteinase, hialuronidase e condroitin-sulfatase. *C. albicans* e *C. guilliermondii* produziam também fosfatase (SHIMIZU, 1990; ALMEIDA, 1991).

### 3 SIALOADENECTOMIA

A xerostomia foi obtida pela remoção cirúrgica das glândulas salivares maiores do rato (parótidas, submandibulares e sublinguais), segundo a técnica de CHEYNE (1939), modificada. Os animais foram anestesiados através de injeção intraperitoneal de hidrato de cloral a 10% (400 mg/kg de peso corporal), submetidos à tricotomia e antissepsia com álcool iodado na região cervical. Após incisão de aproximadamente 3 cm na porção cervical mediana da pele, o tecido subjacente foi divulsionado e localizou-se as glândulas parótidas; alongadas na direção céfalo-caudal, estendendo-se da região massetérica até a clavícula, possuindo prolongamentos extensivos à margem ventral e caudal do ouvido externo e que se inserem na área retroauricular. As glândulas submandibulares e sublinguais ficam situadas na região infra-hióide, estendendo-se até o manúbrio. Embora estejam separadas por septo de tecido conjuntivo, a firme aderência da glândula sublingual à submandibular, permite remoção cirúrgica simultânea.

As glândulas salivares foram removidas após divulsão tecidual, preservando-se os linfonodos regionais e com prévia ligadura dos vasos sanguíneos de maior calibre que irrigam essas glândulas.

### 4 PRESENÇA DE LEVEDURAS NA BOCA DE RATOS NORMAIS

A presença de leveduras na boca dos ratos antes da inoculação, foi verificada em 104 ratos, após 2 coletas, com intervalo de 1 semana. O mesmo procedimento foi repetido para os

sialoadenectomizados, após 15 dias da remoção das glândulas salivares. Os animais portadores de leveduras na cavidade bucal foram excluídos do estudo.

A coleta foi realizada com mini-"swab" esterilizado com suaves movimentos giratórios por todas as regiões da cavidade bucal, principalmente palato e dorso da língua. O material coletado foi semeado imediatamente em placas de Petri, contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco) com cloranfenicol (Quemacetina Succinato, Carlo Erba - 0,1 mg/ml de meio) e incubado a 37°C durante 48 horas. Após a incubação, foram analisadas as colônias cujo crescimento apresentou características de levedura, isto é, colônias esféricas, branco-foscas, com aparência de porcelana, medindo aproximadamente 4 a 6 mm de diâmetro e de odor característico. A confirmação foi feita em esfregaços corados pelo método de Gram, observando-se células ovaladas, grandes, Gram-positivas, com ou sem brotamento.

## 5 PREPARO DA SUSPENSÃO DE *Candida* E INOCULAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para a obtenção da suspensão contendo *Candida*, a amostra foi semeada em ágar Sabouraud dextrose e incubada a 37°C por 48 horas. A seguir, a cultura foi suspensa em 5 ml de solução fisiológica esterilizada (NaCl a 0,9%) e centrifugada a 2.000 rotações por minuto (r.p.m.) durante 10 minutos. O precipitado foi ressuspenso, centrifugado novamente e o sobrenadante desprezado. O sedimento foi suspenso em 5 ml de solução fisiológica e homogeneizado.

A contagem do número de células viáveis foi realizada em câmara de Neubauer, utilizando-se azul de metileno a 0,05% (REED e

cols., 1990). A suspensão foi padronizada em  $10^9$  células viáveis/ml.

Ratos não anestesiados foram inoculados na boca com 0,2 ml da suspensão padronizada, contendo  $10^8$  células, com auxílio de seringa de 1 ml e agulha 30 x 8, com ponta-romba. Para cada espécie de *Candida* foram utilizados 6 ratos normais e 6 sialoadenectomizados. Os animais receberam um total de 4 inoculações, realizadas em dias consecutivos, ficando privados de água por 1 hora, após cada inoculação.

## 6 QUANTIFICAÇÃO DE SALIVA, RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Candida*

A recuperação de *Candida* da cavidade bucal dos ratos foi feita em vários intervalos de tempo, ou seja, 1, 2, 3, 5, 8, 15, e 30 dias após a última inoculação. A quantidade de leveduras foi calculada coletando-se saliva com auxílio de "bolinha" de algodão previamente esterilizada e pesada. A "bolinha" de algodão foi passada suavemente pela cavidade bucal dos ratos, com auxílio de uma pinça hemostática esterilizada, durante 5 minutos. A seguir, foi novamente pesada, obtendo-se pelas diferenças de peso a quantidade de saliva coletada.

A "bolinha" de algodão foi colocada em tubo de ensaio contendo solução fisiológica esterilizada de forma a completar o volume da saliva coletada para 2 ml. Após agitação por 2 minutos, foram obtidas diluições decimais até  $10^{-8}$ , sendo então, semeadas alíquotas de 0,1 ml em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, em duplicata, e incubadas a  $37^{\circ}\text{C}/48$  h. As colônias com características de *Candida*, foram contadas nas placas que continham de 30 a 300 colônias. A quantificação de *Candida* foi feita a partir do volume de

saliva coletado e do número de unidades formadoras de colônias (UFC). O número de UFC/ml obtido foi convertido no respectivo logaritmo.

Em cada coleta selecionou-se aleatoriamente placas com colônias características de *Candida* de um animal normal e de um sialoadenectomizado para obtenção de culturas puras. A identificação da espécie recuperada foi feita de acordo com SANDVEN (1990), considerando-se as seguintes características:

#### 6.1 FORMAÇÃO DE TUBO GERMINATIVO

Nesta prova uma alçada de cultura pura de 24 horas de levedura foi adicionada em tubo de ensaio (13 x 17 mm), contendo 0,5 ml de soro estéril de coelho e incubada em banho-maria a 37°C por até 3 horas. Para visualização do tubo germinativo, uma gota da suspensão foi colocada entre lâmina e laminula e observada à microscopia de luz.

#### 6.2 PRODUÇÃO DE CLAMIDÓSPORO

Foi usado o meio ágar-fubá tween 80 (pH 5,6), com a seguinte constituição:

|                      |          |
|----------------------|----------|
| Fubá .....           | 40 g     |
| Ágar (Difco) .....   | 20 g     |
| Tween 80 .....       | 10 ml    |
| Água destilada ..... | 1.000 ml |

O fubá foi dissolvido em 800 ml de água destilada, aquecido durante 1 hora em banho-maria, filtrado (filtro Whatman, n°40) por 2 vezes consecutivas e colocado em processo de decantação. A fusão do

ágar foi feita separadamente em 200 ml de água destilada, acrescentando-se o tween 80 e o fubá filtrado. O preparado foi distribuído em Erlenmeyer de 50 ml, autoclavado a 120°C/15 minutos e estocado em geladeira.

Quando da realização da prova, o ágar-fubá previamente fundido foi colocado em lâminas histológicas apoiadas sobre bastão de vidro em forma de "U" e depositadas dentro de placas de Petri esterilizadas. Após a solidificação do ágar, cada amostra foi semeada em estria única sobre a superfície do meio, colocando-se uma laminula no centro da lâmina. No interior da placa de Petri, colocou-se, algodão esterilizado e embebido em soro fisiológico também esterilizado, para manter a umidade do meio. O material foi incubado por 72 horas, à temperatura ambiente, sendo analisado à microscopia de luz para observação da presença de clamidósporos, pseudohifas e blastoconídias.

### 6.3 FERMENTAÇÃO DE CARBOIDRATOS (Zimograma)

Para a realização da prova, foi usado o meio caldo vermelho de fenol (Difco), distribuído em tubos de ensaio com tubos de Durham em seu interior. Em cada tubo foi adicionado um carboidrato (glicose, maltose, sacarose e lactose), de modo a obter concentração de 1%. Após autoclavagem por 15 minutos a 120°C, os tubos foram semeados com cultura pura de 24 horas da amostra mantida em ágar Sabouraud dextrose e a leitura realizada após 72 horas, considerando-se a produção de ácido pela viragem de pH e produção de gás.

#### 6.4 ASSIMILAÇÃO DE CARBOIDRATOS (Auxanograma)

Para assimilação de carboidratos foi utilizado o seguinte meio:

|                                                                   |          |
|-------------------------------------------------------------------|----------|
| Sulfato de amônia( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) .....           | 5,0 g    |
| Fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ..... | 1,0 g    |
| Sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4$ ) .....                     | 0,5 g    |
| Ágar .....                                                        | 20,0 g   |
| Água destilada .....                                              | 1.000 ml |

Após dissolução em banho-maria, o meio foi distribuído (18-20 ml) em tubo de ensaio, autoclavado a  $120^\circ\text{C}$  por 15 minutos e armazenado em geladeira. Para a execução da prova, foi preparada uma suspensão da levedura em solução fisiológica esterilizada com aproximadamente  $10^8$  células a partir de cultura em ágar Sabouraud dextrose. Desta suspensão foi colocado 0,1 ml em placa de Petri esterilizada.

O meio previamente liquefeito e resfriado ( $45^\circ\text{C}$  aproximadamente) foi vertido na placa sobre a suspensão de levedura. Após solidificação, pequenas quantidades dos carboidratos em pó foram colocadas na superfície do meio a intervalos regulares de espaço. Após incubação de 72 horas a  $37^\circ\text{C}$ , a leitura foi feita pela observação da formação de um halo de crescimento ao redor do açúcar assimilado na prova positiva e não formação de halo na prova negativa.

## 6.5 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DAS PROVAS

As características de cada espécie encontram-se na tabela abaixo.

TABELA 1 CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS, DE MICROCULTIVO E FORMAÇÃO DE TUBO GERMINATIVO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Candida* ESTUDADAS

| ESPÉCIES<br>DE<br><i>Candida</i> | FERMENTAÇÃO     |                      |                 |                 | ASSIMILAÇÃO     |                       |                      |                 |                 | TUBO<br>GER<br>MINA<br>TIVO | CLA<br>MI<br>DÔS<br>PO<br>RO | PSEUDO<br>OU HIFA<br>VERDA-<br>DEIRA |
|----------------------------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
|                                  | GLI<br>CO<br>SE | SA<br>CA<br>RO<br>SE | MAL<br>TO<br>SE | LAC<br>TO<br>SE | GLI<br>CO<br>SE | GA<br>LAC<br>TO<br>SE | SA<br>CA<br>RO<br>SE | MAL<br>TO<br>SE | LAC<br>TO<br>SE |                             |                              |                                      |
| <i>C.<br/>albicans</i>           | A/G             | A/-                  | A/G             | -/-             | +               | +                     | +                    | +               | -               | +                           | +                            | +                                    |
| <i>C.<br/>parapsilosis</i>       | A/G             | -/-                  | -/-             | -/-             | +               | +                     | +                    | +               | -               | -                           | -                            | +                                    |
| <i>C.<br/>tropicalis</i>         | A/G             | A/G                  | A/G             | -/-             | +               | +                     | +                    | +               | -               | -                           | -                            | +                                    |
| <i>C.<br/>guilliermondii</i>     | A/G             | A/G                  | -/-             | -/-             | +               | +                     | +                    | +               | -               | -                           | -                            | +                                    |
| <i>C.<br/>krusei</i>             | A/G             | -/-                  | -/-             | -/-             | +               | -                     | -                    | -               | -               | -                           | -                            | +                                    |

A: PRODUÇÃO DE ÁCIDO

G: PRODUÇÃO DE GÁS

## 7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística foi aplicado o teste "t" de Student, para comparação entre duas médias, sendo o nível de significância estabelecido em 5% (VIEIRA, 1983).

## RESULTADOS

## RESULTADOS

### 1 PRESENÇA DE LEVEDURAS NA BOCA DE RATOS NORMAIS

Dos 104 ratos utilizados neste trabalho, leveduras foram isoladas em 44 animais (42,30%), os quais foram excluídos do presente estudo. Dos 60 ratos não portadores de leveduras, 30 foram sialoadenectomizados e continuaram a exibir culturas negativas para o microrganismo, mesmo após 15 dias de cirurgia.

### 2 QUANTIFICAÇÃO DE SALIVA NA BOCA DE RATOS NORMAIS E SIALOADENECTOMIZADOS

Os ratos submetidos à sialoadenectomia revelaram clinicamente mucosa bucal seca com alta viscosidade da saliva residual. A quantidade de saliva obtida em 210 coletas no grupo controle apresentou média de 23,19 mg/min, enquanto que no grupo sialoadenectomizado, a média foi de 4,49 mg/min (Tab.2); portanto com redução no fluxo salivar de cerca de 5 vezes quando comparados com os normais.

TABELA 2 - Médias e desvio-padrão da quantidade de saliva (mg/min) coletada da cavidade bucal de ratos normais (n=30) e sialoadenectomizados (n=30). Cada valor corresponde à média de 30 ratos.

| PERÍODO<br>(DIAS) | RATOS<br>NORMAIS |         | RATOS<br>SIALOADENECTOMIZADOS |          |
|-------------------|------------------|---------|-------------------------------|----------|
| 1                 | 17,46            | ± 8,15  | 3,56                          | ± 1,13   |
| 2                 | 22,59            | ± 9,00  | 5,46                          | ± 2,46   |
| 3                 | 25,49            | ± 10,27 | 5,96                          | ± 2,77   |
| 5                 | 25,41            | ± 9,05  | 4,89                          | ± 2,05   |
| 8                 | 25,41            | ± 9,68  | 4,25                          | ± 1,56   |
| 15                | 23,65            | ± 8,61  | 3,52                          | ± 1,14   |
| 30                | 22,33            | ± 6,37  | 3,78                          | ± 1,32   |
| TOTAL             | 23,19            | ± 2,87  | 4,49                          | ± 0,97 * |

\* Diferença significativa ao nível de 5% em relação ao grupo normal.

### 3 RECUPERAÇÃO DE *Candida* DA CAVIDADE BUCAL DE RATOS NORMAIS E SIALOADENECTOMIZADOS

#### 3.1 Número de ratos que apresentaram levedura após inoculações de *Candida*

*C. albicans* e *C. parapsilosis* foram as espécies que persistiram até o final do experimento na boca dos animais. Houve uniformidade na recuperação seguindo-se 8 dias de coleta nos animais normais e sialoadenectomizados, inoculados com *C. albicans*, cuja presença foi verificada em 100% das culturas realizadas. No último período, 4 (66,6%) dos animais de ambos os grupos, ainda revelavam cultura positiva para a levedura (Tab.3).

*C. parapsilosis* manteve-se presente em número semelhante de ratos até o 5º período de coleta. No 15º dia, houve uma redução de animais portadores, apresentando-se a levedura em apenas 33,3% nos dois grupos. Entretanto, no último período, *C. parapsilosis* foi cultivada de 4 animais normais (66,6%) e 2 xerostômicos (33,3%).

*C. tropicalis* apresentou-se no primeiro dia, em 100% dos animais de ambos os grupos. No 3º dia esteve presente em 5 (83,3%) e 1 (16,6%) dos ratos normais e sialoadenectomizados, respectivamente e no 5º dia, apenas nos animais normais em 33,3% das culturas.

Nos períodos iniciais de coleta, 16,6% dos animais do grupo normal, abrigavam *C. guilliermondii* na boca, enquanto que culturas negativas foram obtidas do grupo xerostômico nesse mesmo período. Já em 3 dias, a levedura foi isolada de 33,3% de ambos os grupos, mantendo-se na mesma proporção nos sialoadenectomizados na coleta seguinte e em 66,6% dos animais normais.

*C. krusei* esteve presente em 16,6% dos ratos normais, durante as 2 primeiras coletas; em 4 (66,6%) dos ratos xerostômicos 1 dia após a última inoculação e em apenas 1 animal (16,6%) desse grupo até o 5º dia de coleta.

A partir de 8 dias, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* não foram isoladas da cavidade bucal de qualquer dos animais examinados.

TABELA 3 - Número de ratos que apresentaram leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal, nos diferentes períodos de recuperação. Para cada espécie de levedura foram usados 6 ratos normais e 6 sialoadenectomizados.

| ESPÉCIES                 | PERÍODOS (DIAS) |   |   |   |   |    |    |
|--------------------------|-----------------|---|---|---|---|----|----|
|                          | 1               | 2 | 3 | 5 | 8 | 15 | 30 |
| <i>C. albicans</i>       |                 |   |   |   |   |    |    |
| Normais                  | 6               | 6 | 6 | 6 | 6 | 6  | 4  |
| Xerostômicos             | 6               | 6 | 6 | 6 | 6 | 5  | 4  |
| <i>C. parapsilosis</i>   |                 |   |   |   |   |    |    |
| Normais                  | 5               | 6 | 6 | 6 | 3 | 2  | 4  |
| Xerostômicos             | 6               | 5 | 4 | 6 | 4 | 2  | 2  |
| <i>C. tropicalis</i>     |                 |   |   |   |   |    |    |
| Normais                  | 6               | 6 | 5 | 2 | 0 | 0  | 0  |
| Xerostômicos             | 6               | 4 | 1 | 0 | 0 | 0  | 0  |
| <i>C. guilliermondii</i> |                 |   |   |   |   |    |    |
| Normais                  | 1               | 1 | 2 | 4 | 0 | 0  | 0  |
| Xerostômicos             | 0               | 0 | 2 | 2 | 0 | 0  | 0  |
| <i>C. krusei</i>         |                 |   |   |   |   |    |    |
| Normais                  | 1               | 1 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  |
| Xerostômicos             | 4               | 1 | 1 | 1 | 0 | 0  | 0  |

### 3.2 *C. albicans*

Os dados demonstrados nas tabelas, para todas as espécies, estão expressos em logaritmos (log) do número de células quantificadas. As figuras 1 e 2 apresentam graficamente os valores dos logaritmos das UFC/ml, das diferentes espécies.

A quantidade de *C. albicans* recuperada da boca dos ratos normais foi semelhante até o 8º dia de coleta (Tab.4). No 15º e 30º dias, houve diminuição na recuperação. Nos animais sialoadenectomizados, a quantificação da levedura foi sempre maior que nos normais, atingindo valores estatisticamente significativos em até 5 períodos de coleta.

TABELA 4 - Médias e desvio-padrão do logaritmo do número de UFC/ml de *C. albicans*, recuperado da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados, até 30 dias após 4 inoculações da levedura.

| COLETA<br>(DIAS) | NORMAIS<br>(n=6) |   |      | SIALOADENECTOMIZADOS<br>(n=6) |   |        |
|------------------|------------------|---|------|-------------------------------|---|--------|
| 1                | 3,65             | ± | 0,23 | 5,03                          | ± | 0,39 * |
| 2                | 3,35             | ± | 0,58 | 5,15                          | ± | 0,55 * |
| 3                | 3,56             | ± | 0,42 | 5,81                          | ± | 0,56 * |
| 5                | 3,49             | ± | 0,45 | 5,07                          | ± | 0,24 * |
| 8                | 3,77             | ± | 0,65 | 4,84                          | ± | 0,29 * |
| 15               | 2,62             | ± | 0,63 | 3,23                          | ± | 1,66   |
| 30               | 1,83             | ± | 1,55 | 2,74                          | ± | 2,29   |

\* Diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% em relação aos normais.

3.3 *C. parapsilosis*

Comparando-se grupo normal e sialoadenectomizado, constatou-se semelhança no padrão de recuperação para esta espécie em todos os períodos, exceto no 5º dia, que foi maior e significativo no grupo xerostômico (Tab.5). A partir desse período, o microrganismo manteve-se em quantidades decrescentes na boca dos ratos, com um ligeiro aumento apenas na última coleta (30º dia) para o grupo normal.

TABELA 5 - Médias e desvio-padrão do logaritmo do número de UFC/ml de *C. parapsilosis*, recuperado da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados, até 30 dias após 4 inoculações da levedura.

| COLETA<br>(DIAS) | NORMAIS<br>(n=6) | SIALOADENECTOMIZADOS<br>(n=6) |
|------------------|------------------|-------------------------------|
| 1                | 3,14 $\pm$ 1,62  | 3,71 $\pm$ 0,63               |
| 2                | 3,56 $\pm$ 0,51  | 3,15 $\pm$ 1,81               |
| 3                | 2,99 $\pm$ 0,47  | 2,42 $\pm$ 1,96               |
| 5                | 2,87 $\pm$ 0,52  | 3,99 $\pm$ 0,37 *             |
| 8                | 1,06 $\pm$ 1,18  | 2,11 $\pm$ 1,76               |
| 15               | 0,76 $\pm$ 1,19  | 0,96 $\pm$ 1,50               |
| 30               | 1,33 $\pm$ 1,15  | 0,98 $\pm$ 1,53               |

\* Diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% em relação aos normais.

3.4 *C. tropicalis*

Ratos normais e sialoadenectomizados apresentaram-se semelhantes quanto à quantidade de *C. tropicalis* recuperada da cavidade bucal, nos 2 primeiros períodos de coleta (Tab. 6).

Posteriormente, observou-se que embora houvesse um decréscimo na recuperação, a levedura foi isolada no 3º dia em quantidade estatisticamente significativa no grupo normal e somente neste, permaneceu no período seguinte. A partir do 8º dia, não se recuperou *C. tropicalis* da boca de nenhum dos animais.

TABELA 6 - Médias e desvio-padrão do logaritmo do número de UFC/ml de *C. tropicalis*, recuperado da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados, até 30 dias após 4 inoculações da levedura.

| =====            |                  |        | =====                         |        |  |
|------------------|------------------|--------|-------------------------------|--------|--|
| COLETA<br>(DIAS) | NORMAIS<br>(n=6) |        | SIALOADENECTOMIZADOS<br>(n=6) |        |  |
| 1                | 3,27             | ± 0,44 | 3,72                          | ± 0,81 |  |
| 2                | 2,52             | ± 0,51 | 1,95                          | ± 1,54 |  |
| 3                | * 1,67           | ± 1,06 | 0,37                          | ± 0,91 |  |
| 5                | 0,69             | ± 1,10 | 0,00                          | ± 0,00 |  |
| 8                | 0,00             | ± 0,00 | 0,00                          | ± 0,00 |  |
| 15               | 0,00             | ± 0,00 | 0,00                          | ± 0,00 |  |
| 30               | 0,00             | ± 0,00 | 0,00                          | ± 0,00 |  |
| =====            |                  |        | =====                         |        |  |

\* Diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% em relação ao grupo sialoadenectomizado.

3.5 *C. guilliermondii*

Nos períodos iniciais da coleta, *C. guilliermondii* esteve ausente da cavidade bucal dos ratos sialoadenectomizados, enquanto que nos animais normais, apresentou-se em pequena quantidade. No 3º e 5º dias, houve recuperação semelhante entre os grupos e nos períodos subseqüentes, todas as culturas foram negativas para o microrganismo (Tab. 7).

TABELA 7 - Médias e desvio-padrão do logaritmo do número de UFC/ml de *C. guilliermondii*, recuperado da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados, até 30 dias após 4 inoculações da levedura. Em nenhum período houve diferença estatística ao nível de 5%.

| COLETA<br>(DIAS) | NORMAIS<br>(n=6) |   |      | SIALOADENECTOMIZADOS<br>(n=6) |   |      |
|------------------|------------------|---|------|-------------------------------|---|------|
|                  |                  | ± |      |                               | ± |      |
| 1                | 0,36             | ± | 0,89 | 0,00                          | ± | 0,00 |
| 2                | 0,25             | ± | 0,62 | 0,00                          | ± | 0,00 |
| 3                | 0,64             | ± | 1,01 | 1,02                          | ± | 1,59 |
| 5                | 1,61             | ± | 1,31 | 1,28                          | ± | 1,98 |
| 8                | 0,00             | ± | 0,00 | 0,00                          | ± | 0,00 |
| 15               | 0,00             | ± | 0,00 | 0,00                          | ± | 0,00 |
| 30               | 0,00             | ± | 0,00 | 0,00                          | ± | 0,00 |

3.6 *C. krusei*

Os dois grupos demonstraram presença da levedura em baixas contagens nos tempos iniciais da coleta, embora nos sialoadenectomizados tenha sido maior 1 dia após a última inoculação. No 3º e 5º dias, *C. krusei* foi isolada também em pequena quantidade e somente dos xerostômicos. A partir do 8º dia, esteve ausente da cavidade bucal de todos os ratos, até o final do experimento (Tab. 8).

TABELA 8 - Médias e desvio-padrão do logaritmo do número de UFC/ml de *C. krusei*, recuperado da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados, até 30 dias após 4 inoculações da levedura. Em nenhum período houve diferença estatística ao nível de 5%.

| COLETA<br>(DIAS) | NORMAIS<br>(n=6) |   |      | SIALOADENECTOMIZADOS<br>(n=6) |   |      |
|------------------|------------------|---|------|-------------------------------|---|------|
|                  |                  | ± |      |                               | ± |      |
| 1                | 0,39             | ± | 0,95 | 2,00                          | ± | 1,58 |
| 2                | 0,29             | ± | 0,71 | 0,35                          | ± | 0,85 |
| 3                | 0,00             | ± | 0,00 | 0,37                          | ± | 0,91 |
| 5                | 0,00             | ± | 0,00 | 0,36                          | ± | 0,89 |
| 8                | 0,00             | ± | 0,00 | 0,00                          | ± | 0,00 |
| 15               | 0,00             | ± | 0,00 | 0,00                          | ± | 0,00 |
| 30               | 0,00             | ± | 0,00 | 0,00                          | ± | 0,00 |

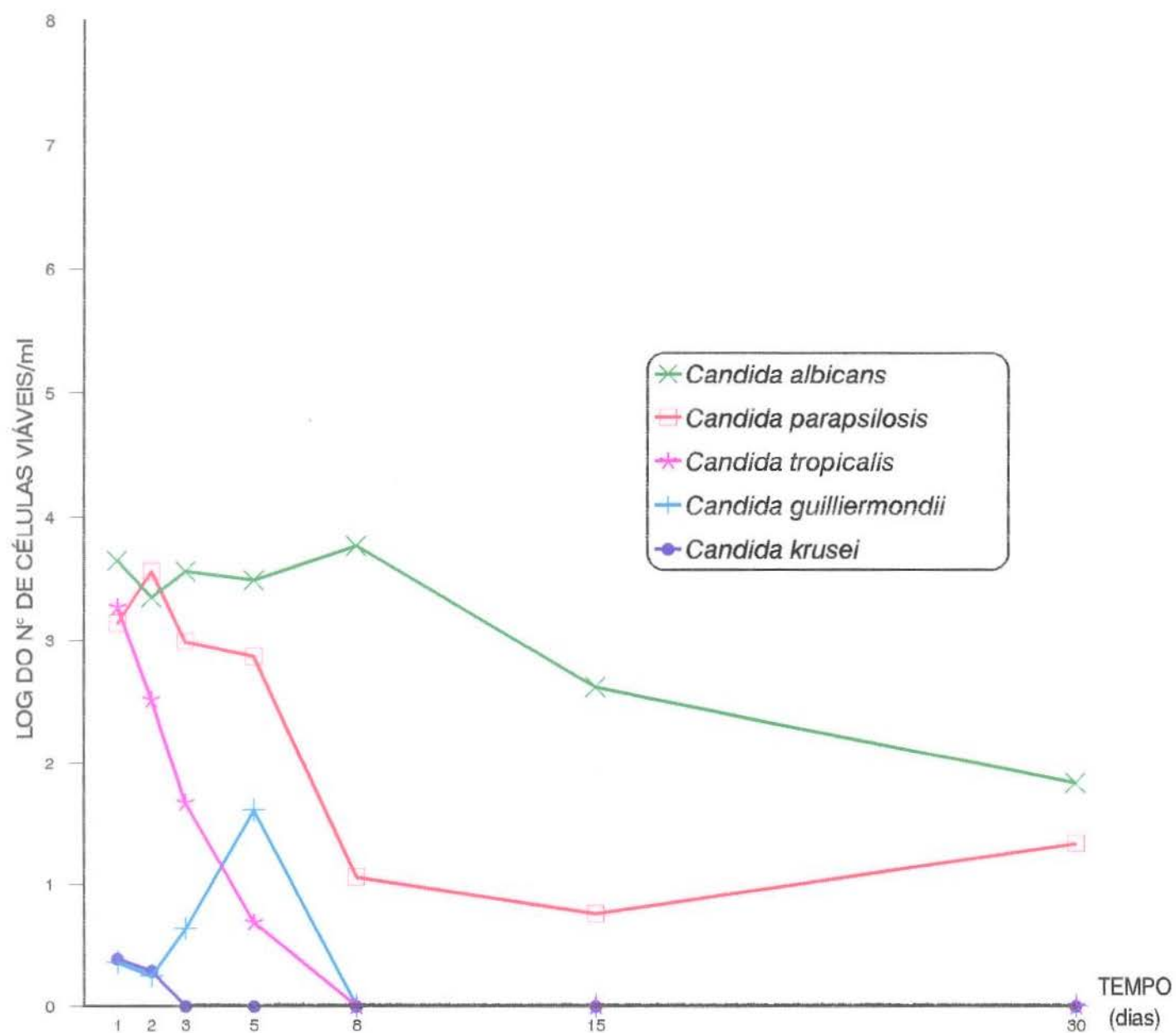


Figura 1 - Recuperação de leveduras do gênero *Candida* da cavidade bucal de ratos normais, após o inóculo de  $10^8$  células.

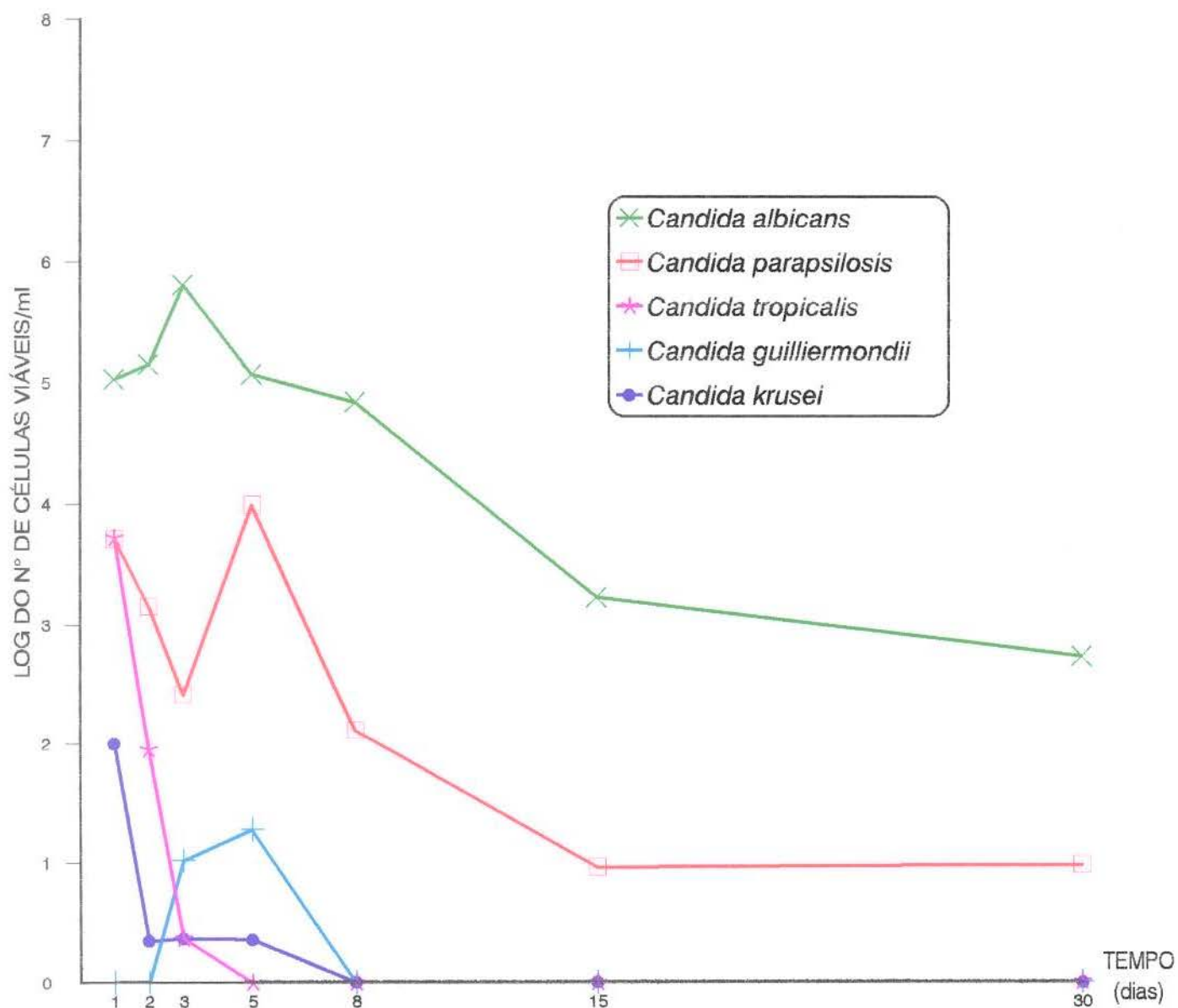


Figura 2 - Recuperação de leveduras do gênero *Candida* da cavidade bucal de ratos sialoadenectomizados, após o inóculo de  $10^8$  células.

## DISCUSSÃO

## DISCUSSÃO

A remoção cirúrgica das glândulas salivares maiores provocou intensa xerostomia nos ratos, com redução aproximada de 80% do volume salivar. A redução de 40 a 50% do volume total de saliva é indicativa de xerostomia em humanos (FOX e cols., 1985; DAWES, 1987; MANDEL, 1980; SREENBY e cols., 1989). A sialoadenectomia foi a técnica selecionada para obtenção da xerostomia nos animais, por ser um método simples e que mantém permanente a redução do fluxo salivar. O uso de agentes químicos proporcionam xerostomia transitória, podendo provocar efeitos colaterais nos animais e influenciar os resultados (WALLENIOUS, 1966; LEKHOLM e WALLENIOUS, 1976).

Após a cirurgia, a boca dos ratos sialoadenectomizados apresentava-se bastante seca demonstrando apenas saliva residual viscosa. Nos animais normais era evidente o acúmulo de saliva, principalmente na região sublingual. A saliva residual presente nos ratos xerostômicos foi provavelmente produzida pelas glândulas salivares menores, que estão localizadas por toda a cavidade bucal. Apesar da pequena contribuição para o volume total de saliva produzido diariamente (8 a 10%), essas glândulas contribuem com mais de 70% da mucina salivar (DAWES e WOOD, 1973; TABAK e cols., 1982; HERRERA e cols., 1988). A mucina fornece barreira efetiva contra microrganismos, dessecação da mucosa bucal (TABAK e cols., 1982) e limita difusão tecidual de várias substâncias (ADAMS, 1974), incluindo carcinógenos (WALLENIOUS, 1966). Entretanto, mesmo em sua presença, a xerostomia

induzida em animais aumenta a permeabilidade da mucosa a medicamentos (DEAN e HIRAMOTO, 1986).

WALLENIOUS (1986) demonstrou quantidade de saliva 9 vezes maior em ratos normais que sialoadenectomizados. Após injeção com pilocarpina, o autor obteve 0,8 a 0,9 ml/min de saliva durante 5 a 15 minutos após injeção da droga. Com a metodologia usada neste trabalho, foi possível quantificar a saliva tanto dos ratos normais como sialoadenectomizados, sem necessidade do uso de pilocarpina ou anestesia. Nos ratos normais, os valores obtidos foram de  $23,19 \pm 2,87$  mg/min e nos sialoadenectomizados,  $4,49 \pm 0,97$  mg/min.

Embora não tenha sido quantificado, observou-se que os animais com xerostomia bebiam água mais frequentemente que os normais, sem entretanto aumentar o consumo, semelhante ao observado por ITO (1990). Isto pode ser explicado como uma tentativa de compensar a diminuição do fluxo salivar associada à necessidade de umedecer a ração administrada em forma sólida. Situação semelhante pode ser observada em pacientes com xerostomia acentuada, que bebem água com mais frequência, principalmente durante a ingestão de alimentos (EPSTEIN e cols., 1992).

Espécies de *Candida* estão amplamente distribuídas na natureza, vivendo como comensais no trato gastrointestinal de aves e mamíferos (KREGER-van RIJ, 1984; ODDS, 1984), podendo também estar presentes na microbiota bucal de ratos. Leveduras foram isoladas da cavidade bucal de 44 (42,3%) dos 104 ratos usados neste trabalho. Após a sialoadenectomia, que foi realizada apenas nos animais que não tinham leveduras na boca, as culturas continuaram negativas. A obtenção de xerostomia permanente levou à maior recuperação de

*C. albicans* nos ratos sialoadenectomizados, o que nos leva a sugerir que a redução do fluxo salivar facilitou a aderência, colonização e permanência desta espécie na cavidade bucal. Estes resultados, porém, não foram observados para as outras espécies estudadas.

As amostras de *Candida* utilizadas neste trabalho foram isoladas de pacientes com candidose bucal. A amostra de *C. albicans* é produtora de proteinase, hialuronidase, condroitin-sulfatase e fosfatase, e apresentou alta letalidade para camundongos quando inoculada por via endovenosa (SHIMIZU, 1990). A amostra de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* produzem proteinase, hialuronidase, condroitin-sulfatase e foram patogênicas para 20 e 46,6% dos camundongos inoculados respectivamente. A amostra de *C. guilliermondii* foi responsável por 13,3% de mortes e produziu proteinase, hialuronidase, condroitin-sulfatase e fosfatase. *C. krusei* inoculada intravenosamente, não demonstrou ser patogênica para camundongos, entretanto elaborou proteinase, hialuronidase e condroitin-sulfase (ALMEIDA, 1991).

A elaboração de enzimas por espécies de *Candida* é considerada fator adjuvante na virulência. Segundo SHIMIZU (1990), amostras de *C. albicans* que produzem 4 enzimas são mais virulentas do que as que deixaram de produzir uma ou mais enzimas. Esse fato parece ser importante, já que as amostras de *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* usadas neste estudo, são produtoras de apenas 3 dessas enzimas, enquanto *C. albicans* produziu 4.

Proteases liberadas por *Candida* podem clivar várias imunoglobulinas, incluindo IgA, sendo esta clivagem facilitada em sítios com redução de fluxo salivar (RUCHEL, 1986). Este fato pode ter

contribuído para a significativa permanência de *C. albicans* em ratos xerostômicos, já que as glândulas salivares menores que foram preservadas na cavidade bucal dos animais, são a principal fonte de IgA na saliva (CRAWFORD e cols., 1975). IgA secretória inibe a adesão de *C. albicans* às células epiteliais da boca (HERRERA e cols., 1988; EPSTEIN e cols., 1982; VUDHICHAMNONG e cols., 1982).

Na recuperação das espécies de *Candida*, com exceção da *C. albicans*, da cavidade bucal dos ratos, ocorreu variação individual entre os animais, observando-se culturas negativas em determinadas coletas e positivas em outras (Tabelas 14 a 18 - Apêndice). ALLEN e cols. (1982) também relataram variações no número de *Candida* recuperado de cada rato, em coletas realizadas semanalmente. Esta flutuação tem sido também observada em humanos. Em 1950, LILIENTHAL observou variações na presença de *C. albicans* na boca de indivíduos normais, caracterizando-a como microrganismo transitório. GERGELY e URI (1966) estudaram a variação diária de fungos na cavidade bucal durante 8 dias e obtiveram no mesmo indivíduo resultados variáveis, porém nunca consistentemente negativos em qualquer dos voluntários analisados. Consideráveis diferenças em contagens diurnas para *C. albicans* na saliva foram demonstradas dentre e entre indivíduos (WILLIAMSON, 1972a). O mesmo autor (1972b) confirmou a existência dessa variabilidade, detectando-a durante períodos prolongados.

Muitos fatores devem contribuir para alterar as condições do meio bucal e nessas circunstâncias, *Candida* pode ou não ser isolada da boca no momento da coleta. Presença de microbiota comensal (PAINE, 1958; CORMANE e GOSLINGS, 1963); tamanho, viabilidade e quantidade de

receptores de membrana nas células epiteliais bucais (SANDIN e cols., 1987) e métodos utilizados para coleta e cultura, parecem interferir na recuperação experimental de leveduras da cavidade bucal. Desde que a metodologia usada neste trabalho para isolamento e cultivo das espécies de *Candida*, foi sempre a mesma, a variabilidade nas recuperações não foi devido à metodologia.

Estudos têm demonstrado que a quantificação de *Candida* da saliva, pode ser usada como indicador de infecção (SAMARANAYAKE e HOLMSTRUP, 1989; TYLENDÁ e cols., 1989). Portadores e pacientes com candidose bucal podem ser distinguidos com limite de 95% de segurança, baseando-se em culturas quantitativas de saliva. Indivíduos com candidose clínica possuem mais que 400 UFC/ml de *Candida* na saliva, sendo considerado portador abaixo deste limite (EPSTEIN e cols., 1980).

Neste estudo, após 4 inoculações de *C. albicans* em dias seguidos, todos os ratos sialoadenectomizados e normais apresentaram culturas positivas para a levedura até 8 e 15 dias, respectivamente. Apenas 1 animal xerostômico foi negativo em 15 dias e 4 animais de ambos os grupos ainda abrigavam *C. albicans* na cavidade bucal 30 dias após o inóculo (Tab.14 - Apêndice). Estudos realizados por JORGE (1991), mostram resultados semelhantes. O autor utilizou 3 inoculações bucais de *C. albicans* e observou culturas positivas para o fungo em todos os ratos normais em dois dias. Após 21 dias, em 83,33% dos animais e em aproximadamente 1 mês, o mesmo percentual encontrado neste trabalho. Nos xerostômicos, *C. albicans* persistiu em todos os animais até 50 dias após a última inoculação; período em que já não era mais recuperada da boca de nenhum animal normal. Até o final do 56

experimento, 66,6% dos sialoadenectomizados tinham *C. albicans* na boca.

JONES e ADAMS (1970) não observaram qualquer diferença na recuperação de *C. albicans* da cavidade bucal dos ratos com fluxo salivar reduzido com hioscina. Porém, os autores não fizeram quantificação do microrganismo, doses únicas e múltiplas de *C. albicans* foram administradas; sua presença foi investigada apenas em 4 e 11 dias após o último inóculo e além disso, a xerostomia não foi permanente. Os resultados deste trabalho foram obtidos através de análise quantitativa, 1 a 30 dias após todos os animais receberem 4 inóculos e a xerostomia era permanente. Por outro lado, MEITNER e cols. (1990) investigaram infecção na boca e esôfago de ratos xerostômicos até 4 semanas após 2 inoculações de *C. albicans* e obtiveram isolamento de leveduras em quantidade 30 vezes maior nos tecidos destes animais ( $37,9 \times 10^4$  UFC), em relação àqueles com fluxo normal de saliva ( $1,1 \times 10^4$  UFC). Nos resultados do presente trabalho, apesar da *C. albicans* ser recuperada sempre em maior quantidade nos ratos sialoadenectomizados, a diferença entre os grupos foi menor. Na metodologia utilizada, MEITNER e cols. (1990) recuperaram a *C. albicans* a partir de tecidos obtidos da mucosa bucal e esôfago dos animais, sendo possivelmente quantificadas as leveduras aderidas e/ou no interior do epitélio, enquanto neste trabalho, os resultados referem-se apenas a microrganismos presentes na saliva.

Nos modelos experimentais, a maioria dos autores usou antibióticos para predisposição dos animais à candidose (RUSSEL e JONES, 1973; ALLEN e cols., 1982; FISKE e cols., 1982a e b; HOLBROOK e cols., 1983; ALLEN e cols., 1985). Outros autores porém, induziram

candidose sem o uso de antibióticos (ADAMS e JONES, 1971; SHAKIR e cols., 1983; ALLEN e cols., 1989). LACASSE e cols. (1990) demonstraram candidose bucal em camundongos, inoculados com *C. albicans*, observando leveduras até 7 dias após a inoculação, sem uso de qualquer fator predisponente. Os resultados do presente trabalho mostram a colonização de *C. albicans* e *C. parapsilosis* na boca de ratos até 30 dias após a inoculação, sem uso de antibióticos, utilizando porém, a xerostomia como fator predisponente.

A segunda espécie mais recuperada da cavidade bucal dos ratos durante o presente trabalho foi a *C. parapsilosis*. Nos ratos normais após 1 e 2 dias da última inoculação, os resultados foram semelhantes para *C. parapsilosis* e *C. albicans*; a seguir a *C. parapsilosis* foi recuperada em quantidade menor, mas esteve presente até o final do experimento. Nos animais xerostômicos, apenas no 5<sup>o</sup> dia após o inóculo, a *C. parapsilosis* foi recuperada em números significativamente mais elevados que nos normais (Tab.5). Em relação à *C. albicans*, a *C. parapsilosis* apresentou número menor de recuperação nos ratos sialoadenectomizados, porém permaneceu até a última coleta. Importante ressaltar que apesar da *C. parapsilosis* colonizar a boca de ratos normais e sialoadenectomizados, já que foi recuperada nos animais em 51 das 72 coletas realizadas (Tab.15 - Apêndice), a xerostomia pouco interferiu na colonização. Os dados deste trabalho sugerem, portanto, que as propriedades da saliva apresentaram poucos efeitos sobre a presença da *C. parapsilosis* na boca de ratos.

A sialoadenectomia parece não ter influenciado a colonização de *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* na cavidade bucal de ratos. Esta condição provavelmente possa refletir o grau de

patogenicidade destas espécies. Na recuperação de *C. tropicalis* e *C. guilliermondii*, os resultados mostram tendência destas espécies em se manterem em maior número na boca de ratos normais. *C. tropicalis* apresentou diferença estatisticamente significativa na recuperação após 3 dias de inoculação (Tab.8). Estes resultados sugerem que componentes específicos presentes na saliva, tenham provavelmente interagido com receptores celulares das leveduras, facilitando a adesão e contribuindo para sua permanência. YOON e cols. (1989) demonstraram ligação de células de *C. albicans* à película adquirida. KIMURA e PEARSALL (1978) relataram aumento de adesão de *C. albicans* às células epiteliais bucais na presença de saliva. Leveduras pré-incubadas na saliva por 3 horas, demonstraram aumento significativo de adesão às células epiteliais embrionárias de rim humano. Assim, a saliva parece interferir facilitando, sob certas condições, a aderência das espécies de *Candida* no epitélio. Por outro lado, a saliva possui vários mecanismos de regulação e controle de microrganismos. Provavelmente, espécies com maior capacidade de colonização no epitélio bucal de ratos (conforme dados deste trabalho, a *C. albicans* e a *C. parapsilosis*), utilizem-se de mecanismos de adesão envolvendo inicialmente a saliva. Porém, quando os mecanismos de defesa presentes na saliva passarem a agir, apesar do epitélio já estar colonizado, apresentando leveduras aderidas às células, ocorra regulação pela saliva. Nas espécies menos adaptadas à colonização no epitélio bucal (*C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*), possivelmente a saliva interfira de maneira favorável nos mecanismos de adesão, mas posteriormente, devido à pequena colonização destas espécies, a saliva não desempenhe papel relevante, já que a xerostomia

não alterou a recuperação das mesmas.

Na recuperação de *C. guilliermondii*, podemos observar que a levedura não foi isolada nas coletas iniciais do grupo xerostômico, mas o foi em 2 períodos subseqüentes (Tab.7). A pequena quantidade de saliva e presença do microrganismo em números baixos, são fatores que devem ter contribuído para que a levedura não fosse detectada nos ratos sialoadenectomizados pela metodologia utilizada.

Os resultados com *C. krusei* demonstram que a levedura persistiu na boca dos animais xerostômicos até o 5º dia de coleta, embora com valores baixos nas contagens, não sendo significante estatisticamente, quando comparados com períodos de coletas negativas no grupo normal. *C. krusei* foi também incapaz de se estabelecer na cavidade bucal dos ratos normais, colonizando-a apenas 2 dias (Tab.8).

A comparação entre as espécies estudadas da boca de ratos sialoadenectomizados, demonstrou recuperação em números maiores em todas as espécies, com exceção da *C. guilliermondii*, no 1º dia de coleta. Após 24 horas da inoculação, mesmo naquelas amostras que a xerostomia não influenciou na colonização subseqüente, o número de leveduras foi maior, possivelmente pela dificuldade de remoção mecânica dos microrganismos pelo fluxo salivar, permanecendo estas espécies como um componente transitório da microbiota. A seguir, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* foram recuperadas apenas até o 5º dia, tanto em ratos normais como sialoadenectomizados. Nos resultados deste trabalho, a *C. albicans* e a *C. parapsilosis* colonizaram e permaneceram por tempo mais prolongado na boca de ratos em relação à *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*.

A xerostomia em humanos pode produzir alterações nos tecidos

da boca, predispondo o indivíduo a infecções por *Candida* (EPSTEIN e cols., 1983; HERRERA e cols., 1988; MCCARTHY, 1992). Na ausência de saliva, mecanismos considerados de primeira linha de defesa ficariam bloqueados, como por exemplo a IgA, lisozima e lactoferrina, que são capazes de inibir o crescimento de *C. albicans* *in vitro* (FONSECA, 1980; VUDHICHAMNONG e cols., 1982; TOBGI e cols., 1988).

Modificações na microbiota bucal ocorrem em indivíduos xerostômicos. Pacientes submetidos à radioterapia demonstram aumento na proporção de *Streptococcus* e *Lactobacillus* (LLORY e cols., 1971). BROW e cols. (1975) estudando os efeitos da xerostomia provocada por radiação na microbiota bucal, observaram níveis elevados nas contagens de *S. mutans*, *Lactobacillus*, *Candida* e *Staphylococcus* e diminuição paralela no número de *S. sanguis*, *Neisseria* e *Fusobacterium*. Em animais, os efeitos da xerostomia sobre a microbiota bucal também foram observados. Ratos sialoadenectomizados são mais susceptíveis à instalação de microrganismos como *S. sobrinus* e *Actinomyces viscosus* (BOWEN e cols., 1988a) e demonstram maior transmissibilidade de amostras cariogênicas de *S. sobrinus*, do que ratos normais (BOWEN e cols., 1988b; MADISON e cols., 1990). MEITNER e cols. (1990) verificaram que a transmissibilidade da infecção por *Candida* ocorreu mais rapidamente entre ratos com fluxo reduzido de saliva. Neste trabalho, foi menor a possibilidade de ocorrer da transmissão de *Candida* entre os ratos, já que eles foram colocados em gaiolas individuais, as caixas plásticas foram desinfetadas e as mamadeiras e bicos autoclavados periodicamente. ADAMS e JONES (1971) relataram candidose bucal em ratos e verificaram que a infecção estava restrita a 2 das 5 gaiolas que abrigavam os animais infectados com *C. albicans*.

A capacidade de aderência de um microrganismo é considerada como o mecanismo inicial de colonização e desenvolvimento de infecção no hospedeiro (KIMURA e PEARSALL, 1978; KING e cols., 1980; MACURA e cols., 1983; ROTROSEN e cols., 1986; SEGAL, 1987; OLSEN, 1990; GHANNOUM e ABU-ELTEEN, 1990). Vários estudos relatam que *C. albicans* possui maior capacidade de adesão às células da mucosa e outras superfícies em relação às demais espécies, sendo tal fato relacionado diretamente com sua patogenicidade (KING e cols., 1980; COLLINS-LECH e cols., 1984; VANDENBUSSCHE e SWINNE, 1984; DOUGLAS, 1987; SAMARANAYAKE e cols., 1988). Os dados obtidos neste trabalho também demonstram essa possibilidade e sugerem ainda, que *C. guilliermondii* e *C. krusei* são espécies que exibem menor habilidade de aderência, o que está de acordo com os trabalhos de KING e cols. (1980), RAY e cols. (1984) e SAMARANAYAKE e cols. (1988). A aderência de leveduras às superfícies epiteliais ocorre provavelmente, através da ligação de antígenos da superfície da parede celular do microrganismo com receptores específicos presentes nas células (SOBEL e cols., 1981; OLSEN, 1990). Em *C. albicans* as manoproteínas localizadas na camada superficial da parede celular são as principais adesinas (DOUGLAS e McCOURTIE, 1983; McCOURTIE e DOUGLAS, 1985; ROTROSEN e cols., 1986). A levedura é capaz de sintetizar uma camada fibrilar de natureza manoproteica em resposta às condições de crescimento no meio de cultura (McCOURTIE e DOUGLAS, 1981). As fibrilas podem representar apêndices semelhantes às fímbrias bacterianas, cujo papel na adesão já é bem conhecido e podem fornecer ao microrganismo proteção contra a fagocitose (McCOURTIE e DOUGLAS, 1984). Nos resultados do presente trabalho, as condições de cultura

foram as mesmas para todas as espécies estudadas, provavelmente não interferindo nas diferenças de recuperação encontradas entre as espécies.

A produção de tubos germinativos é uma característica que permite maior adesão do microrganismo às células epiteliais da mucosa, superfície da pele e próteses (KIMURA e PEARSALL, 1980; TRONCHIN e cols., 1988; RAY e PAYNE, 1988) e parecem necessárias à indução de candidose em ratos (MARTIN e cols., 1984). Nos resultados do presente trabalho, a *C. albicans* foi a espécie mais recuperada, provavelmente por ser a única que produz tubo germinativo. Por outro lado, a habilidade em formar pseudohifas é um fator que pode contribuir para a patogenicidade, não sendo exclusiva de *C. albicans*, mas também de outras espécies do gênero como *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*.

Os resultados obtidos neste trabalho, sugerem que a aderência e colonização de *C. albicans* aos tecidos bucais de ratos é diminuída *in vivo* na presença de saliva, o que está de acordo com OLSEN e HAANAES (1977), MEITNER e cols. (1990) e JORGE e cols. (1993a e b), não interferindo, porém, com as outras espécies. Observações semelhantes também foram relatadas em estudos de aderência *in vitro* (SAMARANAYAKE e cols., 1980; McCOURTIE e DOUGLAS, 1981). Portanto, o rato demonstrou ser bom modelo experimental para o estudo da influência da xerostomia na recuperação de *Candida* na cavidade bucal, como demonstrado nos dados deste trabalho.

## CONCLUSÕES

## CONCLUSÕES

1 *C. albicans* foi recuperada em maior quantidade da boca de ratos sialoadenectomizados em relação aos normais, em todos os períodos experimentais.

2 *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram recuperadas da boca de ratos normais e sialoadenectomizados durante todo o período experimental.

3 *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* permaneceram na boca de ratos normais e sialoadenectomizados pelo período de até 5 dias.

4 *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* foram recuperadas em números semelhantes da boca de ratos normais e sialoadenectomizados.

## RESUMO

## RESUMO

A presença de cinco espécies de *Candida* foi estudada em ratos normais e xerostômicos. Os animais foram inoculados na cavidade bucal, durante 4 dias consecutivos com  $10^8$  células de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*. Após 1, 2, 3, 5, 8, 15 e 30 dias da última inoculação, as leveduras foram recuperadas da saliva e quantificadas. *C. albicans* foi a única espécie recuperada em maior quantidade da boca dos ratos sialoadenectomizados em relação aos normais. *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* permaneceram na boca de ratos normais e sialoadenectomizados pelo período de até 5 dias, enquanto a *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram recuperadas em todos os períodos experimentais. Estes resultados confirmam que a xerostomia facilita a instalação, proliferação e persistência de *C. albicans* na cavidade bucal de ratos, não interferindo, porém, nas outras espécies. Os dados deste estudo sugerem que fatores inerentes às espécies atuam no processo de colonização do fungo na boca de ratos, resultando em diferentes graus de patogenicidade.

## S U M M A R Y

## SUMMARY

The presence of five *Candida* species was studied in the mouth of normal and xerostomic rats. The animals were inoculated into the oral cavity with  $10^8$  cells of *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* or *C. krusei* during 4 consecutive days. The yeasts were recovered from saliva 1, 2, 3, 5, 8, 15 e 30 days after the last inoculation and quantified. *C. albicans* was the only specie recovered in higher quantity from sialoadenectomized rats. *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* and *C. krusei* were recovered from the mouth of normal and sialoadenectomized rats up to 5 days after inoculation and *C. albicans* e *C. parapsilosis* in all periods.

These results confirm that xerostomia facilitate the instalation, proliferation and persistence of *C. albicans* in the rat's oral cavity, but doesn't interfere with the other species. These differences suggest that factors inherent to the *Candida* species are relevant for colonization of the mouth of rats, resulting in different degrees of patogenicity.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS \*

- ADAMS, D. The effect of saliva on the penetration of fluorescent dyes into the oral mucosa of the rat and rabbit. Arch.Oral Biol., 19: 505-9, 1974.
- ADAMS, D.; JONES, J.H. Life history of experimentally induced acute oral candidiasis in the rat. J.Dent.Res., 50: 643-4, 1971.
- AHEARN, G.D. Medically important yeasts. Annu.Rev.Microbiol., 32: 59-68, 1978.
- ALLEN, C.M. Diagnosing and managing oral candidiasis. J.Am.Dent.Assoc., 123: 77-8, 81-2, 1992.
- ALLEN, C.M.; BECK, F.M. Differences in mucosal reaction related to *Candida albicans* isolates. J.Oral Pathol., 16: 89-93, 1987.
- ALLEN, C.M.; BECK, F.M.; LURIE, F.A.; PINSKY, H.M.. Role of tetracycline in pathogenesis of chronic candidiasis of rat tongue. Infect.Immun., 47: 480-3, 1985.
- ALLEN, C.M.; BLOZIS, G.G.; ROSEN, S.; BRIGHT, J.S. Chronic candidiasis of the rat tongue: a possible model for human median rhomboid glossitis. J.Dent.Res., 61: 1287-91, 1982.

---

(\*) - Baseado em NB-66 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1978.

Abreviaturas de periódicos de acordo com Index to Dental Literature e Index Medicus.

- ALLEN, C.M.; PAULSON, R.; DUNCAN, R. Clinical, histologic and scanning electron microscopic study of the development of chronic candidiasis of the rat tongue. J.Oral Pathol.Med., 18: 352-9, 1989.
- ALMEIDA, N.Q. Influência da produção de hialuronidase, proteinase, condroitin-sulfatase e fosfolipase por algumas espécies de Candida sobre a patogenicidade para camundongos. São José dos Campos, Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos/UNESP, 1991, 111p. (Tese de Livre-Docência).
- ANTLEY, P.P.; HAZEN, K.C. Role of yeast cell growth temperature on *Candida albicans* virulence in mice. Infect.Immun., 56: 2884-90, 1988.
- ARENDORF, T.M.; ADDY, M. Candidal carriage and plaque distribution before, during and after removable orthodontic appliance therapy. J.Clin.Periodontol., 12: 360-8, 1985.
- ARENDORF, T.M.; WALKER, D.M. Oral candidal populations in health and disease. Br.Dent.J., 147: 267-72, 1979.
- ARENDORF, T.M.; WALKER, D.M. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. Arch.Oral Biol., 25: 1-10, 1980.
- ARENDORF, T.M.; WALKER, D.M. Tobacco smoking and denture wearing as local aetiological factors in median rhomboid glossites. Int.J.Oral Surg., 13: 411-5, 1984.
- ARENDORF, T.M.; WALKER, D.M.; KINGDOM, R.J.; ROLL, J.R.S.; NEWCOMBE, R.G. Tobacco smoking and denture wearing in oral candidal leucoplakia. Br.Dent.J., 155: 340-3, 1983.

- BADENHORST, L.; BOTTA, P.L.; JANSE VAN RENSBURG, M.N. The incidence of hospital fungal infections - Yeast fungaemia. S.Afr.Med.J., 79: 302-3, 1991.
- BAGG, J.; SILVERWOOD, R.W. Coagglutination reactions between *Candida albicans* and oral bacteria. J.Med.Microbiol., 22: 185-9, 1986.
- BANNO, Y.; YAMADA, T.; NOZAWA, Y. Secreted phospholipases of dimorphic fungus, *Candida albicans*; separation of three enzymes and some biological properties. Sabouraudia, 23: 47-54, 1985.
- BARRETT-BEE, K.; HAYES, Y.; WILSON, R.G.; RYLEY, J.F. A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeast. J.Gen.Microbiol., 131: 1217-21, 1985.
- BASSIONY, A.; ALI EL-REFAI, H.; ABDEL NABI, E.A.; FATTEN, A.M.; HENDAWY, D.S. *Candida* infection in the tongue and pharynx. J.Laryngol.Otol., 98: 609-11, 1984.
- BORG, M.; RUCHEL, R. Demonstration of fungal proteinase during phagocytosis of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. J.Med.Vet.Mycol., 28: 3-14, 1990.
- BORG, M.; RUCHEL, R. Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic *Candida* spp. during experimental infection of oral mucosa. Infect.Immun., 56: 626-31, 1988.
- BOWEN, W.H.; MADISON, K.M.; PEARSON, S.K. Influence of desalivation in rats on incidence of caries in intact cagemates. J.Dent.Res., 67: 1316-18, 1988a.
- BOWEN, W.H.; PEARSON, S.K.; YOUNG, D.A. The effect of desalivation on coronal and root surface caries in rats. J.Dent.Res., 67: 21-3, 1988b.

- BROWN, L.R.; DREIZEN, S.; HANDLER, S.; JOHNSTON, D.A. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. J.Dent.Res., 54: 740-50, 1975.
- BUDTZ-JØRGENSEN, E. A significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. Scand.J.Dent.Res., 82: 151-90, 1974.
- BUDTZ-JØRGENSEN, E. Denture stomatitis IV. An experimental model in monkeys. Acta Odontol.Scand., 29: 513-26, 1971b.
- BUDTZ-JØRGENSEN, E. Denture stomatitis. V. *Candida* agglutinins in human sera. Acta Odontol.Scand., 30: 313-25, 1972.
- BUDTZ-JØRGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. Acta Odontol.Scand., 48: 61-9, 1990a.
- BUDTZ-JØRGENSEN, E. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. Diagnosis of oral candidosis. Acta Odontol.Scand., 48: 37-43, 1990b.
- BUDTZ-JØRGENSEN, E. Proteolytic activity of *Candida spp.* as related to the pathogenesis of denture stomatitis. Sabouraudia, 12: 266-71, 1971a.
- BURFORD-MASON, A.P.; WEBER, J.C.P.; WILLOUGHBY, J.M.T. Oral carriage of *Candida albicans*, ABO blood group and secretor status in healthy subjects. J.Med.Vet.Mycol., 26: 49-56, 1988.
- CARCASSI, A.; SALETTI, M.; BOSCHI, S. Artrite acuta da *Candida*: isolamento di *Candida* in un eroinomane. Minerva Med., 73: 2905-9, 1982.
- CASSONI, A.; DE BERNARDIS, F.; MODELLO, F.; CEDDIA, T.; AGATENSI, L. Evidence for a correlation between proteinase secretion and vulvovaginal candidosis. J.Infect.Dis., 156: 777-83, 1987.

- CENTENO, A.; DAVIS, C.P.; COHEN, M.S.; WARREN, M.M. Modulation of *Candida albicans* attachment to human epithelial cells by bacteria and carbohydrates. Infect.Immun., 39: 1354-60, 1983.
- CHATTAWAY, F.W.; ODDS, F.C.; BARLOW, A.J.E. An examination of the production of hydrolytic enzymes and toxins by pathogenic strains of *Candida albicans*. J.Gen.Microbiol., 67: 255-63, 1971.
- CHEYNE, V.D. A description of the salivary glands of the rat and a procedure for their extirpation. J.Dent.Res., 18: 457-68, 1939.
- COLLINS-LECH, C.; KALBFLEISCH, J.H.; FRANSON, T.R.; SOHNLE, P.G. Inhibition by sugars of *Candida albicans* adherence to human buccal mucosal cells and corneocytes in vitro. Infect.Immun., 46: 831-4, 1984.
- CORMANE, R.H.; GOSLINGS, W.R.O. Factors influencing the growth of *Candida albicans* (in vivo and in vitro studies). Sabouraudia, 3: 52-63, 1963.
- CRAWFORD, J.M.; TAUBMAN, M.A.; SMITH, D.J. Minor salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the oral cavity. Science, 190: 1206-9, 1975.
- CUTLER, J.E.; FRIEDMAN, L.; MILNER, K.C. Biological e chemical characterization of toxic substances from *Candida albicans*. Infect.Immun., 6: 616-27, 1972.
- DAHLÉN, G.; LINDE, A.; MÖLLER, A.J.R.; ÖHMAN, A. A retrospective study of microbiologic samples from oral mucosal lesions. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 53: 250-5, 1982.
- DAMASCENO, C.A.V.; CISALPINO, E.O.; CARVALHO, M.A.R.; RAMOS, J.M.F. Distribuição quantitativa de *Candida* na cavidade oral humana. Arq.Cent.Est.Cur.Odont., 11: 245-60, 1974.

- DARWAZEH, A.M.G.; LAMEY, P.J.; LEWIS, M.A.O.; SAMARANAYAKE, L.P.  
Systemic fluconazole therapy and in vitro adhesion of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. J.Oral Pathol.Med., 20: 17-9, 1991.
- DAVENPORT, J.C. The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. Br.Dent.J., 129: 151-6, 1970.
- DAWES, C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and sensation of dry mouth in man. J.Dent.Res., 66: 648-53, 1987.
- DAWES, C.; WOOD, C.M. The contribution of oral minor mucous gland secretions to the volume of whole saliva in man. Arch.Oral Biol., 18: 337-42, 1973.
- DEAN, D.H.; HIRAMOTO, R.N. Oral mucosal permeability of desalivated rats. J.Oral Med., 41: 170-1, 1986.
- DOREY, J.L.; BLASBERG, B.; MacENTEE, M.I.; CONKLIN, R.J.  
Oral mucosal disorders in denture wearers. J.Prosthet.Dent., 53: 210-3, 1985.
- DOUGLAS, L.J. Adhesion of *Candida* species to epithelial surfaces. Crit.Rev.Microbiol., 15: 27-43, 1987.
- DOUGLAS, L.J. Adhesion of pathogenic *Candida* species to host surfaces. Microbiol.Sci., 2: 243-7, 1985a.
- DOUGLAS, L.J. Surface composition and adhesion of *Candida albicans*. Biochem.Soc.Trans., 13: 982-4, 1985b.
- DOUGLAS, L.J.; McCOURTIE, J. Effect of tunicamycin treatment on the adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. FEMS Microbiol.Lett., 16: 199-202, 1983.

- EDGARD, W.M. Saliva and dental health. Br.Dent.J., 11: 96-8, 1990.
- EDGARD, W.M. Saliva: its secretion, composition and functions. Br.Dent.J., 172: 305-12, 1992.
- EDGARD, W.M.; BOWEN, W.H.; COLE, M.F. Development of rampant dental caries, and composition of plaque fluid and saliva in irradiated primates. J.Oral Pathol., 10: 284-95, 1981.
- EPSTEIN, J.B.; SCULLY, C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. J.Can.Dent.Assoc., 58: 217-21, 1992.
- EPSTEIN, J.B.; DECOTEAU, W.E.; WILKINSON, A. Effect of sialor in treatment of xerostomia in Sjögren's syndrome. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 56: 495-9, 1983.
- EPSTEIN, J.B.; KIMURA, L.H.; MENARDI, T.W.; TRUELOVE, E.L.; PEARSALL, N.N. Effects of specific antibodies on the interaction between the fungus *Candida albicans* and human oral mucosa. Arch.Oral Biol., 27: 469-74, 1982.
- EPSTEIN, J.B.; PEARSALL, N.N.; TRUELOVE, E.L. Quantitative relationship between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. J.Clin.Microbiol., 12: 475-6, 1980.
- EPSTEIN, J.B.; STEVENSON-MOORE, P.; SCULLY, C. Management of xerostomia. J.Can.Dent.Assoc., 58: 140-3, 1992.
- FISHER, B.M.; LAMEY, P-J.; SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W.; FRIER, B.M. Carriage of *Candida* species in the oral cavity in diabetic patients: relationship to glycaemic control. J.Oral Pathol., 16: 282-4, 1987.

- FISKER, A.V.; RINDOM-SCHIOTT, C.; PHILIPSEN, H.P. Long-term oral candidosis in rats. Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand., 90: 221-7, 1982a.
- FISKER, A.V.; RINDOM-SCHIOTT, C.; PHILIPSEN, H.P. Short-term oral candidosis in rats, with special reference to the site of infection. Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand., 90: 49-57, 1982b.
- FLETCHER, J.; MATHER, J.; LEWIS, M.J.; WHITING, G. Mouth lesions in iron deficient anaemia: Relationship to *Candida albicans* in saliva and to impairment of lymphocyte transformation. J.Infect.Dis., 131: 44-50, 1975.
- FONSECA, J.B. Candidíases. Aspectos de interesse odontológico. In: \_\_\_\_ LACAZ, C.S. Candidíases. São Paulo, Ed.Pedagógica Universitária e Ed.Universidade de São Paulo, 1980, p.130-46.
- FOX, C.P.; VAN DER VEN, P.F.; SONIES, B.C. Xerostomia: evaluation of a symptom with increasing significance. J.Am.Dent.Assoc., 110: 519-25, 1985.
- FRANKER, C.K.; LUCATORTO, F.M.; JOHNSON, B.S.; JACOBSON, J.J. Characterization of the mycoflora from oral mucosal surfaces of some HIV-infected patients. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 69: 683-7, 1990.
- FROMLING, R.A.; ABRUZZO, G.K.; GILTINAN, D.M. *Candida tropicalis* infection in normal, diabetic, and neutropenic mice. J.Clin.Microbiol., 25: 1416-20, 1987.
- GELFAND, M.S. *Candida tropicalis*. Infect.Control.Hosp.Epidemiol., 10: 280-3, 1989.
- GERGELY, L.; URI, J. Day-by-day variation in the mycotic flora of the mouth. Arch.Oral Biol., 2: 15-9, 1966.

- GERGELY, L.; URI, J. The mycotic flora of the healthy mouth. Arch.Oral Biol., 3: 125-8, 1961.
- GHANNOUM, M.A. Mechanisms potentiating *Candida* infections. A review. Mycoses, 31: 543-7, 1988.
- GHANNOUM, M.A.; ABU-ELTEEN, K.H. Correlative relationship between proteinase production, adherence and pathogenicity of various strains of *Candida albicans*. J.Med.Vet.Mycol., 24: 407-13, 1986.
- GHANNOUM, M.A.; ABU-ELTEEN, K.H. Pathogenicity determinants of *Candida*. Mycoses, 33: 265-82, 1990.
- GHANNOUM, M.A.; ABU-ELTEEN, K.H.; MOTOWY, M.S. Effect of antineoplastic agents and X-irradiation on the adherence of *Candida* spp. to human buccal epithelial cells in vitro. Mycopathologia, 104: 171-80, 1988.
- GHANNOUM, M.A.; ABU-ELTEEN, K.H.; STRETTON, R.J.; WHITTAKER, P.A. Effects of octenidine and pirltenidine on adhesion of *Candida* species to human buccal epithelial cells in vitro. Arch.Oral Biol., 35: 249-53, 1990.
- GIBBONS, R.J.; van HOUTE, J. Bacterial adherence in oral microbial ecology. Annu.Rev.Microbiol., 29: 19-44, 1975.
- GIBBONS, R.J.; van HOUTE, J. Seletive bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinants. Infect.Immun., 3: 567-73, 1971.
- GILDA, J.E.; KEYES, P.H. Increased dental caries activity in the Syrian hamster following desalivation. Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 66: 28-32, 1947.

- GLASS, B.J.; VAN DIS, M.L.; LANGLAIS, R.P.; MILES, D.A. Xerostomia: diagnosis and treatment planning considerations. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., 58: 248-52, 1984.
- GOLDSTEIN, E.; GRIECO, M.H.; FINKEL, G.; LOURIA, D.B. Studies on the pathogenesis of experimental *Candida parapsilosis* and *Candida guilliermondii* infections in mice. J. Infect. Dis., 115: 293-302, 1965.
- GORDON, R.A.; SIMMONS, B.P.; APPELBAUM, P.C.; ABER, R.C. Intra-abdominal abscess and fungemia caused by *Candida krusei*. Arch. Intern. Med., 140: 1239-40, 1980.
- GRAHAM, D.P.; FROST, H.M. *Candida guilliermondii* infection of the knee complicating rheumatoid arthritis: a case report. Arthritis Rheum., 16: 272, 1973.
- HARVEY, R.L.; MYERS, J.P. Nosocomial fungemia in a large community teaching hospital. Arch. Intern. Med., 147: 2117-20, 1987.
- HASENCLEVER, H.F. Comparative pathogenicity of *Candida albicans* for mice and rabbits. J. Bacteriol., 78: 105-9, 1959.
- HASENCLEVER, H.F.; MITCHELL, W.O. Pathogenicity of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. Sabouraudia, 1: 16-21, 1961.
- HEIMDAHL, A.; NORD, C.E. Oral yeast infection in immunocompromised and seriously diseased patients. Acta Odontol. Scand., 48: 77-84, 1990.
- HELSTROM, P.B.; BALISH, E. Effect of oral tetracycline, the microbial flora, and the athymic state on gastrointestinal colonization and infection of BALB/c mice with *Candida albicans*. Infect. Immun., 23: 764-74, 1979.

- HENRICI, A.T. Characteristics of fungous diseases. J.Bacteriol., 39: 113-38, 1940.
- HERNANDEZ, Y.L.; DANIELS, T.E. Oral candidiasis in Sjögren's syndrome: prevalence, clinical correlations, and treatment. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 68: 324-9, 1989.
- HERRERA, J.L.; LYONS, M.F.; JOHNSON, L.F. Saliva: its role in health and disease. J.Clin.Gastroenterol., 10: 569-78, 1988.
- HOLBROOK, W.P.; SOFAER, J.A.; SOUTHAM, J.C. Experimental oral infection of mice with a pathogenic and a non-pathogenic strain of the yeast *Candida albicans*. Arch.Oral Biol., 28: 1089-91, 1983.
- HOLMSTRUP, P.; AXÉLL, T. Classification and clinical manifestations of oral yeast infections. Acta Odontol.Scand., 48: 57-9, 1990.
- HOPFER, R.L.; FAINSTEIN, V.; LUNA, M.P.; BODEY, G.P. Disseminated candidiasis caused by four different *Candida* species. Arch.Pathol.Lab.Med., 105: 454-5, 1981.
- HOWLETT, J.A. The infection of rat tongue mucosa in vitro with five species of *Candida*. J.Med.Microbiol., 9: 309-16, 1976.
- HSIA, C.C.; SUN, T-T; WANG, Y-Y; ANDERSON, L.M.; ARMSTRONG, D.; GOOD, R.A. Enhancement of formation of the esophageal carcinogen benzylnitrosamine from its precursors by *Candida albicans*. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 78: 1878-81, 1981.
- HUPPERT, M.; MacPHERSON, D.A.; CAZIN, J. Pathogenesis of *Candida albicans* infection following antibiotic therapy. I. The effect of antibiotics on the growth of *Candida albicans*. J.Bacteriol., 65: 171-6, 1953.
- HURLEY, R. The pathogenic *Candida* species: A review. Rev.Med.Vet.Mycol., 6: 159-76, 1967.

- HURLEY, R.; MORRIS, E.D. The pathogenicity of *Candida* species in the human vagina. J.Obstet.Gynaec.Br.Commonw., 71: 892-5, 1964.
- HURLEY, R.; WINNER, H.I. The pathogenicity of *Candida tropicalis*. J.Pathol.Bacteriol., 84: 33-8, 1962.
- IACOPINO, A.M.; WATHEN, W.F. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. J.Am.Dent.Assoc., 123: 46-51, 1992.
- ITO, V.S. Efeitos da xerostomia nas estruturas bucais do rato. Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, 1990. 68p. (Dissertação de Mestrado).
- IWATA, K. Fungal toxins and their role in the etiopathology of fungal infection. In: —. Recent advances in medical and veterinary micology. Tokyo, Ed.K.Iwata, 1975. p.15-33.
- JANSMA, J.; VISSINK, A.; 's-GRAVENMADE, E.J.; DE JOSSELIN DE JONG, E.; JONGEBLOED, W.L.; RETIEF, D.H. A model to investigate xerostomia-related dental caries. Caries Res., 22: 357-61, 1988.
- JENKINS, W.M.M.; MacFARLANE, T.W.; FERGUSON, M.M.; MASON, D.K. Nutritional deficiency in oral candidosis. Int.J.Oral Surg., 6: 204-10, 1977.
- JEPSEN, A.; WINTHER, J.E. Mycotic infection in oral leucoplakia. Acta Odontol.Scand., 23: 239-56, 1965.
- JONES, J.H.; ADAMS, D. Experimentally induced acute oral candidosis in the rat. Br.J.Dermatol., 83: 670-3, 1970.
- JONES, J.H.; RUSSELL, C. Experimental oral candidiasis in weanling rats. J.Dent.Res., 52: 182, 1973.

- JORGE, A.O.C. Efeitos da sialoadenectomia na presença de *Candida albicans* e candidose na cavidade bucal de ratos. Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, 1991. 235p. (Tese de Doutorado).
- JORGE, A.O.C. Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de *Candida albicans* na cavidade bucal. Taubaté, Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté, 1986. 45p. (Dissertação de Mestrado).
- JORGE, A.O.C.; ALMEIDA, N.Q.; UNTERKIRCHER, C.S.; SHIMIZU, M.T. Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de *Candida albicans* na cavidade bucal. Rev.Assoc.Paul.Cir.Dent., 41: 308-10, 1987.
- JORGE, A.O.C.; TOTTI, M.A.G.; ALMEIDA, O.P.; SCULLY, C. Effect of sialoadenectomy on the carriage of *Candida albicans* in the mouths of rats. J.Oral Pathol.Med., 22: 138-40, 1993a.
- JORGE, A.O.C.; TOTTI, M.A.G.; ALMEIDA, O.P.; SCULLY, C. Oral candidiasis established in the sialoadenectomised rat. J.Oral Pathol.Med., 22: 54-6, 1993b.
- KAMINISHI, H.; HAGIHARA, Y.; TANAKA, M.; CHO, T. Degradation of bovine achilles tendon collagen by *Candida albicans* proteinase. J.Med.Vet.Mycol., 26: 315-8, 1988.
- KEARNS, M.J.; DAVIES, P.; SMITH, H. Variability of the adherence of *Candida albicans* strains to human buccal epithelial cells: inconsistency of differences between strains related to virulence. Sabouraudia, 21: 93-8, 1983.
- KELLOG, S.G.; DAVIS, C.; BENIRSCHKE, K. *Candida parapsilosis*: Previously unknow cause of letal infection. A report of two cases. J.Reprod.Med., 12: 159-62, 1974.

- KENNEDY, M.J.; SANDIN, R.L. Influence of growth conditions on *Candida albicans* adhesion, hydrophobicity and cell wall ultrastructure. J. Med. Vet. Mycol., 26: 79-92, 1988.
- KENNEDY, M.J.; VOLZ, P.A. Dissemination of yeast after gastrointestinal inoculation in antibiotic-treated mice. Sabouraudia, 21: 27-33, 1983.
- KENNEDY, M.J.; ROGERS, A.L.; HANSELMEN, L.R.; SOLL, D.R.; YANCEY, Jr., R.J. Variation in adhesion and cell surface hydrophobicity in *Candida albicans* white and opaque phenotypes. Mycopathologia, 102: 149-56, 1988.
- KIEHN, T.E.; EDWARDS, F.F.; ARMSTRONG, D. The prevalence of yeast in clinical specimens from cancer patients. Am. J. Clin. Pathol., 73: 518-21, 1980.
- KIMURA, L.H.; PEARSALL, N.N. Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. Infect. Immun., 21: 64-8, 1978.
- KIMURA, L.H.; PEARSALL, N.N. Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. Infect. Immun., 28: 464-8, 1980.
- KING, R.D.; LEE, J.C.; MORRIS, A.L. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. Infect. Immun., 27: 667-74, 1980.
- KLAPPER, C.E.; VOLKER, J.F. The influence of impaired salivary function on dental caries in the Syrian hamster. J. Dent. Res., 32: 219-23, 1953.
- KLEIN, J.J.; WATANAKUNAKORN, C. Hospital-acquired fungemia. Am. J. Med., 67: 51-8, 1979.

- KLOTZ, S.A.; DRUTZ, D.J.; ZAJIC, J.E. Factors governing adherence of *Candida* species to plastic surfaces. Infect.Immun., 50: 97-101, 1985.
- KNIGHT, L.; FLETCHER, J. Growth of *Candida albicans* in saliva: stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids, and diabetes mellitus. J.Infect.Dis., 123: 371-7, 1971.
- KNIGHTON, H.T. A study of Monilia and other yeastlike organisms found in the oral cavity. J.Dent.Res., 18: 103-25, 1939.
- KOLNICK, J.R. Candidosis oral. Report of a case implicating *Candida parapsilosis* as a pathogen. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 50: 411-5, 1980.
- KOMSHIAN, S.V.; UWAYDAH, A.K.; SOBEL, J.D.; CRANE, L.R. Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. Rev.Infect.Dis., 11: 379-90, 1989.
- KONTOU-KASTELLANOU, C.; LEONARDOPOULOS, J.; BONIATSI, L.; KASTELLANOS, S.; TOUTOUZAS, P. A case of *Candida parapsilosis* endocarditis. Mycoses, 33: 427-9, 1990.
- KREGER-van RIJ, N.J.W. The yeasts: A taxonomic study., 3.ed., Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1984. p.585-844.
- KROGH, P. The role of yeast in oral cancer by means of endogenous nitrosation. Acta Odontol.Scand., 48: 85-8, 1990.
- KROGH, P.; HOLMSTRUP, P.; THORN, J.J.; VEDTOFTE, P.; PINDBORG, J.J. Yeast species and biotypes associated with oral leucoplakia and lichen planus. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 63: 48-54, 1987.

- LACASSE, M.; FORTIER, C.; TRUDEL, L.; COLLET, A.J.; DESLAURIERS, N. Experimental oral candidosis in the mouse: microbiologic and histologic aspects. J.Oral Pathol.Med., 19: 136-41, 1990.
- LAMEY, P.J.; DARWAZEH, A.M.G.; MUIRHEAD, J.; RENNIE, J.S.; SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W. Chronic hyperplastic candidosis and secretor status. J.Oral Pathol.Med., 20: 64-7, 1991.
- LEHRER, N.; SEGAL, E.; LIS, H.; GOV, Y. Effect of *Candida albicans* cell wall components on the adhesion of the fungus to human and murine vaginal mucosa. Mycopathologia, 102: 115-21, 1988.
- LEKHOLM, V.; WALLENIOUS, K. Experimental oral cancer in rats with xerostomia. Odontol.Revy., 27: 11-8, 1976.
- LILIENTHAL, B. Studies of the flora of the mouth. III. yeast-like organisms: some observations on their incidence in the mouth. Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci., 28: 279-86, 1950.
- LILJEMARK, W.F.; GIBBONS, R.J. Supression of *Candida albicans* by human oral streptococci in gnotobiotic mice. Infect.Immun., 8: 846-9, 1973.
- LLORY, H.; DAMMRON, A.; FRANK, R.M. Les modifications de la flore buccale aerobie apres radiotherapie bucco-pharynge. Arch.Oral Biol., 16: 617-30, 1971.
- LODDER, J. The yeast: A taxonomic study Amsterdam, North-Holland Publishing Company, 1971. p.914-920, 968-970, 982-985, 1022-1024, 1059-63.
- LOURIA, D.B.; STIFF, D.P.; BENNETT, B. Disseminated moniliasis in the adult. Medicine, 41: 307-37, 1962.
- LOURIA, D.B.; BUSE, M.; BRAYTON, R.G.; FINKEL, G. The pathogenesis of *Candida tropicalis* infections in mice. Sabouraudia, 4: 14-25, 1966.

- LOURIA, D.B.; BLEVINS, A.; ARMSTRONG, D.; BURDICK, R.; LIEBERMAN, P.  
Fungemia caused by "nonpathogenic" yeast. Arch.Intern.Med., 119:  
247-52, 1967.
- LUNDSTRÖM, I.M.C.; ANNEROTH, G.B.; HOLMBERG, K. *Candida* in patients  
with oral lichen planus. Int.J.Oral Surg., 13: 226-38, 1984.
- MACDONALD, F. Secretion of inducible proteinase by pathogenic *Candida*  
species. Sabouraudia: J.Med.Vet.Mycol., 22: 79-82, 1984.
- MACURA, A.B. Hydrophobicity of *Candida albicans* related to their  
adherence to mucosal epithelial cells.  
Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg., 266: 491-6, 1987.
- MACURA, A.B.; PAWLICK, B.; WITA, B. *Candida* adherence to mucosal  
epithelial cells with regard to its pathogenicity.  
Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg., 254: 561-5, 1983.
- MADISON, K.M.; BOWEN, W.H.; PEARSON, S.K.; FALANY, J.L. Caries  
incidence in intact rat infected with *Streptococcus sobrinus* via  
transmission from desalivated cagemates. J.Dent.Res., 69:  
1154-9, 1990.
- MAIBACH, H.I.; KLIGMAN, A.M. The biology of experimental human  
cutaneous moniliasis (*Candida albicans*). Arch.Dermatol., 85:  
233-57, 1962.
- MANDEL, I.D. Relation of saliva and plaque to caries.  
J.Dent.Res.Suppl., 53: 246-66, 1974.
- MANDEL, I.D. Sialochemistry in diseases and clinical situations  
affecting salivary glands. Crit.Rev.Clin.Lab.Sci., 12: 321-66,  
1980.
- MANDEL, I.D. The diagnostic uses of saliva. J.Oral Pathol.Med., 19:  
119-25, 1990.

- MANDEL, I.D. The functions of saliva. J.Dent.Res., 66: 623-7, 1987.
- MANDEL, I.D. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. J.Am.Dent.Assoc., 119: 298-304, 1989.
- MANKOWSKI, Z.T. The experimental pathogenicity of various species of *Candida* in Swiss mice. Trans.N.Y.Acad.Sci., 19: 548-70, 1957.
- MARDT, P.A.; WESTROM, L. Adherence of bacteria to vaginal epithelial cells. Infect.Immun., 13: 661-6, 1976.
- MARINA, N.M.; FLYNN, P.M.; RIVERA, G.K.; HUGHES, W.T. *Candida tropicalis* and *Candida albicans* fungemia in children with leukemia. Cancer, 68: 594-9, 1991.
- MARTIN, M.V. Germ-tube formation by oral strains of *Candida tropicalis*. J.Med.Microbiol., 12: 187-93, 1979.
- MARTIN, M.V.; CRAIG, G.T.; LAMB, D.J. An investigation of the role of true hypha production in the pathogenesis of experimental oral candidosis. Sabouraudia, 22: 471-6, 1984.
- MCCARTHY, G.M. Host factors associated with HIV-related oral candidiasis. A review. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 73: 181-6, 1992.
- MCCOURTIE, J.; DOUGLAS, L.J. Extracellular polymer of *Candida albicans*: isolation, analysis and role in adhesion. J.Gen.Microbiol., 131: 495-503, 1985.
- MCCOURTIE, J.; DOUGLAS, L.J. Relationship between cell surface composition, adherence, and virulence of *Candida albicans*. Infect.Immun., 45: 6-12, 1984.

- McCOURTIE, J.; DOUGLAS, L.J. Relationship between cell surface composition of *Candida albicans* and adherence to acrylic after growth on different carbon sources. Infect.Immun., 32: 1234-41, 1981.
- McCOURTIE, J.; MacFARLANE, T.W.; SAMARANAYAKE, L.P. Effect of saliva and serum on the adherence of *Candida* species to chlorhexidine-treated denture acrylic. J.Med.Microbiol., 21: 209-13, 1986.
- McLLROY, M.A. Failure of fluconazole to suppress fungemia in a patient with fever, neutropenia and typhlitis. J.Infect.Dis., 163: 420-1, 1991.
- McMANNERS, J.; SAMARANAYAKE, L.P. Suppurative oral candidosis. Int.J.Oral Maxillofac.Surg., 19: 257-9, 1990.
- MEITNER, S.W.; BOWEN, W.H.; HAIDARIS, C.G. Oral and esophageal *Candida albicans* infection in hyposalivatory rats. Infect.Immun., 58: 2228-36, 1990.
- MESTRES, J.B.; RUIZ, M.E.; ESTRANY, C. Infecciones graves por *Candida parapsilosis* en el lactante. An.Esp.Pediatr., 32: 70-2, 1990.
- MINAGI, S.; MIYAKE, Y.; INAGAKI, K.; TSURU, H.; SUGINAKA, H. Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. Infect.Immun., 47: 11-4, 1985.
- MONIACI, D.; GRECO, D.; FLECCHIA, G.; RAITERI, R.; SINICCO, A. Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. J.Oral Pathol.Med., 19: 477-81, 1990.
- MONTES, L.F.; KRUMDIECK, C.; CORNWELL, P.E. Hypovitaminosis A in patients with mucocutaneous candidiasis. J.Infect.Dis., 128: 227-30, 1973.

- MOURAD, S.; FRIEDMAN, L. Pathogenicity of *Candida*. J.Bacteriol., 81: 550-1, 1961.
- MUHLER, J.C.; SHAFER, W.G. Experimental dental caries. II. Effect of desalivation on dental caries and castration and desalivation on fluorine storage in the rat. J.Dent.Res., 33: 346-56, 1954.
- MYEROWITZ, R.L.; PAZIN, G.J.; ALLEN, C.M. Disseminated candidiasis: Changes in incidence, underlying diseases, and pathology. Am.J.Clin.Pathol., 68: 29-38, 1977.
- NATER, J.P.; GROENMAN, N.H.; WAKKERS-GARRITSEN, B.G.; TIMMER, L.H. Etiologic factors in denture sore mouth syndrome. J.Prosthet.Dent., 40: 367-73, 1978.
- NAVARRO, C.M. Efeitos da sialoadenectomia na carcinogênese bucal de ratos provocada pelo óxido de nitroquinolina (4NQO). Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, 1992. 111p. (Dissertação de Mestrado).
- NEELY, A.N.; HOLDER, I.A. Effect of proteolytic activity on virulence of *Candida albicans* in burned mice. Infect.Immun., 58: 1527-31, 1990.
- NGUYEN, V.A.; PENN, R.L. *Candida krusei* arthritis. A rare complication of neutropenia. Am.J.Med., 83: 963-5, 1987.
- NIKAWA, H.; HAMADA, T. Binding of salivary or serum proteins to *Candida albicans* in vitro. Arch.Oral Biol., 35: 571-3, 1990.
- ODDS, F.C. *Candida* infections: an overview. Crit.Rev.Microbiol., 15: 1-5, 1987.
- ODDS, F.C. Ecology and epidemiology of *Candida* species. Zentralbl.Bakteriol.Hyg., 257: 207-12, 1984.

- ODDS, F.C.; KIBBLER, C.C.; WALKER, E.; BHAMRA, A.; PRENTICE, H.G.; NOONE, P. Carriage of *Candida* species and *Candida albicans* biotypes in patients undergoing chemotherapy or bone marrow transplantation for haematological disease. J.Clin.Pathol., 42: 1259-66, 1989.
- OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeast infections. Acta Odontol.Scand., 48: 71-4, 1990.
- OLSEN, I. Denture stomatitis. Occurrence and distribution of fungi. Acta Odontol.Scand., 32: 229-33, 1974.
- OLSEN, I. Oral adhesion of yeast. Acta Odontol.Scand., 48: 45-53, 1990.
- OLSEN, I.; HAANAES, H.R. Experimental palatal candidosis and saliva flow in monkeys. Scand.J.Dent.Res., 85: 135-41, 1977.
- OLSEN, I.; STENDERUP, A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. Acta Odontol.Scand., 48: 11-8, 1990.
- PAINE, T.F. The inhibitory actions of bacteria on *Candida* growth. Antibiot.Chemother., 8: 273-81, 1958.
- PAINTER, B.G.; ISENBERG, H.D. Isolation of *Candida parapsilosis*. Am.J.Clin.Pathol., 59: 62-5, 1973.
- PARTRIDGE, B.M.; ATHAR, M.A.; WINNER, H.I. Chick embryo inoculation as a pathogenicity test for *Candida* species. J.Clin.Pathol., 24: 645-8, 1971.
- PAULA, C.R.; SAMPAIO, M.C.C.; BIRMAN, E.G.; SIQUEIRA, A.M. Oral yeasts in patients with cancer of the mouth, before and during radiotherapy. Mycopathologia, 112: 119-24, 1990.

- PERITO, S.; VECCHIARELLI, L.; D'ERRICO, P.; SERAFINI, S.; SBARAGLIA, G. Patogenicità di differenti specie di *Candida* in un sistema sperimentale murino. Boll.Soc.Ital.Biol.Sper., LX (7): 1415-9, 1984.
- PLOUFFE, J.F.; BROWN, D.G.; SILVA JR, J.; ECK, T.; STRICOF, R.L.; FEKETTY JR, F.R. Nosocomia outbreak of *Candida parapsilosis* fungemia related to intravenous infusions. Arch.Intern.Med., 137: 1686-9, 1977.
- POLLOCK, J.J.; DENEPIITIYA, L.; MacKAY, B.; IACONO, V.J. Fungistatic and fungicidal activity of human parotid salivary histidine-rich polypeptides on *Candida albicans*. Infect.Immun., 44: 702-7, 1984.
- POLLOCK, J.J.; LOTARDO, S.; GAVAI, R.; GROSSBARD, B.L. Lysozyme - protease - inorganic monovalent anion lysis of oral bacterial strains in buffers and stimulated whole saliva. J.Dent.Res., 66: 467-74, 1987.
- PRICE, M.F.; CAWSON, R.A. Phospholipase activity in *Candida albicans*. Sabouraudia, 15: 179-85, 1977.
- PRICE, M.F.; WILKINSON, I.D.; GENTRY, L.O. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. Sabouraudia, 20: 7-14, 1982.
- PUGH, D.; CAWSON, R.A. The cytochemical localization of phospholipase A and lysophospholipase in *Candida albicans*. Sabouraudia, 13: 110-5, 1975.
- RAY, T.L.; PAYNE, C.D. Scanning electron microscopy of epidermal adherence and cavitation in murine candidiasis: a role for *Candida* acid proteinase. Infect.Immun., 56: 1942-9, 1988.

- RAY, T.L.; DIGRE, K.B.; PAYNE, C.D. Adherence of *Candida* species to human epidermal cornecytes and buccal mucosal cells: correlation with cutaneous pathogenicity. J.Invest.Dermatol., 83: 37-41, 1984.
- REED, M.F.; SCRAGG, M.A.; WILLIAMS, D.M.; SOAMES, J.V. *In vivo* effects of *Candida albicans* products on rat oral epithelium. J.Oral Pathol.Med., 19: 326-9, 1990.
- REINHOLDT, J.; KROGH, P.; HOLMSTRUP, P. Degradation of IgA1, IgA2, and S-IgA by *Candida* and *Torulopsis* species. Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand., 95: 265-74, 1987.
- RICHART, R.; DAMMIN, G.J. *Candida tropicalis* as a pathogen for man. New J.Med., 263: 474-7, 1960.
- ROGERS, T.J.; BALISH, E. Immunity to *Candida albicans*. Microbiol.Rev., 44: 660-82, 1980.
- ROTROSEN, D.; CALDERONE, R.A.; EDWARDS JR, J.E. Adherence of *Candida* species to host tissues and plastic surfaces. Rev.Infect.Dis., 8: 73-85, 1986.
- RUBINSTEIN, E.; NORIEGA, E.R.; SIMBERKOFF, M.S.; HOLZMAN, R.; RAHAL JR, J.J. Fungal endocarditis: analysis of 24 cases and review of the literature. Medicine, 54: 331-44, 1974.
- ROCHEL, R. A variety of *Candida* proteinases and their possible targets of proteolytic attack in the host. Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol. Hyg., 257: 266-74, 1984.
- ROCHEL, R. Cleavage of immunoglobulins by pathogenic yeast of the genus *Candida*. Microbiol.Sci., 3: 316-9, 1986.
- ROCHEL, R.; UHLEMANN, K.; BÖNING, B. Secretion of acid proteinases by different species of the genus *Candida*. Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg., 255: 537-48, 1983.

- ROCHEL, R.; TEGELER, R.; TROST, M. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. Sabouraudia, 20: 233-44, 1982.
- RUSSEL, C.; JONES, J.H. Effects of oral inoculation of *Candida albicans* in tetracycline-treated rats. J.Med.Microbiol., 6: 275-9, 1973.
- RUSSEL, C.; LAY, K.M. Natural history of *Candida* species and yeasts in the oral cavities of infants. Arch.Oral Biol., 18: 957-62, 1973.
- RUSSEL, C.; JONES, J.H.; GIBBS, A.C.C. The carriage of *Candida albicans* in the mouths of rats treated with tetracycline briefly or for a prolonged period. Mycopathologia, 58: 125-9, 1976.
- SALTARELLI, C.G.; GENTILE, K.A.; MANCUSO, S.C. Lethality of *Candida* strains as influenced by the host. Can.J.Microbiol., 21: 648-54, 1975.
- SALVIN, S.B. Endotoxin in pathogenic fungi. J.Immunol., 69: 89-99, 1952.
- SAMARANAYAKE, L.P. Nutritional factors and oral candidosis. J.Oral Pathol., 15: 61-5, 1986.
- SAMARANAYAKE, L.P. Oral mycoses in HIV infection. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 73: 171-80, 1992.
- SAMARANAYAKE, L.P.; HOLMSTRUP, P. Oral candidiasis and immunodeficiency virus infection. J.Oral Pathol.Med., 18: 554-64, 1989.
- SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W. Factors affecting the *in vitro* adherence of the fungal oral pathogen *Candida albicans* to the epithelial cells of human origin. Arch.Oral Biol., 27: 669-73, 1982a.

- SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W. An *in vitro* study of the adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. Arch.Oral Biol., 25: 603-9, 1980.
- SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W. Oral candidosis. London, Wright, 1990. 265p.
- SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W. The adhesion of the yeast *Candida albicans* to epithelial cells of human origin *in vitro*. Arch.Oral Biol., 26: 815-20, 1981.
- SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W. The effect of dietary carbohydrates on the *in vitro* adhesion of *Candida albicans* to epithelial cells. J.Med.Microbiol., 15: 511-7, 1982b.
- SAMARANAYAKE, L.P.; SCULLY, C. Oral candidosis in HIV infection. Lancet, 2: 1491-2, 1989.
- SAMARANAYAKE, L.P.; HUGHES, A.; MacFARLANE, T.W. The proteolytic potential of *Candida albicans* in human saliva supplemented with glucose. J.Med.Microbiol., 17: 13-22, 1984a.
- SAMARANAYAKE, L.P.; McCOURTIE, J.; MacFARLANE, T.W. Factors affecting the *in vitro* adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. Arch.Oral Biol., 25: 611-5, 1980.
- SAMARANAYAKE, L.P.; McLAUGHLIN, L.; MacFARLANE, T.W. Adherence of *Candida* species to fibrin clots *in vitro*. Mycopathologia, 102: 135-8, 1988.
- SAMARANAYAKE, L.P.; RAESIDE, J.M.; MacFARLANE, T.W. Factors affecting the phospholipase activity of *Candida* species *in vitro*. Sabouraudia, 22: 201-7, 1984b.

- SANDIN, R.L.; MEIER, C.S.; CROWDER, M.L.; GREENE, J.N. Concurrent isolation of *Candida krusei* and *Candida tropicalis* from multiple blood cultures in a patient with acute leucemia. Arch.Pathol.Lab.Med., 117: 521-3, 1993.
- SANDIN, R.L.; ROGERS, A.L.; FERNANDEZ, M.I.; BENEKE, E.S. Variation in affinity to *Candida albicans* *in vitro* among human buccal epithelial cells. J.Med.Microbiol., 24: 151-5, 1987.
- SANDVEN, P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. Acta Odontol.Scand., 48: 27-36, 1990.
- SCHWARTZ, A.; SHAW, J.H. Studies on the effect of seletive desalivation on the dental caries incidence of albino rats. J.Dent.Res., 34: 239-47, 1955.
- SCULLY, C. Xerostomia. Lancet, 1: 884, 1989.
- SEELING, M.S. Mechanisms by which antibiotics increase the incidence and severity of candidiasis and alter the immunological defenses. Bact.Rev., 30: 442-59, 1966.
- SEGAL, E. Pathogenesis of human mycoses: role of adhesion to host surfaces. Microbiol.Sci., 4: 344-7, 1987.
- SEGAL, E.; LEHRER, N.; OFEK, I. Adherence of *Candida albicans* to human vaginal epithelial cells: inhibition by amino suggars. Exp.Cell.Biol., 50: 13-7, 1982.
- SEGAL, E.; ROMANO, A.; EYLAN, E.; STEIN, R. Experimental and clinical studies of 5-fluorocytosine activity in *Candida* ocular infections. I. *In vitro* activity of 5-fluorocytosine on *Candida* species isolated from ocular infections. Chemotherapy, 21: 358-66, 1975.

- SHAIKH, B.S.; APPELBAUM, P.C.; JONES, J.M.; CHRISTIANSEN, D. Colonization of nasal ulcers as a source of *Candida parapsilosis* fungemia. Arch.Otolaryngol., 106: 434-6, 1980.
- SHAKIR, B.S.; MARTIN, M.V.; SMITH, C.J. Effect on experimental palatal candidosis in the wistar rat of removal and re-insertion of acrylic appliances. Arch.Oral Biol., 31: 617-21, 1986a.
- SHAKIR, B.S.; MARTIN, M.V.; SMITH, C.J. Relative effectiveness of various yeasts, *Candida spp.* and *Torulopsis glabrata* for inducing palatal infection in the Wistar rat. Arch.Oral Biol., 28: 1069-71, 1983.
- SHAKIR, B.S.; SMITH, C.J.; MARTIN, M.V. Epithelial mitotic activity during the induction of palatal candidosis in the wistar rat. J.Oral Pathol., 15: 375-80, 1986b.
- SHARP, A.M.; ODDS, F.C.; EVANS, E.G.V. *Candida* strains from neonates in a special care baby unit. Arch.Dis.Child., 67: 48-52, 1992.
- SHAW, J.H.; WEISBERGER, D. Carious lesions in cotton rat molars. II. Effect of removal of principal salivary glands. Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 70: 103-5, 1949.
- SHAW, J.H.; WOLLMAN, D.H. The influence of sialoadenectomy in rats on food and water consumption. J.Dent.Res., 37: 805-10, 1958.
- SHEPHERD, M.G. Pathogenicity of morphological and auxotrophic mutants of *Candida albicans* in experimental infections. Infect.Immun., 50: 541-4, 1985.
- SHEPHERD, M.G. The pathogenesis and host defence mechanisms of oral candidosis. N.Z.Dent.J., 82: 78-81, 1986.

- SHEPHERD, M.G.; POULTER, R.T.M.; SULLIVAN, P.A. *Candida albicans*: biology, genetics and pathogenicity. Annu.Rev.Microbiol., 39: 579-614, 1985.
- SHIMIZU, M.T. Enzimas histolíticas produzidas por leveduras do gênero *Candida*. Rev.Microbiol., 19: 442-5, 1988.
- SHIMIZU, M.T. Produção de hialuronidase, condroitin-sulfatase, proteinase e fosfolipase por amostras de *Candida albicans* e sua correlação com virulência para camundongos inoculados experimentalmente. São José dos Campos, Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos/UNESP, 1990. 105p (Tese de Livre-Docência).
- SLUTSKY, B.; STAEBELL, M.; ANDERSON, J.; RISEN, L.; PFALLER, M.; SOLL, D.R. White-opaque transition: a second high frequency switching in *Candida albicans*. J.Bacteriol., 169: 189-97, 1987.
- SOBEL, J.D.; MULLER, G.; BUCKLEY, H.R. Critical role of germ tube formation in the pathogenesis of candidal vaginitis. Infect.Immun., 44: 575-8, 1984.
- SOBEL, J.D.; MYERS, P.G.; KAYE, D.; LEVISON, M.E. Adherence of *Candida albicans* to human vaginal and buccal epithelial cells. J.Infect.Dis., 143: 76-82, 1981.
- SPIECHOWICZ, E.; SANTARPIA III, R.P.; POLLOCK, J.J.; RENNER, R.P. In vitro study on the inhibiting effect of different agents on the growth of *Candida albicans* on acrylic resin surfaces. Quintessence Int., 21: 35-40, 1990.
- SREENBY, L.M.; VALDINI, A.; YU, A. Xerostomia. Part II: relationship to non-oral symptoms, drugs and diseases. Oral Surg., 68: 419-27, 1989.

- STAFFORD, G.D.; ARENDORF, T.M.; HUGGETT, R. The effect of overnight drying and water immersion on candidal colonization and properties of complete dentures. J.Dent., 14: 52-6, 1986.
- STENDERUP, A. Oral mycology. Acta Odontol.Scand., 48: 3-10, 1990.
- TABAK, A.L.; LEVINE, M.J.; MANDEL, I.D.; ELLISON, S.A. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. J.Oral Pathol., 11: 1-17, 1982.
- TAPPER-JONES, L.; ALDRED, M.; WALKER, D.M. Prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans* in Sjögren's syndrome. J.Clin.Pathol., 33: 282-7, 1980.
- TIERNO, P.M.; MILSTOC, M. Germ tube-positive *Candida tropicalis*. Am.J.Clin.Pathol., 68: 294-5, 1977.
- TOBGI, R.S.; SAMARANAYAKE, L.P. MacFARLANE, T.W. *In vitro* susceptibility of *Candida* species to lysozyme. Oral Microbiol.Immunol., 3: 35-9, 1988.
- TOUYZ, L.; ZG.; PETERS, E. Candidal infection of the tongue with nonspecific inflammation of the palate. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 63: 304-8, 1987.
- TRONCHIN, G.; BOUCHARA, J.P.; ROBERT, R.; SENET, J.M. Adherence of *Candida albicans* germ tubes to plastic: ultrastructural and molecular studies of fibrillar adhesins. Infect.Immun., 56: 1987-93, 1988.
- TWETMAN, S.; LINDQUIST, L. Effect of salivary lysozyme on glucose incorporation and acid production of *Streptococcus mutans*. Caries Res., 19: 414-21, 1985.

- TWETMAN, S.; LINDQUIST, L.; SUND, M.L. Effect of human lysozyme on 2-deoxyglucose uptake by *Streptococcus mutans* and other oral microorganisms. Caries Res., 20: 223-9, 1986.
- TYLEND, C.A.; LARSEN, J.; YEH, C-K; LANE, H.C.; FOX, P.C. High levels of oral yeasts in early HIV-1 infection. J.Oral Pathol.Med., 18: 520-4, 1989.
- van der WAAL, I.; BEEMSTER, G.; van der KWAST, A.M. Median rhomboid glossitis caused by *Candida*?. Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol., 47: 31-5, 1979.
- VANDENBUSSCHE, M.; SWINNE, D. Yeasts oral carriage in denture wearers. Mykosen, 27: 431-5, 1984.
- VASILAS, A.; MOLINA, L.; HOFFMAN, M.; HAIDARIS, C.G. The influence of morphological variation on *Candida albicans* adhesion to denture acrylic in vitro. Arch.Oral Biol., 37: 613-22, 1992.
- VIDOTTO, V.; PICERNO, G.; CARAMELLO, S.; PANIATE, G. Importance of some factors on the dimorphism of *Candida albicans*. Mycopathologia, 104: 129-35, 1988.
- VIEIRA, S. Introdução à Bioestatística, 2ed., Rio de Janeiro, Ed. Campus Ltda., 1983. 294p.
- VUDHICHAMNONG, K.; WALKER, D.M.; RYLEY, H.C. The effect of secretory immunoglobulin A on the in vitro adherence of the yeast *Candida albicans* to human oral epithelial cells. Arch.Oral Biol., 27: 617-21, 1982.
- WALKER, D.M.; DOLBY, A.E.; JOYNSON, D.H.M.; JACOBS, A. *Candida* and the immune defects in iron deficiency. J.Dent.Res.(Suppl. 5): 52: 938-9, 1973.

- WALLACE, M.; PETRUSNECK, F. The dental implications of xerostomia. A review of the literature. J. Ala. Dent. Assoc., 69: 44-7, 1985.
- WALLENIUS, K. Experimental oral cancer in the rat, with special reference to the influence of saliva. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. (Suppl. 180): 5-91, 1966.
- WALSH, T.J.; MERZ, W.G. Pathologic features in the human alimentary tract associated with invasiveness of *Candida tropicalis*. Am. J. Clin. Pathol., 85: 498-502, 1986.
- WATANAKUNAKORN, C.; CARLETON, J.; GOLDBERG, L.M.; HAMBERGER, M. *Candida* endocarditis surrounding a Starr-Edwards prosthetic valve; recovery of *Candida* in hypertonic medium during treatment. Arch. Intern. Med., 121: 243-54, 1968.
- WATSON, C.J.; KROONE, H.B. The survival of *Candida albicans* experimentally inoculated into the mouths of healthy human subjects. J. Dent., 9: 248-53, 1981.
- WEEMS JR., J.J.; CHAMBERLAND, M.E.; WARD, J.; WILLY, M.; PADHYE, A.A.; SOLOMON, S.L. *Candida parapsilosis* fungemia associated with parenteral nutrition and contaminated blood pressure transducers. J. Clin. Microbiol., 25: 1029-32, 1987.
- WEISBERGER, D.; NELSON, C.T.; BOYLE, P.E. The development of caries in the teeth of albino rats following extirpation of the salivary glands. Am. J. Orthod., 26: 88, 1940.
- WILKIESON, C.; SAMARANAYAKE, L.P.; MacFARLANE, T.W.; LAMEY, P.J.; MacKENZIE, D. Oral candidosis in the elderly in long term hospital care. J. Oral Pathol. Med., 20: 13-6, 1991.
- WILLIAMSON, J.J. A study of extent of variation in daily counts of *Candida albicans* in saliva. Aust. Dent. J., 17: 106-9, 1972b.

- WILLIAMSON, J.J. Diurnal variation of *Candida albicans* counts in saliva. Aust.Dent.J., 17: 54-60, 1972a.
- WINGARD, J.R.; MERZ, W.G.; SARAL, R. *Candida tropicalis*: A major pathogen in immunocompromised patients. Ann.Intern.Med., 91: 539-43, 1979.
- WINGARD, J.R.; DICK, J.D.; MERZ, W.G.; SANDFORD, G.R.; SARAL, R.; BURNS, W.H. Difference in virulence of clinical isolates of *Candida tropicalis* and *Candida albicans* in mice. Infect.Immun., 37: 833-6, 1982.
- WINGARD, J.R.; DICK, J.D.; MERZ, W.G.; SANDFORD, G.R.; SARAL, R.; BURNS, W.H. Pathogenicity of *Candida tropicalis* and *Candida albicans* after gastrointestinal inoculation in mice. Infect.Immun., 29: 808-13, 1980.
- WINNER, H.I. An experimental approach to the study of infections by yeast-like organisms. Proc.R.Soc.Med., 51: 496-9, 1958.
- WRAY, D.; FELIX, D.H.; CUMMING, C.G. Alteration of humoral responses to *Candida* in HIV infection. Br.Dent.J., 168: 326-9, 1990.
- YOON, K.J.; EDGERTON, M.; LEVINE, M.J. Binding of *Candida albicans* to human saliva and acquired pellicles. J.Dent.Res.(Special Issue), 68: 355, 1989.
- YOUNG, G.; RESCA, H.G.; SULLIVAN, M.T. The yeast of the normal mouth and their relation to salivary acidity. J.Dent.Res., 30: 426-30, 1951.

## A P P E N D I C E

## APENDICE

TABELA 9 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de ratos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), inoculados com *C. albicans*.

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |       |       |       | N O R M A I S |       |        |       |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|---------------|-------|--------|-------|
|                  | 1         | 2     | 3     | 4     | 5             | 6     | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 192,3     | 119,0 | 63,3  | 97,5  | 54,7          | 107,1 | 105,65 | 49,28 |
| 2                | 137,9     | 125,8 | 62,4  | 81,3  | 57,3          | 134,5 | 99,87  | 37,09 |
| 3                | 110,9     | 128,7 | 94,7  | 151,1 | 79,3          | 131,7 | 116,07 | 26,33 |
| 5                | 142,3     | 106,0 | 70,1  | 113,0 | 97,7          | 91,9  | 103,50 | 24,02 |
| 8                | 120,1     | 120,1 | 92,9  | 101,7 | 61,7          | 87,4  | 97,32  | 22,11 |
| 15               | 169,3     | 156,8 | 119,3 | 154,6 | 48,5          | 128,4 | 129,48 | 43,88 |
| 30               | 124,7     | 108,3 | 117,9 | 160,6 | 102,2         | 192,2 | 134,32 | 34,96 |

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |      | S I A L O A D E N E C T O M I Z A D O S |      |      |      |        |       |
|------------------|-----------|------|-----------------------------------------|------|------|------|--------|-------|
|                  | 1         | 2    | 3                                       | 4    | 5    | 6    | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 24,9      | 18,7 | 23,0                                    | 15,8 | 30,5 | 24,9 | 22,97  | 5,17  |
| 2                | 29,0      | 24,5 | 30,7                                    | 38,4 | 51,1 | 30,7 | 34,07  | 9,47  |
| 3                | 39,6      | 29,4 | 35,0                                    | 44,6 | 49,9 | 40,6 | 39,85  | 7,17  |
| 5                | 38,6      | 28,1 | 33,2                                    | 37,0 | 45,3 | 42,1 | 37,38  | 6,17  |
| 8                | 26,5      | 18,9 | 22,4                                    | 34,2 | 26,7 | 29,0 | 26,28  | 5,29  |
| 15               | 26,1      | 25,0 | 25,3                                    | 21,5 | 22,8 | 34,7 | 25,90  | 4,64  |
| 30               | 18,2      | 18,9 | 14,9                                    | 18,6 | 20,2 | 38,8 | 21,60  | 8,61  |

TABELA 10 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de ratos normais (n=8) e sialoadenectomizados (n=6), inoculados com *C. parapsilosis*.

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |       |       |       | N O R M A I S |       |        |       |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|---------------|-------|--------|-------|
|                  | 1         | 2     | 3     | 4     | 5             | 6     | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 40,0      | 53,4  | 52,8  | 126,0 | 41,4          | 76,0  | 64,93  | 32,58 |
| 2                | 66,5      | 97,6  | 69,4  | 160,3 | 97,5          | 94,7  | 97,67  | 33,77 |
| 3                | 82,2      | 94,3  | 88,1  | 99,0  | 101,3         | 124,4 | 98,22  | 14,63 |
| 5                | 147,2     | 76,8  | 89,5  | 117,4 | 106,3         | 133,1 | 111,72 | 26,42 |
| 8                | 102,8     | 114,2 | 77,8  | 102,9 | 68,1          | 91,4  | 92,87  | 17,30 |
| 15               | 93,7      | 128,0 | 137,0 | 66,9  | 108,8         | 107,5 | 106,98 | 25,02 |
| 30               | 108,7     | 81,1  | 42,0  | 63,3  | 137,1         | 115,1 | 91,22  | 35,46 |

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |      | S I A L O A D E N E C T O M I Z A D O S |      |      |      |        |       |
|------------------|-----------|------|-----------------------------------------|------|------|------|--------|-------|
|                  | 1         | 2    | 3                                       | 4    | 5    | 6    | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 19,5      | 23,2 | 6,4                                     | 14,2 | 11,3 | 17,0 | 15,27  | 5,99  |
| 2                | 25,6      | 47,8 | 11,0                                    | 36,8 | 17,3 | 26,0 | 27,42  | 13,27 |
| 3                | 19,4      | 21,5 | 9,8                                     | 19,4 | 12,4 | 15,0 | 16,25  | 4,59  |
| 5                | 16,0      | 26,6 | 10,9                                    | 20,0 | 14,8 | 17,1 | 17,57  | 5,33  |
| 8                | 14,1      | 23,2 | 17,6                                    | 22,5 | 12,0 | 15,8 | 17,53  | 4,52  |
| 15               | 16,3      | 16,8 | 13,1                                    | 12,9 | 18,6 | 19,8 | 16,25  | 2,81  |
| 30               | 18,3      | 20,3 | 9,9                                     | 8,9  | 14,3 | 11,6 | 13,88  | 4,62  |

TABELA 11 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de ratos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), inoculados com *C. tropicalis*.

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |       |       |       | N O R M A I S |       |        |       |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|---------------|-------|--------|-------|
|                  | 1         | 2     | 3     | 4     | 5             | 6     | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 200,3     | 43,6  | 41,7  | 117,6 | 110,3         | 53,9  | 94,57  | 61,65 |
| 2                | 190,4     | 73,0  | 122,2 | 214,4 | 51,4          | 123,4 | 129,13 | 63,72 |
| 3                | 313,4     | 132,6 | 113,3 | 192,6 | 251,1         | 133,0 | 189,33 | 79,24 |
| 5                | 176,8     | 139,8 | 131,0 | 263,9 | 176,5         | 216,2 | 184,03 | 49,58 |
| 8                | 271,7     | 170,8 | 217,0 | 171,8 | 218,3         | 172,1 | 203,62 | 40,28 |
| 15               | 192,0     | 139,3 | 91,2  | 187,9 | 114,2         | 155,3 | 146,65 | 40,04 |
| 30               | 182,3     | 121,4 | 89,3  | 114,6 | 82,4          | 142,6 | 122,10 | 36,75 |

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |      | S I A L O A D E N E C T O M I Z A D O S |      |      |      |        |       |
|------------------|-----------|------|-----------------------------------------|------|------|------|--------|-------|
|                  | 1         | 2    | 3                                       | 4    | 5    | 6    | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 21,8      | 19,5 | 24,5                                    | 13,5 | 28,5 | 16,3 | 20,68  | 5,46  |
| 2                | 20,2      | 17,2 | 21,8                                    | 15,3 | 16,5 | 16,3 | 17,88  | 2,54  |
| 3                | 29,5      | 32,3 | 35,7                                    | 27,2 | 51,0 | 32,8 | 34,75  | 8,48  |
| 5                | 25,5      | 14,0 | 21,1                                    | 18,9 | 19,2 | 16,1 | 19,13  | 4,00  |
| 8                | 30,4      | 17,9 | 33,6                                    | 15,8 | 24,3 | 22,6 | 24,10  | 6,92  |
| 15               | 13,7      | 16,0 | 29,0                                    | 10,7 | 13,9 | 16,1 | 16,57  | 6,40  |
| 30               | 23,5      | 19,4 | 31,3                                    | 13,2 | 19,1 | 17,3 | 20,63  | 6,20  |

TABELA 12 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de ratos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), inoculados com *C. guilliermondii*.

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |       |       |       | N O R M A I S |       |        |       |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|---------------|-------|--------|-------|
|                  | 1         | 2     | 3     | 4     | 5             | 6     | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 63,6      | 80,0  | 87,1  | 152,7 | 86,6          | 65,1  | 89,18  | 32,75 |
| 2                | 154,0     | 162,8 | 118,9 | 226,5 | 126,0         | 87,3  | 145,92 | 47,76 |
| 3                | 75,3      | 122,2 | 72,6  | 159,7 | 70,9          | 115,2 | 102,65 | 35,93 |
| 5                | 156,0     | 144,8 | 102,0 | 169,3 | 95,9          | 82,5  | 125,08 | 36,05 |
| 8                | 126,3     | 120,1 | 104,3 | 110,9 | 84,5          | 131,4 | 112,92 | 17,08 |
| 15               | 112,1     | 94,6  | 89,1  | 110,5 | 95,4          | 86,2  | 97,98  | 10,88 |
| 30               | 98,7      | 112,7 | 78,8  | 102,6 | 89,2          | 114,8 | 99,47  | 13,81 |

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |      | S I A L O A D E N E C T O M I Z A D O S |      |      |      |        |       |
|------------------|-----------|------|-----------------------------------------|------|------|------|--------|-------|
|                  | 1         | 2    | 3                                       | 4    | 5    | 6    | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 16,5      | 16,5 | 19,9                                    | 20,7 | 10,4 | 11,4 | 15,90  | 4,25  |
| 2                | 18,3      | 15,7 | 11,2                                    | 21,2 | 20,0 | 13,5 | 16,65  | 3,88  |
| 3                | 14,5      | 12,7 | 15,5                                    | 15,2 | 17,4 | 10,6 | 14,32  | 2,37  |
| 5                | 14,5      | 14,7 | 15,8                                    | 19,4 | 24,4 | 18,7 | 17,92  | 3,78  |
| 8                | 10,6      | 11,3 | 18,0                                    | 24,2 | 15,5 | 11,6 | 15,20  | 5,26  |
| 15               | 11,2      | 13,4 | 14,9                                    | 18,2 | 12,4 | 12,8 | 13,82  | 2,47  |
| 30               | 13,1      | 15,8 | 16,4                                    | 15,8 | 17,4 | 14,6 | 15,52  | 1,49  |

TABELA 13 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de ratos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), inoculados com *C. krusel*.

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |       |       |       | N O R M A I S |       |        |       |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|---------------|-------|--------|-------|
|                  | 1         | 2     | 3     | 4     | 5             | 6     | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 87,1      | 84,0  | 82,5  | 59,0  | 100,6         | 80,6  | 82,30  | 13,47 |
| 2                | 85,8      | 112,8 | 77,2  | 74,3  | 112,9         | 91,2  | 92,37  | 16,97 |
| 3                | 134,1     | 121,4 | 108,0 | 152,0 | 121,4         | 149,8 | 131,12 | 17,42 |
| 5                | 177,0     | 101,9 | 56,8  | 120,0 | 82,8          | 127,0 | 110,92 | 41,25 |
| 8                | 134,4     | 159,4 | 84,8  | 95,1  | 170,9         | 126,6 | 128,53 | 34,11 |
| 15               | 124,2     | 97,9  | 125,0 | 88,3  | 107,3         | 119,5 | 110,37 | 15,10 |
| 30               | 141,3     | 94,1  | 98,4  | 131,3 | 112,6         | 89,2  | 111,15 | 21,22 |

| COLETA<br>(DIAS) | RATOS SIALOADENECTOMIZADOS |      |      |      |      |      |        |       |
|------------------|----------------------------|------|------|------|------|------|--------|-------|
|                  | 1                          | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | MÉDIAS | D.P.  |
| 1                | 13,3                       | 12,2 | 12,0 | 13,1 | 16,5 | 18,6 | 14,28  | 2,66  |
| 2                | 41,4                       | 41,5 | 26,2 | 40,7 | 37,5 | 55,5 | 40,47  | 9,38  |
| 3                | 43,0                       | 38,7 | 36,1 | 42,8 | 44,8 | 58,7 | 44,02  | 7,87  |
| 5                | 33,8                       | 34,1 | 22,0 | 17,4 | 25,0 | 49,2 | 30,25  | 11,38 |
| 8                | 18,0                       | 19,4 | 17,9 | 46,2 | 18,9 | 19,3 | 23,28  | 11,24 |
| 15               | 16,4                       | 12,9 | 14,3 | 13,7 | 16,5 | 19,6 | 15,57  | 2,45  |
| 30               | 19,1                       | 28,4 | 18,2 | 15,4 | 24,2 | 32,4 | 22,95  | 6,56  |

TABELA 14 - Resultados individuais da quantidade de UFC/ml, expressos em logaritmos, obtidos da recuperação de *C. albicans* após 4 inoculações da levedura, na cavidade bucal de ratos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6).

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S |      |      |      | N O R M A I S |      |        |       |
|------------------|-----------|------|------|------|---------------|------|--------|-------|
|                  | 1         | 2    | 3    | 4    | 5             | 6    | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 3,74      | 4,00 | 3,62 | 3,29 | 3,66          | 3,60 | 3,65   | 0,23  |
| 2                | 3,16      | 4,05 | 3,82 | 3,39 | 3,27          | 2,38 | 3,35   | 0,58  |
| 3                | 3,39      | 4,01 | 2,88 | 3,90 | 3,78          | 3,40 | 3,56   | 0,42  |
| 5                | 2,72      | 3,75 | 3,82 | 3,25 | 3,92          | 3,46 | 3,49   | 0,45  |
| 8                | 3,60      | 4,14 | 3,46 | 4,10 | 4,58          | 2,73 | 3,77   | 0,65  |
| 15               | 2,40      | 2,56 | 2,87 | 1,90 | 3,72          | 2,24 | 2,62   | 0,63  |
| 30               | 2,15      | 3,22 | 3,62 | 1,97 | -             | -    | 1,83   | 1,55  |

| COLETA<br>(DIAS) | R A T O S S I A L O A D E N E C T O M I Z A D O S |      |      |      |      |      |        |       |
|------------------|---------------------------------------------------|------|------|------|------|------|--------|-------|
|                  | 1                                                 | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | MÉDIAS | D. P. |
| 1                | 5,40                                              | 4,80 | 5,20 | 4,44 | 4,90 | 5,45 | 5,03   | 0,39  |
| 2                | 5,57                                              | 5,67 | 5,00 | 4,84 | 4,27 | 5,53 | 5,15   | 0,55  |
| 3                | 6,16                                              | 5,87 | 6,24 | 5,33 | 4,93 | 6,30 | 5,81   | 0,56  |
| 5                | 5,05                                              | 5,49 | 5,04 | 5,00 | 4,74 | 5,12 | 5,07   | 0,24  |
| 8                | 4,98                                              | 5,36 | 4,63 | 4,59 | 4,80 | 4,70 | 4,84   | 0,29  |
| 15               | 4,25                                              | 4,47 | 3,20 | 3,29 | -    | 4,14 | 3,23   | 1,66  |
| 30               | 2,44                                              | 4,76 | 4,75 | -    | -    | 4,49 | 2,74   | 2,29  |







