

MARILDA APARECIDA GONÇALVES TOTTI

**CANDIDOSE EXPERIMENTAL E RECUPERAÇÃO
DE *Candida albicans* NA CAVIDADE BUCAL DE
CAMUNDONGOS NORMAIS E XEROSTÔMICOS**

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

Piracicaba
1998

MARILDA APARECIDA GONÇALVES TOTTI

**CANDIDOSE EXPERIMENTAL E RECUPERAÇÃO
DE *Candida albicans* NA CAVIDADE BUCAL DE
CAMUNDONGOS NORMAIS E XEROSTÔMICOS**

Este exemplar
foi devidamente
corrigido conforme
resolução CCFD/036/83

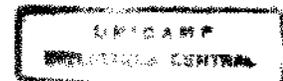
02/09/98
Prof. Dr. *Antonio Olavo Cardoso Jorge*
Coordenadora do Curso de Pós-Graduação
em Biologia e Patologia Bucal
UNICAMP

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

ORIENTADOR: *Prof. Dr. ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE*

Piracicaba
1998

08.02.95 5



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
V.	Ex.
TOMGO BC/	35.604
PROC.	395/98
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	27/10/98
N.º CPD	

CM-00117754-9

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

T641c	<p>Totti, Marilda Aparecida Gonçalves.</p> <p>Candidose experimental e recuperação de <i>Candida albicans</i> na cavidade bucal de camundongos normais e xerostômicos. / Marilda Aparecida Gonçalves Totti. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1998.</p> <p>142f. : il.</p> <p>Orientador : Antonio Olavo Cardoso Jorge.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. <i>Candida albicans</i>. 2. Candidíase. 3. Patologia bucal. 4. Camundongo. I. Jorge, Antonio Olavo Cardoso. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p>
-------	--



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 30 de Julho de 1998, considerou a candidata MARILDA APARECIDA GONÇALVES TOTTI aprovada.

1. Prof. Dr. ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE

2. Prof. Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA

3. Prof. Dr. MARCIO AJUDARTE LOPES

4. Profa. Dra. YASMIN RODARTE CARVALHO

5. Profa. Dra. MARIKO UENO

Todas as dedicatórias reservo em especial a Ti Senhor, que em Tua busca incessante encontrei entusiasmo; na ansiedade, a paz; nos momentos difíceis, a certeza da Tua presença. Tu me ensinaste a aceitar e conviver em equilíbrio com as dificuldades; a contemplar todos os bons acontecimentos... Tu me ensinaste a enriquecer o espírito quando motivada pelo desafio ou qualquer obstáculo a ser solucionado...

Enfim, é bem certo Senhor, que nossa esperança e nossos projetos só se realizam quando acreditamos que é possível e essa credibilidade Divina é a força que nos impulsiona à realização pessoal.

. . . .

Ao meu esposo JEFFERSON, fonte de apoio inesgotável; incansável batalhador. Orgulho-me de ser mulher e tê-lo ao meu lado.

Aos meus pais, GERALDO e ELZA e aos sogros ANTONIO E TERESA, por tanto carinho, preocupação e ajuda. Sou eternamente grata pela experiência adquirida no dia-a-dia.

Ao Prof. Dr. ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE,
Prof. Adjunto da Área de Microbiologia do Departamento de Biopatologia e
Diagnóstico da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos -
UNESP, pela orientação sempre objetiva, amizade e confiança que temos
recebido na realização deste trabalho. Seu exemplo como professor e
pesquisador nos orgulha. Nossos sinceros agradecimentos pela paciência e
compreensão nesses anos, cujo relacionamento foi significativo para a nossa
formação profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA, Titular da disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP; personalidade admirável. Nossa gratidão pela oportunidade e sentimento humano; por tantas valiosas sugestões, pela capacidade de valorizar a execução de nossas atividades e por fazer parte também da nossa formação profissional. Modelo de educador e pesquisador, cuja competência fertiliza à pesquisa científica.

Ao Prof. Dr. FRANCISCO JOSÉ DE SOUZA FILHO,
Prof. Assistente Doutor da disciplina de Endodontia da Faculdade de
Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, nossa gratidão especial pelo estímulo,
amizade sincera e pela oportunidade que nos foi concedida para a realização
do Curso de Pós-Graduação nesta Faculdade.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, na pessoa de seu Diretor Prof. Dr. José Ranali e ao Prof. Dr. Carlos Roberto Hoppe Fortinguerra, atual coordenador do Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão da bolsa de estudos que nos deu a oportunidade para a realização do Curso de Pós-Graduação.

A todos os professores, alunos e amigos do Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Aos amigos e professores do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela amizade, compreensão e auxílio no caminho ensino-aprendizagem. Sinto-me honrada por ter conhecido e trabalhado com uma equipe coesa, entusiasmada e segura na transmissão de conhecimentos.

Aos amigos ADRIANO, ANA CRISTINA, MARIA HELENA e ROSA MARIA, eficientes técnicos de laboratório e secretária, respectivamente, da disciplina de Patologia, pelo valioso auxílio durante estes anos. Minha admiração pelo potencial profissional e relacionamento humano.

Às amigas SÍLVIA MARIA PIACENTINI e ELAINE CRISTINA DE SOUZA, pela amizade e colaboração valiosa na parte experimental.

À aluna de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, ELIZABETE BRASIL DOS SANTOS, amiga de uma sadia convivência e agradável personalidade. Meu carinho especial e gratidão pela disposição sempre presente, pelo auxílio na fase experimental e inúmeras contribuições.

À Profa. Dra. Claudete R. Paula, do Departamento de Microbiologia (ICB - Universidade de São Paulo), pela gentileza na concessão das cepas produtoras de toxinas *killer* utilizadas neste estudo.

Ao Prof. Laureano, do Departamento de Economia da Universidade de Taubaté, pela análise estatística dos resultados.

Ao Sr. Luis Fernando Manesco, engenheiro na área de informática (CENA - USP), pelo companheirismo e auxílio sempre presentes.

Expressamos, também, nossos agradecimentos a todos que colaboraram de alguma forma, tornando possível a realização deste estudo.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1	<i>Candida albicans</i>	12
2.2	Presença de <i>Candida albicans</i> na cavidade bucal humana	14
2.3	Candidose bucal	18
2.3.1	Fatores predisponentes à candidose bucal	18
2.3.2	Aspectos clínicos das candidoses bucais	23
2.4	Mecanismos de patogenicidade de <i>Candida albicans</i>	26
2.4.1	Aderência.....	26
2.4.2	Produção de tubo germinativo e pseudohifas	30
2.4.3	Produção de enzimas	31
2.4.4	Produção de toxinas	33
2.5	Saliva	35
2.5.1	Xerostomia	37
2.5.2	Sialoadenectomia em animais experimentais	38
2.6	Modelos experimentais para estudo de candidose	40
3	PROPOSIÇÃO	45
4	MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1	Animais utilizados	46
4.2	Pesquisa do gênero <i>Candida</i> na cavidade bucal dos camundongos	47
4.3	Sialoadenectomia	48
4.4	Amostra de <i>C. albicans</i>	48
4.4	Implantação e recuperação de <i>Candida albicans</i> na cavidade bucal dos camundongos	49
4.5.1	Inoculação da amostra de <i>C. albicans</i>	49
4.5.2	Recuperação e contagem de <i>C. albicans</i>	50
4.5.3	Identificação e caracterização das amostras de <i>C. albicans</i> recuperadas.....	51
4.5.3.1	Formação de tubo germinativo	51
4.5.3.2	Produção de clamidósporo (clamidoconídeos)	52
4.5.3.3	Fermentação de carboidratos (Zimograma)	53
4.5.5	Verificação do fator <i>killer</i> nas amostras de <i>C. albicans</i> recuperadas da cavidade bucal dos camundongos	54

4.6	Modelo experimental de candidose bucal em camundongos	59
4.6.1	Indução de candidose após uma inoculação de <i>C. albicans</i> na cavidade bucal de camundongos	59
4.6.2	Indução de candidose após quatro inoculações de <i>C. albicans</i> na cavidade bucal de camundongos	59
4.6.3	Observações microscópicas de candidose no dorso da língua de camundongos	60
4.7	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Candida</i> no soro dos camundongos inoculados	60
4.7.1	Obtenção do soro	61
4.7.2	Preparo do antígeno de <i>Candida</i>	61
4.7.3	Técnica ELISA	62
4.8	Análise estatística	63
5	RESULTADOS	64
5.1	Presença de <i>Candida albicans</i> na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados	64
5.2	Quantificação de saliva na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados	64
5.3	Recuperação de <i>Candida albicans</i> da cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados	65
5.4	Candidose na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados	73
5.5	Presença de anticorpos anti- <i>Candida</i> no soro de camundongos inoculados com <i>C. albicans</i>	94
6	DISCUSSÃO	95
7	CONCLUSÕES	104
8	RESUMO	105
9	SUMMARY	106
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
	ANEXOS	143

I INTRODUÇÃO

A incidência de infecções por leveduras nos últimos anos parece ter aumentado, principalmente com o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Muitas das espécies de leveduras consideradas comensais são agora relatadas como patogênicas em humanos ^{45,162,301}.

Candidose é a infecção micótica de ocorrência mais comum na cavidade bucal, implicando leveduras do gênero *Candida*. *C. albicans* é considerada a principal espécie patogênica em humanos ^{44,94,190,291,317,329}. Por ser uma infecção oportunista, inúmeros fatores locais e sistêmicos predisponentes são citados na literatura, sendo rara a ocorrência de candidose sem a presença de um ou mais destes fatores, os quais alteram os mecanismos de defesa do indivíduo ou interferem com a microbiota bucal, definindo a mudança do fungo da forma comensal para patogênica ^{11,14,44,105,243,291,358}.

A integridade da mucosa bucal é dependente da função normal das glândulas salivares. A saliva fornece proteção aos tecidos pela ação mecânica e lubrificante e por suas propriedades antimicrobianas ^{72,74,121,203,255}. Além de representar mecanismo de defesa primário do hospedeiro, o fluxo salivar é também um importante modulador da população de *C. albicans* na cavidade bucal e sua redução facilita a instalação de candidose ^{44,76,120,131,210,306}.

Na literatura há poucos dados sobre a influência da xerostomia avaliando a presença de leveduras e o desenvolvimento de candidose na cavidade bucal de animais. MEITNER *et al.* ²¹⁷ (1990), obtiveram uma quantificação de *C. albicans* significativamente maior na cavidade bucal e

esôfago de ratos com fluxo salivar reduzido. Culturas positivas da levedura foram observadas por vários meses, após inoculações bucais em ratos sialoadenectomizados, demonstrando que a xerostomia favoreceu o desenvolvimento de candidose bucal nesses animais ^{141,142}. Os resultados do trabalho de TOTTI *et al.* ³³⁶ (1996), também confirmaram que a xerostomia facilitou a instalação, proliferação e persistência do fungo na cavidade bucal de ratos, quando analisaram a presença de 5 espécies de *Candida*, após inoculações bucais de cada espécie, sendo *C. albicans* recuperada em maior quantidade da boca de animais sialoadenectomizados em relação aos normais durante 30 dias.

O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de *C. albicans* e o desenvolvimento de candidose, após sua implantação na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Candida albicans*

A espécie *Candida albicans* pertence ao gênero *Candida*, família Cryptococcaceae, classe Blastomycetes, subdivisão Deuteromycotina, divisão Eumycota, reino Fungi ¹⁶⁸.

O gênero compreende aproximadamente 200 espécies de leveduras distribuídas na natureza, sendo que algumas podem viver como saprófitas ou parasitas no homem e animais ^{168,317,318,329}. Em virtude de sua maior patogenicidade e prevalência, *Candida albicans* é a espécie mais estudada, entretanto, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. stellatoidea*, são freqüentemente isoladas de seres humanos saudáveis ^{63,168,284,329} e como agentes etiológicos de micoses superficiais e sistêmicas ^{3,50,126,218,234,318,361}.

C. albicans vive normalmente na orofaringe, boca, dobras da pele, secreção brônquica, vagina, urina e fezes de humanos. Sua presença na água e no solo é relativamente rara e quando ocorre está relacionada à contaminação por fezes humanas ou de animais ¹⁷³.

As espécies de *Candida* se destacam entre os demais Blastomycetes, pela capacidade de formar pseudohifas, sendo *C. glabrata* a única exceção ³⁰¹. *C. stellatoidea* tem sido considerada atualmente como uma variante de *C. albicans*, devido à identidade entre as bases de DNA. Distingue-se, porém, de *C. albicans* por não assimilar sacarose ²²⁰.

C. albicans é um fungo dimórfico, apresentando-se na forma de levedura como células globosas, ovaladas ou alongadas, medindo em média 3 a

7 μm de largura por 3 a 14 μm de comprimento²²⁰. Na forma de micélio, suas células apresentam-se como pseudohifas, podendo também formar hifas verdadeiras. São microrganismos Gram-positivos, aeróbios, sendo capazes de crescer em anaerobiose²⁴⁰; condição que acentua a formação de micélio *in vitro*⁶¹.

Quando cultivada em meio de cultura líquido, *C. albicans* forma sedimento; em ágar Sabouraud a 37°C, as colônias apresentam-se brancas ou branco-amareladas, com diâmetro em média de 4 a 8 mm de diâmetro, úmidas e cremosas e com odor característico. Em microcultivo (ágar fubá) forma pseudohifas e produz estruturas esféricas características, os clamidósporos (clamidoconídeos) e em soro a 37°C forma tubo germinativo. Fermenta a glicose e maltose, não correndo fermentação da lactose e na maioria das vezes sacarose, enquanto que a fermentação da galactose é variável. Como fontes de carbono utiliza dextrose, galactose, maltose, trealose, xilose, sacarose e manitol; eventualmente arabinose, ribose e glucitol²²⁰.

C. albicans é classificada em sorotipos A e B, estando igualmente distribuídos na boca de pacientes saudáveis, porém o sorotipo A predomina em candidoses e estomatites por prótese total²⁰⁸, enquanto o sorotipo B é mais freqüentemente isolado de pacientes com sistema imune comprometido, como na AIDS³⁵. O grau de virulência para camundongos, entretanto, parece não estar relacionado com os sorotipos^{115,116}.

Nos tecidos, *C. albicans* apresenta-se na forma de micélio e leveduras. Na forma de leveduras aparecem como estruturas esféricas ou ovaladas, com diâmetro aproximado de 4 μm . Apresentam paredes delicadas e demarcadas com ou sem gemulação inicial. Na forma miceliana, as pseudohifas são geralmente longas, de espessura variável, com septações a curtos

intervalos. Em cortes transversais, exibem secção circular com discretas variações de calibre ²⁵⁴.

C. albicans induz reação inflamatória aguda, com edema, acúmulo de infiltrado inflamatório neutrofilico, com produção de múltiplos microabcessos. O crescimento miceliano é exuberante nas superfícies mucosas, constituindo massas de filamentos e leveduras, causando freqüentes ulcerações epiteliais multifocais ²⁵⁴.

2.2 Presença de *Candida albicans* na cavidade bucal humana

As leveduras constituem os únicos fungos pertencentes à microbiota normal do homem, sendo de ocorrência comum na cavidade bucal de indivíduos saudáveis. A primeira tentativa para classificar os fungos e leveduras na boca foi feita por KNIGHTON ¹⁶¹ (1939). Estudando amostras isoladas da mucosa bucal de 146 indivíduos, o autor admitiu que grande proporção pertencia ao gênero *Candida*. Em 1950, LILIENTHAL ¹⁸³ obteve conclusão semelhante em amostras isoladas de saliva.

Em estudo realizado por YOUNG *et al.* ³⁶⁷ (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 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.

A presença de espécies do gênero *Candida* na cavidade bucal pode apresentar um índice de variação entre 35 a 60% em indivíduos saudáveis, sendo decorrente provavelmente dos diferentes métodos de coleta,

origem das amostras, meio de cultura, grupos de indivíduos estudados e métodos de análise ^{90,207}. *C. albicans* foi isolada em 44,4% das culturas de material de boca de adultos sadios dentados ¹⁸, enquanto BERDICEVSKY *et al.* ²⁸ (1980), relataram um índice de 88% de *Candida* em portadores de próteses totais sem candidose, encontrando em pacientes dentados o percentual de 52%.

GERGELY & URY ¹⁰⁰ (1961), encontraram 70% de *C. albicans* na cavidade bucal de 154 indivíduos sadios e com metodologia semelhante, os mesmos autores ⁹⁹ (1966) analisaram a variação diária de fungos na boca, durante 8 dias e obtiveram no mesmo indivíduo grandes variações. Essa variabilidade entre indivíduos também foi observada por WILLIAMSON ³⁵⁹ (1972), sugerindo em seus resultados que as contagens devem ser realizadas em vários dias para a determinação da população de *Candida*.

ARENDORF & WALKER ^{17,18} (1979, 1980) obtiveram culturas positivas para leveduras, utilizando-se de várias técnicas, sendo *C. albicans* identificada em 88%, *C. krusei* e *C. guilliermondii* em 4%. *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 tornam-se colonizados secundariamente ^{18,355}.

Nas primeiras horas pós-parto, *C. albicans* já é isolada da boca de 5 a 7% das crianças, estando presente em 14,21% após 1 semana ^{176,284} e chegando ao pico ao redor dos 2 meses de idade. BERDICEVSKY *et al.* ²⁹ (1984), constataram a presença de *Candida* em 49% das crianças de 3 a 5,5 anos e em 65% nas de 6 a 12 anos.

A aquisição de *Candida* foi estudada por SHARP *et al.* ³¹³ (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. RUSSEL & LAY ²⁸⁴ (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 positividade para leveduras, sendo *C. albicans* a espécie predominante (56%) e em menor proporção *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. pseudotropicalis*.

DARWAZEH & AL-BASHIR ⁶⁴ (1995) avaliaram a presença de *Candida* na cavidade bucal de 206 crianças saudáveis entre 2 a 11 meses de idade. Espécies de *Candida* foram isoladas em 48% das crianças, sendo *C. albicans* a mais freqüente (30,6%), seguida de *C. parapsilosis* (5,8%). Os autores concluíram que *Candida* constitui parte da microbiota comensal bucal em aproximadamente 50% de crianças saudáveis com menos de 1 ano de idade, não considerando gênero ou padrões de alimentação.

JORGE *et al.* ¹⁴⁶ (1997) analisaram a presença de espécies do gênero *Candida* na saliva de 570 indivíduos normais e 493 pacientes que apresentavam diferentes fatores predisponentes locais. Os resultados mostraram maior porcentagem de pacientes positivos para *Candida* nos grupos com fatores predisponentes (73,80%), em relação aos controles (38,42%), sendo predominante o isolamento de *C. albicans* em todos os grupos, ocorrendo, entretanto, maior diversidade de espécies para pacientes com fatores predisponentes, principalmente nos usuários de prótese total.

Apesar da existência de grande variabilidade, pacientes sadios geralmente apresentam baixas contagens de leveduras na cavidade bucal podendo a quantificação, principalmente de *C. albicans* na saliva, ser usada como indicadora de infecção²⁰². Pacientes com candidose possuem contagens de *C. albicans* geralmente superiores a 400 ufc/mL de saliva, enquanto nos portadores as contagens normalmente não ultrapassam esse valor^{48,79,246,329}. Este valor também se aproxima da descrição feita por WILLIAMSON^{359,360} (1972), onde as contagens entre 300 e 500 ufc/mL de saliva podem ser encontradas em indivíduos adultos sadios e têm variação na hora do dia, atingindo o máximo no início da manhã e no final da tarde. O autor também sugere que o reconhecimento de um portador é melhor caracterizado em amostras colhidas pela manhã.

Embora não seja completamente entendido, o fator idade parece influenciar a presença de *Candida*. Em crianças, o sistema imunológico ainda imaturo favorece o abrigo do fungo, havendo certa proteção nas primeiras semanas após o nascimento, pelas imunoglobulinas herdadas da mãe através da placenta ou pelo leite²⁸⁴. Por outro lado, vários fatores associados à idade avançada como doenças sistêmicas e uso de medicamentos, podem favorecer a presença de *Candida*. Os mecanismos de homeostase em idosos têm funcionamento deficiente, o que facilitaria a instalação do fungo ou agravamento de candidoses^{26,243,269,368}.

O estado de portador do gênero *Candida* na boca, ainda não está esclarecido. Vários fatores têm sido implicados, tais como a dieta^{134,298}, interações com a microbiota bacteriana, diferenças no tecido do hospedeiro e fluidos corpóreos³⁶⁰, presença de anticorpos específicos e componentes do soro^{45,274,329}. O estado de portador tem sido também relacionado com o grupo

sangüíneo O⁴⁸. Indivíduos não secretores de antígenos dos grupos sangüíneos na saliva, possuem maior predisposição à candidose^{174,175,233}. A cavidade bucal representa importante fonte endógena de *Candida*, podendo ser encontrada em todos os sítios bucais, com especial preferência pelo dorso de língua (terço posterior), palato duro e mucosa jugal¹⁸ e sua presença na boca não significa necessariamente doença, pois as leveduras podem estabelecer relação de comensalismo com o organismo, ou então manifestar ação patogênica, principalmente quando ocorrer desequilíbrio no sistema de defesa do hospedeiro, facilitando a sua proliferação e penetração nos tecidos bucais^{21,44,243}.

2.3 Candidose bucal

Candidose é uma infecção micótica oportunista, decorrente da transformação de *Candida* da forma comensal para parasitária^{18,329}. As leveduras do gênero *Candida* têm a capacidade de invadir os tecidos e causar doença quando as defesas locais ou sistêmicas estão diminuídas, sendo portanto, sua virulência determinada mais pelo hospedeiro do que pelo fungo²³⁹.

2.3.1 Fatores predisponentes à candidose bucal

Diversos fatores locais e sistêmicos predisponentes à candidose bucal têm sido relatados na literatura^{11,44,105,243,297}, conforme pode ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 - Fatores predisponentes à instalação de candidose na cavidade bucal de seres humanos.

FATORES PREDISPOONENTES	
<i>LOCAIS</i>	<i>SISTÊMICOS</i>
Xerostomia	Fisiológicos
Uso de antibióticos	Desordens endócrinas:
Carboidratos solúveis na dieta	. diabetes
	. hipertireoidismo
Uso de próteses e aparelhos ortodônticos	Deficiências nutricionais
Tabagismo	Hospitalização
Associação com doenças bucais:	Deficiência imune:
. Neoplasias	. AIDS
. Glossite rombóide mediana	. congênitas
. Leucoplasia	
. Líquen plano	

A xerostomia assume, entre os fatores locais, particular importância, contribuindo para a proliferação de fungos pela alteração do equilíbrio da microbiota bucal. Mecanismos de limpeza e substâncias antimicrobianas presentes na saliva, como lisozima, lactoferrina, sistema de lactoperoxidase e glicoproteínas salivares estão diminuídos na xerostomia^{91,243,251}. Alterações clínicas como a síndrome de Sjögren, radioterapia e uso de medicamentos são as causas mais comuns que levam à disfunção das glândulas salivares e conseqüente xerostomia^{72,74,108,202,350}.

O uso prolongado de antibióticos de largo espectro tem sido citado com importância nas candidoses bucais. A inibição do crescimento de

bactérias, libera receptores celulares, que podem ser ocupados por adesinas presentes no gênero *Candida*^{91,243}. Outros medicamentos como imunossupressores e corticóides (sistêmicos, tópicos ou inalados) podem induzir a supressão da resposta imune celular. A quimioterapia pode levar à alterações do fluxo e qualidade da saliva secretada, causando ulcerações que possibilitam a aderência e implantação do fungo^{82,90,118,122,125}.

Espécies de *Candida* produzem ácido a partir de saliva suplementada com glicose^{288,293}, o que possivelmente indique que dieta rica em carboidratos solúveis contribui para a patogênese das candidoses bucais. O provável mecanismo envolve estímulo na presença de açúcares para crescimento dos fungos, aumentando a capacidade de adesão de *Candida* ou pela utilização do carboidrato solúvel como substrato metabólico^{90,298}.

Radioterapia de cabeça e pescoço favorece aumento na quantidade de *Candida*. ROSSIE *et al.*²⁷⁶ (1987), relatam aumento do número de leveduras recuperadas em 47% dos pacientes que apresentavam culturas negativas antes da radiação. PAULA *et al.*²⁵² (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* e *Candida ssp* (2%).

Efeitos da xerostomia produzida por radiação em pacientes com câncer, induzem um aumento pronunciado no número de *Candida* na boca³⁶, ocorrendo também, redução na quantidade de imunoglobulinas da saliva e ulcerações da mucosa⁷⁷. Há também evidências de que espécies de *Candida* estão implicadas na etiologia do câncer de boca e esôfago, devido à produção de nitrosaminas endógenas^{85,128}.

O uso de próteses e aparelhos ortodônticos favorece a instalação e permanência de *Candida* na boca ^{14,16,17,18,144,145,222,289}. A estomatite por prótese afeta cerca de 65% de seus usuários ¹³¹ e nessa condição, os principais fatores implicados na doença são o trauma e a infecção por *Candida* ^{41,66,69,229}. A infecção por *Candida* em usuários de prótese pode ser favorecida quando a higiene bucal e da prótese é precária. Prevalência de 86,5% de portadores de *Candida* entre pacientes com mucosite por prótese e de 75% entre pacientes sem mucosite, foi relatada por BUDTZ-JÖRGENSEN *et al.* ³⁹ (1975), isolando a espécie *C. albicans* com maior freqüência.

O aumento de queratinização pelas células da mucosa bucal em pacientes fumantes parece facilitar a aderência de *Candida* ao epitélio. Estudos relatam infecções da mucosa bucal e associação positiva com tabagismo e uso de próteses ^{15,18,19,125,272}; outros autores, entretanto, não observaram influências significativas do fumo na prevalência de *Candida* na cavidade bucal ^{26,99,244}.

Lesões como queilite angular, glossite rombóide mediana, leucoplasia, líquen plano e hiperqueratoses, demonstram freqüente isolamento do gênero *Candida*, podendo favorecer o seu estabelecimento na mucosa bucal pela retenção prolongada das células superficiais, alterações moleculares e aumento da quantidade de queratina nessas doenças ^{19,26,91,170,193,243,345}. Sugere-se, ainda, uma relação etiológica da *C. albicans* em leucoplasias, baseando-se no fato de que há regressão das lesões com tratamento antifúngico ⁵² e há evidências de que lesões leucoplásicas associadas à candidose podem sofrer malignização ¹⁶⁹.

Segundo FOTOS *et al.* ⁹⁰ (1991), a gravidez e o uso de anticoncepcionais, provavelmente possam influenciar na presença de *Candida*

na cavidade bucal, pois ocorreriam alterações no fluxo salivar ou na imunidade causadas pelo desequilíbrio hormonal.

Nas desordens endócrinas como diabetes mellitus e hiperparatireoidismo, altas taxas de isolamento de *Candida* da cavidade bucal são observadas. KNIGHT & FLETCHER ¹⁶⁰ (1971) relataram que pacientes diabéticos possuem concentrações elevadas de glicose na saliva, o que sugere forte associação com aumento de crescimento de *Candida*. FISHER *et al.* ⁸⁶ (1987) verificaram a presença de *Candida* em 210 (51%) dos 412 pacientes diabéticos examinados, sendo *C. albicans* presente em 89% dos isolamentos. QUIRINO *et al.* ²⁶¹ (1994), estudaram a presença de fungos na cavidade bucal de diabéticos controlados e não controlados, encontrando resultados semelhantes nos grupos estudados. *C. albicans* foi isolada em 57,1% dos diabéticos controlados e em 62,5% dos não controlados. Essas doenças também estão associadas à manifestações graves de candidose mucocutânea crônica ^{82,125,147,190}.

Fatores nutricionais incluindo deficiência de ferro e vitaminas têm sido relatados na patogênese de infecções bucais por *Candida* ^{89,134,189,298,351}. O íon ferro parece atuar modulando o sistema de lactoferrina e lisozima, alterando o ritmo de crescimento das células epiteliais ou reduzindo a fagocitose e produção de anticorpos ¹²⁵. Hipovitaminoses podem determinar alterações na formação de células epiteliais e redução da exfoliação, favorecendo a aderência dos fungos ²⁹⁸.

Em pacientes com AIDS, a candidose bucal é a complicação mais freqüentemente observada ^{112,188,223,235,237,262,303,331,365}. TYLENDÁ *et al.* ³⁴³ (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 média de 10^4 ufc/mL, comparado com menos que $1,0 \times 10^0$ nos controles. FRANKER *et al.*⁹³ (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.

Candidoses bucais podem representar um sinal clínico da presença de doenças graves, principalmente em pacientes imunodeprimidos, como aids, transplantados e idosos. Embora seja a infecção micótica de maior ocorrência na boca e geralmente com pouca gravidade, pode disseminar-se e gerar o quadro de candidose sistêmica^{227,240,343}.

2.3.2 Aspectos clínicos das candidoses bucais

Diversas formas clínicas de candidose têm sido relatadas na cavidade bucal e HOLMSTRUP & AXÉLL¹²⁴ (1990) com base nas manifestações clínicas observadas, sugeriram a classificação presente no Quadro 2.

Quadro 2 - Classificação das candidoses bucais baseadas nas manifestações clínicas.

CANDIDOSES		LESÕES ASSOCIADAS COM <i>Candida</i>
AGUDAS	CRÔNICAS	
Pseudomembranosa	Pseudomembranosa	Queilite angular
Eritematosa	Tipo "placa"	Estomatite por prótese
	Nodular	Glossite rombóide mediana

Baseado em HOLMSTRUP & AXELL¹²⁴ (1990).

Na forma pseudomembranosa aguda, as lesões geralmente assumem aspectos de placas brancas e cremosas, com localização preferencial na língua, palato e bochecha, podendo atingir também, gengiva e assoalho da boca³⁰⁹. Ao exame histológico, observa-se tecido necrótico, restos alimentares, leucócitos e bactérias presentes no epitélio bucal em meio a leveduras e pseudohifas de *Candida*, que chegam a invadir a superfície queratinizada do epitélio. As camadas mais profundas do epitélio demonstram acantose, edema e microabscessos. O conjuntivo apresenta reação inflamatória, polimorfonucleares, linfócitos e macrófagos⁴⁵.

Na forma eritematosa aguda, as lesões caracterizam-se por áreas avermelhadas com bordas mal definidas. Acomete principalmente o dorso da língua, com sintomatologia dolorosa e pode estender-se às comissuras labiais e à faringe¹⁷⁸. Possui características histológicas semelhantes à forma pseudomembranosa, apenas observando-se pseudohifas em menor quantidade e conjuntivo com acentuada reação inflamatória⁴⁵.

Formas crônicas (pseudomembranosa e eritematosa) são freqüentemente encontradas em pacientes com sistema imunológico comprometido ou que utilizam corticosteróides inaláveis. As lesões tipo “placa” caracterizam-se pela presença de placas brancas, geralmente firmes e persistentes, envoltas por eritema com localização preferencial no lábio, língua e bochecha ¹²⁴. A candidose nodular crônica, caracteriza-se pela formação de pápulas ou nódulos. Histologicamente essas formas crônicas são caracterizadas pela presença de pseudohifas na superfície do epitélio ^{45,124}.

C. albicans e outras espécies de *Candida*, são freqüentemente isoladas de lesões como queilite angular, estomatite por prótese e glossite rombóide ^{16,19,242,356,358}, porém a etiologia dessas infecções é discutida e acredita-se que seja decorrente de associação microbiana com leveduras ^{40,44,113,143,167,242,321}.

A candidose mucocutânea crônica é uma doença rara com manifestação grave e constitui um grupo de desordens heterogêneas, associadas à deficiências imunológicas, endócrinas e metabólicas. Apresentam caráter crônico e recidivante e são caracterizadas por infecção superficial por *Candida* na cavidade bucal, pele e unha ^{20,125,147,157,177,190}.

A candidose mucocutânea crônica tem início geralmente com lesões pseudomembranosas podendo, entretanto, apresentar características hiperplásicas. A língua pode tornar-se alargada, com fissuras e nódulos hiperplásicos nas bordas laterais. Candidose bucal é observada em mais de 90% dos casos e possuem características histopatológicas semelhantes às candidoses bucais crônicas ⁵². A candidose mucocutânea crônica pode eventualmente estender-se para faringe, laringe e esôfago e raramente para as vísceras ¹⁴⁷.

2.4 Mecanismos de patogenicidade de *Candida albicans*

O termo patogenicidade pode ser definido como a capacidade de um microrganismo causar doença, em consequência da interação entre parasita e hospedeiro. Para EISENSTEIN ⁷⁵ (1987), o sinal de um parasita bem-sucedido não é apenas a sua habilidade para causar doença, mas preferivelmente a sua capacidade para sobreviver e multiplicar-se. Este conceito é suportado no exemplo de infecções por *Candida*, onde a mais virulenta das espécies, *C. albicans* ocorre como comensal em humanos, sendo porém, capaz de invadir e multiplicar-se nos tecidos quando as defesas locais ou sistêmicas estão diminuídas ¹⁰³.

Os mecanismos que determinam a patogenicidade do gênero *Candida* não são totalmente esclarecidos. Vários fatores têm sido sugeridos como capacidade de aderência à mucosa e outras superfícies, habilidade em formar pseudohifas e tubos germinativos, produção de enzimas histolíticas e secreção de substâncias semelhantes às endotoxinas ^{70,103,105,240}.

2.4.1 Aderência

A capacidade de aderência de um microrganismo é considerada como o mecanismo inicial de colonização e desenvolvimento de infecção no hospedeiro ^{103,154,156,195,248,277,308}. A adesão de leveduras à mucosa bucal ocorre provavelmente pela interação entre adesinas do microrganismo e receptores das células epiteliais da boca. Na *C. albicans*, manoproteínas, glucano, quitina, proteínas da parede celular e lipídeos, são possíveis adesinas ²⁴⁸. Ainda não estão claramente determinados os receptores teciduais para as adesinas, porém

moléculas de fibronectina, fucose, lipídeos, manose, N-acetilglicosamina, mucinas, lamininas e colágenos são considerados por alguns autores^{70,71,106,152}.

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^{58,70,156,295,347}.

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 córneo¹²⁷. Examinando a capacidade de aderência às células epiteliais bucais e vaginais de sete espécies de *Candida in vitro*, KING *et al.*¹⁵⁶ (1980), demonstraram que *C. albicans* aderiu em quantidade significativamente maior que as outras espécies. Em coágulo de fibrina, *C. albicans* apresenta acentuada adesão, enquanto menor aderência é verificada com *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *C. glabrata*²⁹⁵.

Fatores diversos podem interferir nos mecanismos de adesão de *Candida* 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^{154,156,195,248,308}. GHANNOUM *et al.*¹⁰¹ (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 *et al.*²⁶³ (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 & DOUGLAS²¹³ (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 *et al.*¹⁵⁶ (1980) e KEARNS *et al.*¹⁴⁹ (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 na sua adesão e virulência. Células de *C. albicans* que cresceram à temperatura ambiente são mais virulentas para camundongos quando comparadas com aquelas incubadas a 37°C¹³.

Dos fatores que podem influenciar a adesão de *Candida*, KENNEDY & SANDIN¹⁵⁰ (1988) consideram importante o meio de cultura utilizado, uma vez que a aderência do microrganismo é diretamente dependente das condições nas 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 alta diversidade genética de *C. albicans* também pode aumentar sua capacidade de aderência e conseqüentemente de infecção^{302,323}. SLUTSKY *et al.*³²⁴ (1987), relataram que amostras patogênicas de *C. albicans* mudaram a morfologia da colônia de branca para opaca, quando cultivadas a 25°C. KENNEDY *et al.*¹⁵¹ (1988), demonstraram que colônias brancas eram significativamente mais adesivas às células epiteliais bucais do que as opacas. A porcentagem 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.

Uma relação direta entre a composição da superfície celular, aderência e virulência de *C. albicans* foi proposta em estudos por McCOURTIE & DOUGLAS ²¹³ (1984). Amostras da levedura foram capazes de sintetizar uma camada de superfície fibrilar em resposta à altas concentrações de açúcar no meio ^{289,292} e, esta modificação demonstrou aumento de adesão às células epiteliais bucais e na virulência para camundongos. Neste sentido, essas alterações devem ter importância *in vivo*, principalmente em indivíduos com dieta rica em carboidratos. Além disso, as fibrilas representam apêndices semelhantes às fimbrias bacterianas, cuja presença já foi relatada por GARADINER *et al.* ⁹⁶ (1982).

A expressão de superfície fibrilar pela *Candida*, provavelmente confira-lhe proteção à fagocitose ²¹³. O principal constituinte antigênico da parede celular de *C. albicans* é uma manoproteína, produto que poderia inibir a morte intercelular da *Candida*, interferindo no sistema mieloperoxidase dos fagócitos ^{181,211,318}. Este constituinte também é capaz de interagir com proteínas salivares ou mucina ²³⁶. Por outro lado, SEGAL *et al.* ³⁰⁷ (1982) e DOUGLAS ⁷⁰ (1987), sugeriram que a quitina, localizada mais internamente na parede celular de *Candida*, pode estar envolvida no processo de adesão. Extrato solúvel de quitina, extraído de *C. albicans* inibiu a adesão da levedura à mucosa vaginal de camundongos ¹⁷⁹.

Há evidências de que interações hidrofóbicas são provavelmente importantes na adesão de leveduras ^{159,196,221}, pois podem exercer uma contribuição co-adesiva ¹⁵¹.

O papel da saliva na adesão de leveduras ainda é pouco conhecido. Sugere-se que essa adesão seja mediada pela existência de componentes específicos presentes na saliva ou no soro ^{78,213,236,290,294,366}. Em

células epiteliais bucais pré-incubadas com saliva, ocorre maior aderência de *C. albicans*^{65,154,102,292,290,293}. VASILAS *et al.*³⁴⁸ (1992) obtiveram aumento de adesão da levedura na presença de componentes salivares e sugeriram que a película adquirida deve desempenhar importante papel na colonização das superfícies de próteses. Outros estudos, no entanto, admitem que a saliva pode diminuir, inibir ou não afetar a aderência de *C. albicans* a essas superfícies^{160,212,214,294}.

2.4.2 *Produção de tubo germinativo e pseudohifas*

As leveduras do gênero *Candida* podem apresentar-se em três aspectos morfológicamente distintos: leveduras ou blastósporos, hifas e/ou pseudohifas e clamidósporos²²⁰. Tanto a forma de leveduras como hifas podem causar infecção^{103,187,217,319,320}, sendo a forma de pseudohifa comumente encontrada nas lesões^{87,88,142,246,320}. A relação entre forma miceliana e infecção implica no fato de que as pseudohifas são mais resistentes do que as leveduras à fagocitose por neutrófilos, penetrando com maior facilidade os tecidos, provavelmente pela atividade fosfolipásica concentrada em suas extremidades^{103,118,320}.

C. glabrata não produz pseudohifas ou hifas verdadeiras³⁰¹; no entanto, em candidoses bucais, é a mais freqüentemente isolada depois de *C. albicans*, sendo também relatada como agente etiológico em endocardites e fungemias sistêmicas^{3,23,86,93,163,185,247,278}.

Outro fator implicado na virulência de *C. albicans* é a sua capacidade em produzir tubo germinativo; estrutura que aumenta a sua capacidade de aderência às células epiteliais bucais^{155,326}, ao acrílico³³⁹ e à

pele ²⁶⁴. Também propiciam aumento da habilidade invasiva às células do hospedeiro ⁵¹ e parecem ser relevantes na indução de candidose bucal em ratos ²⁰⁹.

Sugere-se também, que haja correlação entre germinação e aumento de aderência de *C. albicans* nas células epiteliais da boca, uma vez que a inibição da germinação da levedura pelo uso de drogas, resulta em diminuição da aderência ^{102,155}.

2.4.3 *Produção de enzimas*

A atividade enzimática é considerada importante na patogenicidade de *C. albicans*, provavelmente facilitando sua invasão ao epitélio bucal humano ^{7,237,343} e de animais ^{140,142,217,311}.

PUGH & CAWSON ²⁶⁰ (1975), através de métodos citoquímicos, demonstraram a presença de lisofosfolipase e fosfolipase A, em blastósporos, pseudohifas, membranas e parede celular de *C. albicans*. Amostras de *C. albicans* que revelaram maior atividade fosfolipásica, aderiram-se fortemente às células epiteliais bucais e apresentaram maior patogenicidade para camundongos ²⁵.

Detectada por REMOLD *et al.* ²⁷¹ (1968) em amostras de *C. albicans*, a proteinase é capaz de degradar IgA secretória e sérica presente na saliva, podendo essa degradação ser facilitada nos sítios onde há elevada concentração de carboidratos e fluxo reduzido de saliva. Os prováveis efeitos protetores destes anticorpos ficariam diminuídos na presença de amostra do microrganismo capaz de produzir proteinase ^{270,282}. Além disso, KAMINISHI *et al.* ¹⁴⁸ (1988), descreveram produção de proteinase pela *C. albicans* com

capacidade de degradar colágeno, sugerindo que as amostras produtoras de proteinase são mais invasivas.

Amostras de *C. albicans* produtoras de proteinase apresentam maior capacidade de adesão e invasão às células epiteliais^{32,264}. GHANNOUM & ABU-ELTEEN¹⁰⁴ (1986) estudaram a relação entre a produção de proteinase, com aderência e patogenicidade de amostras de *C. albicans*, às células epiteliais bucais de camundongos e verificaram que das 53 amostras utilizadas, todas eram produtoras da enzima e apresentavam habilidade de adesão às células. Maior quantidade de proteinase era produzida pelas amostras com maior capacidade de adesão e eram mais patogênicas para camundongos quando inoculadas endovenosamente. BORG & RÜCHEL³² (1988) também verificaram maior capacidade de adesão ao epitélio bucal, *in vitro*, por amostras de *Candida* produtoras de proteinase. Segundo os autores³¹ (1990) amostras de *Candida* altamente produtoras da enzima podem germinar no interior de macrófagos, levando-os à destruição.

Em candidoses vaginais, a proteinase também é considerada importante fator de patogenicidade. CASSONI *et al.*⁵¹ (1987) compararam a produção de proteinase *in vitro* por amostras de *C. albicans* isoladas de pacientes saudáveis e pacientes com candidose vulvovaginal e observaram que as amostras isoladas de pacientes com candidose vaginal produziam muito mais a enzima do que as isoladas de portadoras saudáveis.

A presença da enzima condroitin-sulfatase e hialuronidase em leveduras do gênero *Candida*, foi pesquisada pela primeira vez por CHATTAWAY *et al.*⁵⁶ (1971), embora não tenham sido detectadas em seus estudos. Produção de hialuronidase foi observada em 50% das amostras de *C. tropicalis* e *C. guilliermondii*; em 44,4% de *C. parapsilosis* e em 16,6% de

*C. krusei*¹². O autor também relata produção de condroitin-sulfatase em 50% das amostras de *C. tropicalis* e *C. guilliermondii*, 71% de *C. parapsilosis* e 100% em *C. krusei*.

2.4.4 *Produção de toxinas*

Determinadas características da candidose experimental levaram HENRICI¹¹⁹ (1940) e SALVIN²⁸⁶ (1952) a considerar a possibilidade de *C. albicans* produzir endotoxina. CUTLER *et al.*⁶⁰ (1972) relataram componentes tóxicos contendo carboidratos (manose e glicose) e proteína, originados da parede celular de *C. albicans*, que eram letais para camundongos e embriões de galinha.

Endotoxinas isoladas de *Candida* são letais para camundongos quando injetadas endovenosamente²²⁴ e produzem eritema em pele de coelhos e cobaios³⁶⁴. Extrato solúvel liofilizado de *C. albicans*, livre de células, provoca dermatite experimental em animais, semelhante à observada em humanos²⁰⁰. Injeções com sobrenadante de culturas de *C. albicans* isento de células, aumenta a atividade mitótica do epitélio bucal de ratos²⁶⁸.

IWATA¹³³ (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. A ação principal da canditoxina parece estar relacionada com a liberação de histamina dos mastócitos.

A produção de substâncias protéicas denominadas fatores *killer* são secretadas *in vitro* por várias amostras de *Candida* e possuem efeito

antibiótico, semelhante às bacteriocinas, para outros fungos e várias bactérias, sendo consideradas também como fator de virulência²⁵⁷.

O fenômeno *killer* foi descoberto em cepas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e posteriormente verificado em vários outros gêneros como *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hansenula* e *Torulopsis*. São classificadas em *killer* as leveduras que produzem toxinas letais, mas são resistentes a esta toxina; em neutras aquelas que não produzem a toxina, porém são resistentes ao fator *killer* e em sensíveis as leveduras que morrem na presença desta toxina^{30,257}.

O mecanismo de ação destas toxinas em leveduras sensíveis ocorre em nível de membrana citoplasmática, acarretando um aumento da permeabilidade, com perda de íons potássio, inibição do transporte ativo de aminoácidos e acidificação do interior celular, levando a célula à morte^{27,257}.

O fenômeno *killer* pode ser útil para verificar a origem e disseminação de determinada amostra de *Candida* e como marcador epidemiológico de leveduras, bolores e actinomicetos^{27,199,257}.

2.5 Saliva

Cerca de 90% da secreção salivar é produzida por três pares de glândulas salivares maiores: parótidas, submandibulares e sublinguais. O restante é derivado de glândulas salivares menores, localizadas pela cavidade bucal, exceto gengiva e porção anterior do palato duro ¹²¹.

Saliva serosa e mucosa compõe os produtos de secreção das glândulas salivares. A saliva serosa é aquosa, rica em proteínas, estando sua secreção relacionada a estímulos olfatório, gustatório e mastigatório. A saliva mucosa contém glicoproteínas altamente viscosas e sua secreção independe de estímulos conhecidos ³³⁰. A natureza do estímulo que desencadeia a ação dos nervos simpático e parassimpático, define a quantidade e composição da saliva ⁹⁷. A presença de saliva normal em quantidade e qualidade é indispensável para a homeostase da boca ^{74,219,202}. A saliva pode ser considerada uma mistura de fluidos bucais, também incluindo restos alimentares, células epiteliais, fluido gengival e microrganismos ⁸³.

A saliva desempenha importante papel na fisiologia orofaríngea, na digestão e na proteção das células gástricas. Na cavidade bucal, a saliva participa dos processos de mastigação, fala, deglutição, sensibilidade gustativa, lubrificação dos tecidos, manutenção do pH, 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 ^{72,80,203,314}.

O controle da microbiota pela saliva é realizado principalmente pela produção de substâncias antimicrobianas ⁷². Várias espécies de bactérias

buciais são agregadas pela saliva humana e pelas glicoproteínas salivares de alto peso molecular ^{22,166,346}.

A mucina, glicoproteína de alto peso molecular, é um importante modulador da microbiota bucal, pois alguns microrganismos possuem receptores específicos para a mesma ¹²¹. Aproximadamente 70% das mucinas são secretadas pelas glândulas salivares menores e o restante pelas submandibulares e sublinguais. Contribuem para manter a integridade da mucosa, devido a sua baixa solubilidade, alta viscosidade, elasticidade e aderência. Fornecem barreira efetiva contra a dessecação do tecido bucal, proteção da mucosa contra a ação de proteases produzidas por microrganismos e por leucócitos polimorfonucleares em ^{203,332}. O controle da permeabilidade das superfícies mucosas também é desempenhado pelas mucinas, que limitam a penetração de agentes irritantes e toxinas presentes nos alimentos ²⁰⁴.

A lisozima causa lise de células bacterianas, pela ligação à sua superfície celular e interação com ânions salivares e bicarbonato. Essa combinação acarreta danos à membrana celular pela provável ativação de autolisinas ²⁵⁵. A lisozima também inibe o crescimento ou reduz a incorporação de glicose e produção de ácido lático por algumas bactérias ^{341,342}.

A lactoferrina possui ação efetiva contra bactérias que requerem ferro para seu metabolismo. A proteína se liga ao ferro, impedindo o microrganismo utilizá-lo como nutriente essencial. Por outro lado, há bactérias que digerem a lactoferrina e a utilizam como fonte de ferro ^{74,204}.

A peroxidase salivar atua pelo sistema de oxidação de íons tiocianato pelo peróxido de hidrogênio, gerado por bactérias bucais, produzindo hipotiocianito e ácido hipotiocianoso, potentes antibacterianos que afetam o metabolismo dos microrganismos ³³⁵.

Polipeptídeos ricos em histidina presentes na saliva da parótida, possuem ação antifúngica, sendo capazes de inibir o crescimento de *C. albicans in vitro* e possivelmente exerçam a mesma efetividade *in vivo*²⁵⁶.

A IgA salivar é capaz de inibir a aderência, neutralizar microrganismos e suas toxinas, e representa agente efetivo na inibição da transmissão do HIV e outros vírus como o da *Herpes simplex*^{121,204,216}. IgA salivar parece exercer também, inibição na aderência de *C. albicans* às células epiteliais bucais^{78,349}. Por outro lado, as proteases produzidas por algumas espécies de *Candida* são capazes de clivar imunoglobulinas, incluindo IgA, sendo esta clivagem facilitada em sítios com redução do fluxo salivar^{270,282}.

2.5.1 Xerostomia

O termo “xerostomia” refere-se à queixa ou sensação de boca seca, embora também possa significar a diminuição efetiva do fluxo salivar⁸⁰. Quaisquer alterações na cavidade bucal que levem ao estado de xerostomia, podem bloquear mecanismos de primeira linha de defesa^{74,243} e desta forma facilitar o desenvolvimento de candidose bucal.

A xerostomia pode produzir ressecamento da mucosa bucal, fissura na língua e lábios e freqüentes ulcerações. A falta de lubrificação resulta na aderência da língua e bolo alimentar à mucosa bucal ou superfície de dentes e próteses, dificultando a mastigação, deglutição e fonação¹²¹. A incidência de cárie e dificuldade na utilização de próteses totais também tem sido relatado^{41,72,81,108,121,135,201,250,352}.

Vários fatores podem predispor à xerostomia em humanos, como a síndrome de Sjögren, aplasia glandular, uso de medicamentos, radioterapia de

cabeça e pescoço, idade avançada, doenças locais e sistêmicas entre outros
72,74,108,121,202,206,219,249,253,325

A xerostomia representa importante condição predisponente à prevalência e infecções por leveduras do gênero *Candida* nas mucosas da boca
36,44,76,77,120,131,210,231,276,306,333

2.5.2 Sialoadenectomia em animais experimentais

Em ratos e hamsters está bem estabelecido que a sialoadenectomia é seguida de aumento na ocorrência de cáries^{34,107,132,158,225,304,315,316,357}

BOWEN *et al.*³⁴ (1988) relataram microbiota acidogênica com elevada virulência, incluindo *Streptococcus sobrinus* em ratos sialoadenectomizados, a qual era transmitida rapidamente quando esses animais eram colocados nas mesmas gaiolas com animais normais, passando a desenvolver maior número de cáries de superfícies lisas. MADISON *et al.*¹⁹⁷ (1990) também verificaram que animais xerostômicos apresentam maior transmissibilidade de amostras cariogênicas de *S. sobrinus*, do que ratos normais.

EDGARD *et al.*⁷³ (1981) verificaram rápido desenvolvimento de cáries em macacos após irradiação das glândulas salivares, semelhante ao que acontece em pacientes sob as mesmas condições e admitiram que a destruição dos dentes observada, ocorreu principalmente pela redução do fluxo salivar.

ITO¹³² (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 cáries 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 normais²³⁰.

A xerostomia produzida experimentalmente parece favorecer a permanência de espécies do gênero *Candida* na cavidade bucal de animais. JONES & ADAMS¹³⁷ (1970) não observaram diferença na incidência de candidose em ratos, cuja xerostomia foi induzida com o uso de hioscina. Placas acrílicas maxilares inoculadas com *C. albicans*, foram inseridas em macacos que tiveram o fluxo salivar reduzido com injeções de oxifenciclimina. Após uma semana esses animais apresentaram lesões no palato mais extensas e com regressão mais lenta em relação ao grupo controle, sugerindo que a saliva poderia exercer algum efeito protetor, impedindo a colonização de *C. albicans* na superfície de próteses²⁴⁵.

MEITNER *et al.*²¹⁷ (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, os autores observaram que a transmissibilidade da infecção ocorreu mais rapidamente entre animais com fluxo reduzido de saliva.

JORGE¹⁴⁰ (1991) relatou a incidência de candidose na língua, em 70% dos ratos xerostômicos e em 20% dos ratos normais, após 3 inoculações de 10^8 células de *C. albicans* em dias consecutivos, sugerindo que a xerostomia facilitou a permanência e a colonização do epitélio pela levedura. JORGE *et al.*^{141,142} recuperaram maior número de *C. albicans* da boca de ratos

sialoadenectomizados e relataram maior incidência de candidose nesses animais.

A permanência de espécies de *Candida* em animais com xerostomia também foi estudada por TOTTI *et al.* ³³⁶ (1996), após 4 inoculações bucais consecutivas de 10^8 células de 5 espécies do gênero. *C. albicans* foi a única espécie recuperada em maior quantidade da boca de ratos xerostômicos em relação aos normais, permanecendo superior até 30 dias da última inoculação.

Embora pouco conhecido o papel da saliva no mecanismo de adesão de leveduras às células bucais, admite-se que ela participe na manutenção do equilíbrio ecológico bucal, podendo prevenir aderência microbiana por meios mecânicos, imunológicos e humorais ²²⁸.

2.6 Modelos experimentais para estudo de candidose

Modelos experimentais utilizando camundongos ^{114,171,205}, coelhos ²⁶⁷, ratos ^{194,266,273}, cães ³⁰⁵ e macacos ^{42,43,46,245} já foram utilizados no estudo da candidose.

Nas candidoses bucais, o rato tem sido um modelo experimental bastante utilizado, inclusive para avaliar as influências de fatores locais e sistêmicos que predispõem à infecção. ADAMS & JONES ² (1971) inocularam *C. albicans* na cavidade bucal de 30 ratos e observaram o desenvolvimento de infecção em 5 animais, a qual ocorreu principalmente na crista gengival, alterando o grau de queratinização do epitélio, com discreto envolvimento do conjuntivo. JONES & RUSSEL ¹³⁸ (1974) relataram a incidência de candidose na mucosa da língua em 55% dos ratos inoculados com *C. albicans* durante 22

semanas. JONES *et al.* ¹³⁹ (1976) demonstraram histologicamente infecção em 15, 40 e 20% dos ratos em 6, 9 e 12 meses de inoculações semanais de *C. albicans*, respectivamente.

Em ratos inoculados com *C. albicans* durante 40 semanas, a presença de candidose foi observada principalmente na porção mediana do terço posterior da língua, com aspectos clínicos e histológicos similares à glossite rombóide mediana ⁸. ALLEN *et al.* ¹⁰ (1988) obtiveram lesões clinicamente visíveis na língua de 17 ratos inoculados com *C. albicans* durante 20 semanas. Os animais foram divididos em 2 grupos: 8 animais receberam 20 mg/kg/dia de cetoconazol por 2 semanas e 9 animais não receberam tratamento. Nos animais tratados, todas as lesões regrediram, enquanto apenas 2 ratos do grupo controle apresentaram regressão das lesões. Os autores sugerem que as alterações epiteliais causadas pela inoculação da levedura por 20 semanas são reversíveis.

ALLEN & BECK ⁷ (1987) isolaram 16 amostras de *C. albicans* de pacientes com candidose e as inocularam na boca de ratos durante 16 semanas. Seis amostras demonstraram habilidade de produzir lesão no dorso da língua, com incidência em 5% dos ratos em 3 amostras, 10% em uma, 15% em uma e 60% com uma. As outras 5 amostras apresentaram pseudohifas na queratina, mas sem alterações no epitélio e as outras 5 amostras não produziram candidose.

Através da inoculação de *C. albicans* por 3 dias alternados, FISHER *et al.* ⁸⁷ (1982) observaram alta incidência inicial de infecção, seguida de rápido declínio após 5 semanas da primeira inoculação. A penetração de pseudohifas no interior do epitélio foi observada em 33% dos animais e os locais mais freqüentes de infecção foram a gengiva marginal (98,8%), a mucosa

do sulco bucal e lingual e a língua. Os autores relacionaram a alta seletividade de adesão às características do epitélio, à presença e à natureza da queratina..

SHAKIR *et al.*³¹¹ (1983) testaram a habilidade de *C. albicans* sorotipos A e B, *C. tropicalis* e *C. glabrata* em produzir candidose no palato de rato. *C. albicans* sorotipo A produziu consistente candidose, enquanto que o sorotipo B somente produziu em 2 dos 5 animais testados, indicando diferença de patogenicidade entre os dois sorotipos. *C. tropicalis* e *C. glabrata* não induziram alterações no palato sob as condições testadas, colonizando a mucosa apenas na presença de placa acrílica.

SHAKIR *et al.*³¹² (1986) produziram candidose no palato de ratos portadores de placa acrílica no período de 2 semanas e observaram histologicamente que com a remoção das placas havia completa resolução da lesão, podendo a amostra de *C. albicans*, no entanto, ser recuperada. Recolocando as placas após o período de recuperação, sem inocular *C. albicans*, candidose reaparecia no período de 2 semanas.

Outro modelo experimental utilizado para estudo de candidose é o camundongo, uma vez que sua microbiota bacteriana é conhecida e restrita a menos de 20 espécies³⁴⁰. Além disso *C. albicans* não faz parte da microbiota bucal deste animal¹⁷¹. Grande parte dos estudos neste modelo, referem-se à patogenicidade de *Candida*.

HASENCLEVER¹¹⁴ (1959) verificou que camundongos são altamente susceptíveis à inoculações intravenosas de *C. albicans*. *C. tropicalis* demonstrou alguma letalidade; *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.

Em 1957, MANKOWSKI ²⁰⁵ verificou que 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.

HASENCLEVER & MITCHELL ¹¹⁵ (1961) verificaram que *C. tropicalis* é patogênica para camundongos, quando inoculada por via endovenosa. HURLEY & WINNER ¹²⁹ (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 *et al.* ⁹⁵ (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 infecção. *C. tropicalis* tem sido mais virulenta que *C. albicans* em camundongos imunocomprometidos após inoculação bucal e gastrointestinal ^{362,363}.

Aspectos microbiológicos e histológicos de candidose bucal em camundongos foi demonstrado por LACASSE *et al.* ¹⁷¹ (1990). Os autores aplicaram *C. albicans* com *swab* na boca de camundongos e observaram a presença de candidose de 1 hora a 7 dias após a inoculação. Após 3 horas, os autores observaram presença de tubos germinativos na queratina e os focos de pseudohifas aumentavam progressivamente, atingindo máximo ao redor de 48 horas. A levedura colonizou a mucosa bucal dos camundongos até 7 dias após a inoculação.

O uso de antibióticos tem sido relatado como um importante fator predisponente à candidoses bucais, pela supressão da população bacteriana ²⁴³, já que a microbiota bucal indígena inibe o crescimento de *Candida* nas células epiteliais ⁴⁵. Em modelos experimentais, vários estudos sobre a patogênese da infecção por *Candida*, após a administração de antibióticos foram realizados ^{5,8,9,87,88,123,283}. Em candidose experimental do palato em macacos, o tratamento tópico prolongado com tetraciclina resultou em contínua proliferação de *C. albicans* e inflamação mais intensa ⁴². RUSSEL & JONES ²⁸³ (1973) relataram recuperação de *C. albicans* em todos os ratos normais 7 e 14 dias após última inoculação da levedura com o uso de antibióticos.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi verificar a recuperação de *C. albicans* e o desenvolvimento de candidose na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados, após uma e quatro inoculações de suspensão de *C. albicans*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais utilizados

Foram utilizados 404 camundongos (*Mus musculus*, albinos, Swiss), machos, pesando inicialmente de 25-30g, provenientes do Biotério Central da UNICAMP, os quais foram divididos em animais normais (controle) e sialoadenectomizados, de acordo com os experimentos realizados conforme Tabela 1.

TABELA 1 - Número de camundongos normais e sialoadenectomizados utilizados neste estudo, nos diferentes grupos experimentais estudados.

GRUPOS	CAMUNDONGOS		
	NORMAIS	SIALOADE- NECTOMIZADOS	TOTAL
Implantação e recuperação de <i>C. albicans</i> na cavidade bucal - 01 inóculo (<i>swab</i>)	20	20	40
Implantação e recuperação de <i>C. albicans</i> na cavidade bucal - 04 inóculos (seringa)	20	20	40
Candidose no dorso da língua - aplicação de <i>C. albicans</i> com <i>swab</i> - 01 inóculo	78	78	156
Candidose no dorso da língua - aplicação de <i>C. albicans</i> com seringa - 04 inóculos	78	78	156
Controles de candidose	06	06	12
TOTAL	202	202	404

Os camundongos foram mantidos em caixas plásticas individuais, desinfetadas semanalmente com hipoclorito de sódio a 2,5%. As

mamadeiras e bicos foram autoclavados em intervalos de 7 dias e os animais foram alimentados com ração comercial Labina (Purina) e água *ad libitum*.

4.2 Pesquisa do gênero *Candida* na cavidade bucal dos camundongos

Antes da inoculação, a presença de leveduras do gênero *Candida* foi verificada na cavidade bucal de todos os animais. Duas coletas foram realizadas com intervalo de uma semana, utilizando-se um mini-*swab* esterilizado, com movimentos delicados e giratórios, o material foi coletado da cavidade bucal. Imediatamente após, o material foi semeado em placas de Petri, contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco) com cloranfenicol (Quemíctina Succinato, Carlo Erba - 0,1mg/mL de meio) e incubado a 37°C durante 48h.

Após a incubação, foi observado se havia crescimento de colônias características de *Candida*, cujas colônias típicas se apresentavam com formato esférico, branco-foscas, aparência de porcelana, diâmetro entre 4 a 8 mm e odor característico. Dessas colônias e também daquelas que não apresentavam morfologia característica, foram feitos esfregaços, corados pelo método de Gram, observando-se em microscopia de luz, células ovaladas, grandes, Gram-positivas, com ou sem brotamento.

O mesmo procedimento foi repetido para os animais sialoadenectomizados, 7 e 15 dias após a cirurgia, para constatar se a mesma não favoreceu a implantação de *Candida* na cavidade bucal dos camundongos.

4.3 Sialoadenectomia

A obtenção de xerostomia foi feita baseando-se na técnica de CHEYNE ⁵⁷ (1939), modificada. Os camundongos foram anestesiados com solução de 20 mg de cloridrato de dihidrotiazina (Rompum, Bayer) e 50 mg de cloridrato de cetamina (Ketalar, Parke-Davis) para cada 100 g de peso do animal. Após tricotomia e anti-sepsia com álcool iodado a 2% na região cervical, foi realizada incisão de aproximadamente 3 cm, o tecido subjacente foi divulsionado e foram retiradas as glândulas salivares maiores (parótidas, submandibulares e sublinguais). As parótidas eram alongadas na direção céfalo-caudal e se estendiam desde a região do masseter à clavícula, com prolongamentos na margem ventral e caudal do ouvido externo e inseridos na área retroauricular. As glândulas submandibulares e sublinguais são proeminentes e ficam situadas na região infra-hióide, estendendo-se até o manúbrio, separadas por uma discreta camada de tecido conjuntivo, cuja aderência assume aspecto macroscópico de um bloco único, o que possibilita a sua remoção cirúrgica simultânea. Os linfonodos regionais foram preservados, e prevendo-se possíveis hemorragias, as glândulas foram removidas após ligadura prévia dos vasos sanguíneos de maior calibre que as irrigam.

4.4 Amostra de *Candida albicans*

Foi utilizada amostra de *C. albicans* (ATCC36801), proveniente da disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, a qual foi mantida em ágar Sabouraud

dextrose (Difco) inclinado. A amostra é produtora de proteinase, hialuronidase, condroitin-sulfatase e fosfatase, apresentando alta letalidade para camundongos quando inoculada por via endovenosa ¹². A amostra foi caracterizada através de toxinas *killer* como *triplet* 111.

4.5 Implantação e recuperação de *Candida albicans* na cavidade bucal dos camundongos

4.5.1 Inoculação da amostra de *Candida albicans*

C. albicans foi cultivada em placas contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco) de modo a se obter um crescimento maciço, o qual foi transferido com auxílio de alça de platina para tubos de ensaio contendo 5 mL de solução fisiológica esterilizada (NaCl a 0,9%) para obtenção da suspensão, a qual a seguir foi centrifugada a 2.000 rotações por minuto (r.p.m.) pelo tempo de 10 minutos. Desprezando-se o sobrenadante, o sedimento foi ressuspenso, repetindo-se o mesmo procedimento. Após a lavagem das células, o precipitado foi suspenso em 5mL de solução fisiológica e foi feita a homogeneização da suspensão e o número de células viáveis de *C. albicans* foi calculado. A contagem foi feita em câmara de Neubauer após coloração prévia com azul de metileno a 0,05% ²⁶⁸. A padronização da suspensão foi determinada obtendo-se 10⁹ células viáveis/mL.

Vinte (20) camundongos normais e vinte (20) sialoadenectomizados, receberam 04 inoculações intrabucais de 0,1 mL da suspensão de *C. albicans* em dias seguidos, sem uso prévio de anestésico. O

inóculo foi realizado com auxílio de seringa de 1 mL e agulha 30x8, com ponta-romba.

Vinte (20) camundongos normais e vinte (20) sialoadenectomizados, foram inoculados com *C. albicans* com auxílio de um *swab* esterilizado que foi embebido no sedimento de 5 mL de suspensão, contendo 10^9 células sendo a quantidade do inóculo calculado, pesando-se o *swab* anterior e posteriormente à sua colocação dentro do sedimento da suspensão, obtendo-se valores aproximados de 0,1mg.

Os animais receberam 01 inóculo bucal, sendo o palato e superfície dorsal da língua, os sítios preferenciais. Após as inoculações os animais ficaram privados de água pelo período de uma hora.

4.5.2 Recuperação e contagem de *C. albicans*

Após a administração dos inóculos, foi feita a recuperação da cavidade bucal dos animais, em intervalos de tempo de 1, 2, 3, 5, 8, 15 dias e, posteriormente em intervalos regulares de 15 dias até se obter culturas negativas para a levedura em cada animal.

A quantificação de leveduras foi realizada coletando-se saliva com auxílio de uma “bolinha de algodão” previamente esterilizada e pesada. O algodão foi introduzido na cavidade bucal com auxílio de pinça hemostática esterilizada e com movimentos suaves, passada pela mesma pelo tempo de 5 minutos. A seguir, após nova pesagem, o volume salivar foi obtido pela diferença de peso.

O material foi transferido para tubo de ensaio e o volume foi completado em 2 mL com solução fisiológica esterilizada. A suspensão foi homogeneizada em agitador de tubos (Vortex) por 60 segundos, foram

obtidas diluições decimais até 10^{-3} e alíquotas de 0,1 mL foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, em duplicata, sendo incubadas a 37°C por 48 horas e a seguir por mais 5 dias à temperatura ambiente.

Após período de incubação, colônias típicas da amostra de *Candida*, foram contadas em placas que exibiam entre 30 e 300 colônias. Nas culturas positivas cujas colônias apresentassem características que denotassem dúvidas, foram realizados esfregaços corados pelo método de Gram para confirmação da presença de leveduras.

A quantificação de *C. albicans* foi feita a partir do volume de saliva coletado e do número encontrado de unidades formadoras de colônias. Os resultados obtidos nas contagens de colônias (ufc/mL) foram convertidos em logaritmos.

4.5.3 Identificação e caracterização das amostras de *C. albicans* recuperadas

Em todos os períodos de coleta, placas com colônias características de *Candida*, de um animal normal (controle) e de um sialoadenectomizado, foram selecionadas de modo aleatório, para a obtenção de culturas puras, identificação e confirmação da espécie recuperada de acordo com SANDVEN³⁰¹ (1990), baseando-se nas seguintes características:

4.5.3.1 Formação de tubo germinativo

Uma alçada de cultura pura de 24 h da levedura foi adicionada em tubo de ensaio (13x170 mm), contendo 0,5 mL de soro estéril de coelho e incubada em banho-maria a 37°C por 2 a 3 horas. A formação de tubo

germinativo foi observada em microscopia de luz, colocando-se uma gota de suspensão entre lâmina e lamínula.

4.5.3.2 *Produção de clamidósporo (clamidoconídeos)*

Para a verificação da produção de pseudohifas e clamidósporos foi usado o meio ágar-fubá tween 80 (pH 5.6), com a seguinte constituição:

Fubá	40g
Ágar (Difco)	20g
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.º 40) e deixado em repouso para decantação. O ágar (Difco) foi fundido separadamente em 200 mL de água destilada e adicionado o tween 80 e o filtrado de fubá. Após a distribuição em Erlenmeyer de 50 mL, o meio foi autoclavado a 120°C/15 minutos e armazenado em geladeira.

Para a execução da prova, o ágar-fubá previamente fundido, foi distribuído em lâminas histológicas apoiadas sobre bastão de vidro em “U”, colocadas no interior de placas de Petri esterilizadas. Após solidificação do ágar, cada amostra de levedura a ser testada foi semeada em estria única na superfície do meio e foi colocada uma lamínula no centro da lâmina. Para evitar uma possível dessecação do meio, foi adicionado no fundo da placa algodão embebido em soro fisiológico também esterilizado. Este preparado foi incubado por 48 a 72 horas em temperatura ambiente, quando então foi

feita a leitura em microscopia de luz, observando-se a presença de clamidósporos, pseudohifas e blastoconídios.

4.5.3.3 *Fermentação de carboidratos (Zimograma)*

Para a realização da prova foi utilizado o meio caldo vermelho de fenol (Difco) distribuído em tubos de ensaio, com tubos de Durhan em seu interior e autoclavados a 120°C por 15 minutos. Cada açúcar (glicose, maltose, sacarose, galactose e lactose), esterilizado por filtração (filtro Millipore, GSWP-02500), foi adicionado de forma a se obter concentração de 1%. Os tubos foram semeados a partir de uma cultura pura de 24 horas da levedura em ágar Sabouraud dextrose. A leitura foi feita após 48 horas de incubação a 37°C e uma semana em temperatura ambiente.

4.5.3.4 *Assimilação de carboidratos (Auxanograma)*

Para verificação da assimilação de carboidratos pelas amostras de *Candida*, foi utilizado meio mínimo definido quimicamente, com a seguinte constituição:

Sulfato de amônia (Merk)	5 g
Sulfato ácido de potássio (Sigma)	1 g
Sulfato de magnésio (Sigma)	0,5 g
Ágar (Difco)	15 g
Água destilada	1000 mL

O meio foi distribuído em tubos de ensaio (20 mL), autoclavado a 120°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°C) foi vertido na placa sobre a suspensão da levedura (semeadura em *pour plate*).

Após a solidificação, discos de filtro previamente embebidos em solução de 10% de glicose, maltose, galactose, sacarose e lactose foram colocados na superfície do meio a intervalos regulares de espaço. Após incubação de 72 horas a 37°C , a leitura foi feita pela observação de halo de crescimento ao redor do disco de papel, significando que o microrganismo assimilou aquele açúcar como fonte de carbono.

4.5.3.5 Análise e interpretação das provas

A interpretação dos resultados foi feita comparando-se o padrão mostrado pela amostra antes e após a recuperação da cavidade bucal dos camundongos.

Em microcultivo, a amostra de *C. albicans* testada apresentava abundante formação de pseudohifas, podendo-se detectar hifas verdadeiras e produção de clamidósporos. Em soro a 37°C , produziu tubo germinativo, característico. Fermentava a glicose e maltose, não ocorrendo o mesmo com a lactose, sacarose e galactose. Como fontes de carbono, assimilava glicose, galactose, maltose e sacarose.

4.5.4 Verificação do fator *killer* nas amostras de *C. albicans* recuperadas da cavidade bucal dos camundongos

Para a realização desta prova, as amostras de *C. albicans* isoladas previamente e as cepas produtoras de toxinas *killer* foram repicadas

em ágar Sabouraud dextrose (Difco), 24 horas antes da execução do teste. O meio de cultura utilizado para realizar o teste, apresentou a seguinte constituição:

Peptona (Difco)	10,0 g
Dextrose (ECIBRA)	20,0 g
Ágar (Difco)	20,0 g
Azul de metileno	30,0 mg
Tampão ácido-citríco fosfato	1.000 mL

O meio ajustado em pH $4,5 \pm 0,2$ a 25°C , foi esterilizado e distribuído em tubos de ensaio (20 mL). Foi feita uma suspensão em solução de NaCl a 0,85% de cada amostra de *C. albicans* a ser testada com turvação obedecendo o número 3 na escala de McFarland. Inóculos de 0,1 mL da suspensão foram vertidos nas placas de Petri e a seguir adicionado o meio descrito, previamente liquefeito e resfriado a 55°C - 56°C .

As placas foram homogeneizadas e após solidificação, as leveduras produtoras de toxinas *killer* foram semeadas por “picada” com auxílio de agulha de platina. A incubação foi feita a 25°C por 72 h.

As amostras foram testadas frente às cepas produtoras citadas na Tabela 2. As cepas são procedentes do Departamento de Microbiologia ICB/USP).

TABELA 2 - Cepas produtoras de toxinas *killer* frente às quais foram testadas as amostras de *Candida albicans* isoladas da cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados.

AMOSTRA DO FUNGO	PROCEDÊNCIA	NÚMERO	K
<i>Hansenula</i>	Stumm	1034	k1
<i>Pichia sp</i>	Stumm	1034	k2
<i>Hansenula anomala</i>	Um Milano		k3
<i>Hansenula anomala</i>	CBC	5759	k4
<i>Hansenula anomala</i>	Aheam UN	866	k5
<i>Hansenula californica</i>	Aheam WC	40	k6
<i>Hansenula canadensis</i>	Aheam WC	41	k7
<i>Hansenula dimennae</i>	Aheam WC	44	k8
<i>Hansenula mrakii</i>	Aheam WC	51	k9

Para a interpretação dos resultados de leitura, foram considerados sensíveis (+), os cultivos que produziram halo de inibição em torno do crescimento das cepas-padrão e resistentes (-), aqueles que exibiram crescimento próximo às cepas-padrão. (Figura 1).

Após a leitura, os resultados da biotipagem foram caracterizados conforme modelo esquemático proposto por POLONELLI & MORACE²⁵⁷ (1986), composto por 3 dígitos, cada um representando uma combinação dos resultados obtidos no *triplet* de três cepas. (Tabela 3).

TABELA 3 - Modelos de Biotipo *killer*, segundo POLONELLI & MORACE²⁵⁷ (1986)

Atividade do 1°. triplet				Atividade do 2°. triplet				Atividade do 3°. triplet			
Leveduras				Leveduras				Leveduras			
k1	k2	k3	Código	k1	k2	k3	Código	k1	k2	k3	Código
+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1
+	+	-	2	+	+	-	2	+	+	-	2
+	-	+	3	+	-	+	3	+	-	+	3
-	+	+	4	-	+	+	4	-	+	+	4
+	-	-	5	+	-	-	5	+	-	-	5
-	+	-	6	-	+	-	6	-	+	-	6
-	-	+	7	-	-	+	7	-	-	+	7
-	-	-	8	-	-	-	8	-	-	-	8

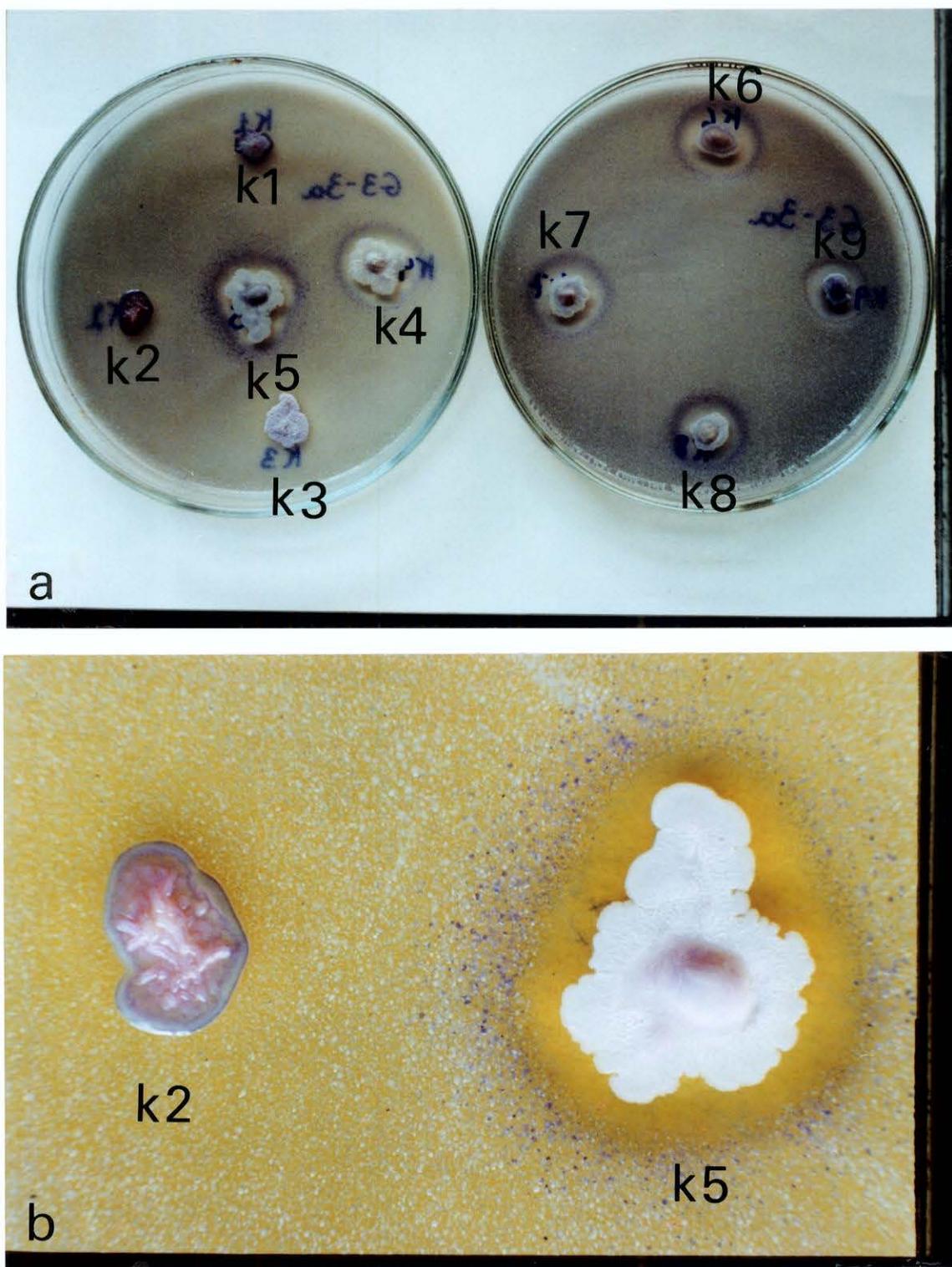


FIGURA 1 - Verificação do fator *killer* nas amostras de *C. albicans*. **A**: observa-se halos de sensibilidade da amostra testada frente aos microrganismos k4, k5, k6, k7, k8, k9 e crescimento para k1, k2 e k3. A amostra é classificada como biotipo 311. **B**: maior detalhe de A, mostrando resistência em k2 e sensibilidade em k5.

4.6 Modelo experimental de candidose bucal em camundongos

4.6.1 Indução de candidose após uma inoculação de *C. albicans* na cavidade bucal de camundongos

Foram utilizados 156 animais, sendo 78 camundongos normais (controle) e 78 camundongos sialoadenectomizados. Como a infecção foi proposta em vários intervalos de tempo, os animais de ambos os grupos foram distribuídos em número de 06 (seis) para cada grupo.

Os animais foram inoculados uma única vez, na cavidade bucal com 0,1 mg do sedimento de 5 mL de suspensão de *C. albicans* contendo 10^9 células, com auxílio de *swab* conforme descrito anteriormente. Após 1, 2, 3, 5, 8, 15 e intervalos de 15 dias da inoculação até 165 dias, foi coletado sangue dos animais e os mesmos foram sacrificados. A seguir, foi retirada a língua, fixada em formol salino a 10% (formol: 100 mL; NaCl: 8,5 g; água destilada: 900 mL) e processada para análise histológica.

4.6.2 Indução de candidose após quatro inoculações de *C. albicans* na cavidade bucal de camundongos

Foram utilizados 156 camundongos, sendo 78 normais e 78 sialoadenectomizados, os quais foram divididos em grupos de 06 animais.

Os animais receberam um total de 04 inóculos intrabucais, que foram aplicados durante 04 dias consecutivos, com uso de seringa. Após a última inoculação, 06 animais de cada grupo foram sacrificados em intervalos de tempo de 1, 2, 3, 5, 8, 15 dias e a seguir, em intervalos regulares de 15 dias, até o total de 165 dias. As línguas foram retiradas, fixadas em formol salino a 10% e processadas para análise histológica.

4.6.3 Observações microscópicas de candidose no dorso da língua de camundongos

A candidose foi observada nos mesmos períodos correspondentes à recuperação de *C. albicans* com 01 e 04 inóculos da levedura. Em cada período foram utilizados 06 (seis) animais normais e 06 (seis) sialoadenectomizados.

As línguas previamente fixadas em formol salino a 10% foram processadas para análise histológica, sendo seccionada longitudinalmente e as duas porções incluídas em parafina.

Foram obtidos cortes semi-seriados, permitindo análise da porção central, lateral e da borda da língua (designados respectivamente, regiões A, B e C). Os cortes obtidos de 5 μ m foram corados pelas técnicas de Hematoxilina-Eosina (H & E), ácido periódico de Schiff (P.A.S.), com fundo de hematoxilina e Gomori-Grocott.

A presença de candidose foi verificada por toda a extensão da língua nos 6 (seis) cortes obtidos de cada animal. A descrição das áreas de candidose foi realizada levando-se em consideração a localização, extensão e alterações dos tecidos envolvidos.

As documentações foram feitas num fotomicroscópio (Zeiss) da disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP.

4.7 Pesquisa de anticorpos anti-*Candida* no soro dos camundongos inoculados

Foi pesquisado o anticorpo IgG, no soro de camundongos normais (controles) e sialoadenectomizados que receberam inóculos de *C. albicans* na cavidade bucal. Para a pesquisa de imunoglobulina, foi utilizada a técnica de ELISA.

4.7.1 Obtenção do soro

Amostras de sangue foram coletadas em tubos tipo *ependorf*, utilizando-se seringas descartáveis de 1 mL, sem agulha.

Após anestesia foi feita tricotomia da porção axilar direita dos camundongos e aberta uma pequena incisão de aproximadamente 1,0 cm. O sangue foi extraído da veia braquial, com auxílio de seringas descartáveis de 1 mL sem agulha, e foi transferido para os tubos tipo *ependorf*. Após incubação a 37°C por 01 hora e manutenção durante 12 horas a 4°C, o coágulo era deslocado e o soro centrifugado a 2.000 r.p.m./10 minutos e armazenado a -20°C até o momento da análise. Imediatamente antes do uso as amostras eram descongeladas e diluídas 1:100 em PBS-Tween-gelatina (tampão fosfato-salino; 0,1% de Tween e 0,5% de gelatina).

4.7.2 Preparo do antígeno de *Candida*

A preparação do antígeno foi feita de acordo com o proposto por GOMEZ *et al.*¹¹⁰ (1992), a partir da amostra de *C. albicans* (ATCC36801) cultivada em caldo Sabouraud dextrose (Difco) a 37°C durante 72 horas sob agitação. A cultura foi centrifugada a 2.000 r.p.m./20 minutos,

desprezando-se o sobrenadante e suspendendo-se o sedimento em tampão PBS e feita novamente a centrifugação. As células foram lavadas por mais 2 vezes, obedecendo o mesmo procedimento. A seguir, o sedimento foi suspenso em tampão Tris-HCl ((hidroximetil) aminometano) 0,5M, EDTA 50 mM, pH 7,5.

O material solúvel foi separado por centrifugação (15.000 r.p.m./20 minutos), à temperatura de 4°C, dializado contra água bidestilada por 24 horas e liofilizado.

4.7.3 Técnica ELISA

Placas de polistireno, com 96 orifícios (Hemobag), foram sensibilizadas com 50 µl de antígeno (5 µg/mL) de *C. albicans* em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6, incubadas por 2 horas em estufa a 37°C e guardadas a 4°C até o uso. Antes de sua utilização, as placas foram lavadas uma vez com PBS, pH 7,3 e os sítios livres do polistireno, bloqueados com 0,5% de gelatina em PBS, por 45 minutos a 37°C.

Após a incubação, as placas foram lavadas 4 vezes com PBS, contendo 0,1% de Tween 20. As amostras previamente preparadas foram colocadas nos orifícios, em duplicata e as placas incubadas a 37°C por 2 horas e a 4°C por uma noite. No dia seguinte, as placas foram lavadas 5 vezes com PBS-Tween-gelatina, pH 7,3 e 50 µl do conjugado anti-IgG de camundongo (Sigma), marcado com peroxidase; foram adicionados aos orifícios numa concentração de 1 µg/mL.

A atividade de peroxidase foi revelada utilizando-se o substrato ortofenilenodiamino 6 mg em 12 mL de tampão citrato-ácido cítrico 0,1M, pH 5,5 e adicionando-se 10 µl de H₂O₂ a 30%. A reação com o substrato

(100 μ l) foi desenvolvida por 5 a 30 minutos à temperatura ambiente e imediatamente bloqueada com 50 μ l de ácido sulfúrico 2N. As densidades ópticas (DO) foram lidas a 492 nm em leitor ELISA (BIO-RAD 450). O controle positivo usado para a reação foi soro de camundongos normais e sialoadenectomizados não inoculados com *C. albicans*.

4.8 Análise estatística

A análise estatística para a recuperação de *C. albicans* da cavidade bucal de camundongos foi realizada utilizando-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney, considerando-se níveis de significância de 1 e 5%. Para comparação entre as médias obtidas para camundongos normais e sialoadenectomizados, foi utilizado o teste *t* de *Student*, considerando-se nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Presença de *Candida albicans* na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados

Nos 404 camundongos (*Mus musculus*, albinos, Swiss) utilizados no presente trabalho, anteriormente aos tratamentos utilizados, verificou-se a possível presença de *C. albicans* na cavidade bucal. Nenhum animal apresentou esta espécie como comensal. Após a sialoadenectomia, os animais foram novamente observados quanto à presença de *C. albicans* na boca, o que também não ocorreu, de forma que a retirada das glândulas salivares maiores, por si só, não alterou o estado de não portador dos animais utilizados. Como o número de animais testados foi razoável (404), pode-se inferir que *C. albicans* não é habitual na cavidade bucal dos camundongos, pelo menos naqueles provenientes do biotério da Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP.

5.2 Quantificação de saliva na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados

Camundongos sialoadenectomizados mostraram intensa xerostomia durante todo o período experimental, com ressecamento da mucosa bucal e alta viscosidade da saliva presente. Os animais demonstraram desenvolvimento e aumento de peso semelhante aos normais, não ocorrendo modificações na quantidade de saliva coletada dos camundongos sialoadenectomizados durante todo o período experimental.

Os camundongos sialoadenectomizados apresentaram quantidade de saliva muito menor que os normais, conforme pode ser observado nos Anexos 2 e 4 , páginas 144 e 146.

5.3 Recuperação de *Candida albicans* da cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados

Os resultados obtidos na recuperação de *C. albicans* da cavidade bucal dos camundongos normais após uma inoculação de 10^8 células da levedura, encontram-se na Tabela 4. Pode-se observar nesta tabela, que *C. albicans* foi recuperada de todos os animais 1 e 2 dias após inóculo. A seguir ocorreu declínio no número de camundongos positivos, para 17 após 3 dias, 14 após 5 dias, 3 após 8 dias, 5 após 15 dias e 1 após 30 dias. Nos períodos de 45, 60 e 75 dias após inóculo, *C. albicans* não foi mais recuperada.

Nos camundongos submetidos à sialoadenectomia, conforme pode ser observado na Tabela 5, a recuperação ocorreu em todos os animais após 1 e 2 dias da inoculação, decaindo a seguir para 15 animais após 3 dias; 16 após 5 dias, 7 após 8 dias, 12 após 15 dias, 6 após 30 dias, 2 após 45 e 60 dias e 1 após 75 dias. A análise estatística realizada utilizando-se teste não paramétrico de Mann-Whitney demonstrou diferença significativa ao nível de 5% nos períodos de recuperação de 1 a 30 dias nos camundongos sialoadenectomizados (Tabela 5) em relação aos normais (Tabela 4). A comparação entre o número de animais positivos estão expressos na Tabela 6, na qual pode-se verificar comportamento semelhante nos dois grupos até o quinto dia, seguindo-se presença de *C. albicans* em maior número de animais

sialoadenectomizados. As médias do logaritmo das ufc/mL de *C. albicans* recuperada, foram maiores nos camundongos sialoadenectomizados, porém esta diferença não foi significativa.

Os resultados obtidos na recuperação de *C. albicans* após 4 inoculações da levedura encontram-se na Tabela 7 para camundongos normais e na Tabela 8 para animais sialoadenectomizados. A análise estatística comprovou diferença significativamente maior na recuperação de *C. albicans* nos animais sialoadenectomizados (Tabela 8) em relação aos normais (Tabela 7), para os períodos de 1 a 195 dias após inoculações. Na comparação entre os dois grupos (Tabela 9), pode-se verificar comportamento semelhante até 8 dias após inoculação, seguindo-se recuperação maior nos animais sialoadenectomizados até 255 dias após inoculação. Nos períodos de 30 até 195 dias, a quantidade de *C. albicans* recuperada foi maior, com diferença significativa, nos camundongos sialoadenectomizados em relação aos normais.

A cada recuperação de leveduras da cavidade bucal dos camundongos, após a contagem do número de ufc/mL de colônias características de *Candida*, uma amostra proveniente de animal normal e uma de sialoadenectomizado foi isolada, identificada em nível de espécie e tipada através da verificação do fator *killer*. Todas as amostras eram *C. albicans*, biotipo *killer* 111; o mesmo biotipo da amostra que foi inoculada, o que confirma, portanto, que a amostra recuperada é a mesma que foi utilizada para as inoculações. (resultados em Anexos 5, 6, 7 e 8, páginas 147 a 151).

TABELA 4 – Logaritmo das ufc/mL de *C. albicans* recuperadas da cavidade bucal de camundongos normais (n=20) após uma inoculação com 10^8 células viáveis da levedura, nos diversos periodos de tempo observados.

DIAS	CAMUNDONGOS NORMAIS																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	3,40	3,34	4,59	4,67	3,53	3,88	3,46	4,35	3,41	4,04	3,46	3,28	3,87	4,58	4,57	3,71	4,12	3,61	4,01	4,27
2	3,69	1,82	4,06	3,85	2,57	3,78	2,99	4,93	2,96	3,23	2,97	2,94	4,87	3,41	4,36	3,86	4,48	4,38	4,32	2,39
3	0	0	4,38	4,51	2,03	3,66	1,96	4,10	3,71	2,43	0	3,25	3,45	3,16	3,66	3,58	3,15	2,99	4,39	3,06
5	0	0	1,81	1,79	1,88	0	0	0	4,01	2,39	0	2,47	2,50	3,25	2,24	2,26	3,40	2,72	2,30	2,00
8	0	0	0	0	0	0	0	0	4,06	0	0	0	0	0	0	0	2,85	4,01	0	0
15	0	0	0	0	0	1,79	0	0	0	0	0	0	4,49	0	0	1,85	1,94	1,90	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	2,41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

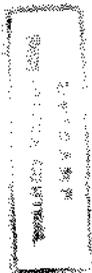


TABELA 5 – Logaritmo das ufc/mL de *C. albicans* recuperadas da cavidade bucal de camundongos sialoadenectomizados (n = 20) após uma inoculação com 10^8 células viáveis da levedura, nos diversos periodos de tempo observados.

DIAS	CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	4,18	4,64	4,63	4,56	4,07	4,07	4,49	4,26	5,19	5,43	5,28	4,97	4,65	6,05	5,94	5,81	5,85	4,90	6,47	5,16 * , **
2	3,15	3,04	2,66	2,97	5,87	3,75	3,66	4,13	3,41	4,32	3,83	4,06	4,94	4,65	4,32	3,04	4,27	4,86	5,17	4,81 * , **
3	0	0	2,92	0	4,11	0	0	2,63	2,85	4,65	3,47	2,94	3,55	2,84	2,36	5,42	3,75	4,28	4,59	3,11 * , **
5	0	0	3,47	2,74	2,66	2,77	3,17	2,95	3,28	2,97	0	3,53	3,73	0	2,82	3,47	3,15	4,33	3,57	2,85 * , **
8	0	0	0	0	0	3,36	0	0	0	0	0	3,72	2,84	0	5,16	5,20	2,35	3,81	0	0 **
15	4,00	5,73	3,56	0	2,89	0	0	0	2,41	4,09	3,13	0	0	2,89	2,71	0	3,40	4,90	0	3,21 **
30	0	0	3,39	0	3,92	0	0	0	0	0	0	0	0	2,74	0	0	2,73	5,47	0	3,71 **
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,21	6,33	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,41	6,09	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6,26	0	0

* Estatisticamente significativo ao nível de 1% (Teste não paramétrico de Mann-Whitney) em relação aos camundongos normais (Tabela 4)

** Estatisticamente significativo ao nível de 5% (Teste não paramétrico de Mann-Whitney) em relação aos camundongos normais (Tabela 4)

TABELA 6 - Número de camundongos normais e sialoadenectomizados que apresentaram *C. albicans* na cavidade bucal após uma inoculação com 10^8 células viáveis da levedura. Estão apresentadas também as médias dos logaritmos das ufc/mL de *C. albicans* recuperadas dos animais positivos, as quais não apresentaram diferença estatística ao nível de 5% (Teste *t* de Student).

DIAS	CAMUNDONGOS NORMAIS			CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS		
	NÚMERO	(n=20) %	MÉDIA ufc/mL	NÚMERO	(n=20) %	MÉDIA ufc/mL
1	20	100	3,91 ± 0,47	20	100	5,03 ± 0,71
2	20	100	3,59 ± 0,85	20	100	4,05 ± 0,85
3	17	85	3,38 ± 0,75	15	75	3,56 ± 0,88
5	14	70	2,50 ± 0,65	16	80	3,22 ± 0,45
8	3	15	3,64 ± 0,68	7	35	3,77 ± 1,08
15	5	25	2,39 ± 1,17	12	60	3,58 ± 0,96
30	1	5	2,41 ± 0,00	6	30	3,66 ± 1,01
45	0	0	-	2	10	5,27 ± 1,50
60	0	0	-	2	10	4,75 ± 1,90
75	0	0	-	1	5	6,26 ± 0,00

TABELA 8 – Logaritmo das ufc/mL de *C. albicans* recuperadas da cavidade bucal de camundongos sialoadenectomizados após quatro inoculações com 10^8 células viáveis da levedura, nos diversos periodos de tempo observados.

DIAS	CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	5,63	4,34	5,55	5,46	4,61	5,07	5,37	5,60	5,18	4,72	5,17	5,26	4,80	5,60	4,42	4,50	3,97	5,29	5,04	4,19 *	**
2	4,85	4,42	5,28	4,46	4,38	4,97	5,07	4,28	4,73	4,38	4,91	5,13	4,52	5,55	4,59	5,29	5,18	4,60	4,71	4,50 *	**
3	4,49	4,73	5,28	4,89	4,22	4,96	4,81	5,68	5,78	4,83	5,52	5,31	4,64	5,43	5,41	5,42	5,02	4,55	4,83	5,41 *	**
5	4,03	3,83	5,24	4,47	5,73	4,60	4,88	5,48	5,32	5,00	5,19	4,61	5,04	5,02	4,23	3,97	4,28	3,66	4,71	5,38 *	**
8	4,04	3,85	4,03	4,14	4,53	5,15	5,48	5,18	4,92	4,59	5,55	4,72	5,18	5,36	5,37	3,82	5,30	3,96	4,70	4,91 *	**
15	2,83	2,72	2,66	4,43	3,72	4,09	4,63	4,47	3,63	4,01	3,85	4,48	2,34	5,23	4,40	3,52	3,08	3,72	4,32	4,00 *	**
30	0	0	2,62	3,40	3,62	3,56	5,11	3,04	4,01	2,86	4,03	3,35	3,20	4,61	4,23	4,23	0	0	4,92	4,26 *	**
45	0	-	2,86	3,10	3,01	4,25	4,91	2,64	5,48	0	5,06	3,38	3,90	4,53	2,81	0	3,38	3,88	4,77	4,25 *	**
60	0	-	2,61	0	3,25	2,73	5,05	0	5,83	5,54	0	0	3,41	0	0	3,37	0	2,95	-	5,01 *	**
75	0	-	0	2,74	3,94	2,99	5,37	0	5,46	4,90	0	0	3,28	0	0	3,07	0	4,10	-	0	**
90	0	-	4,81	0	0	3,20	3,53	0	5,74	5,18	0	0	4,09	0	0	0	0	5,16	-	0	**
105	0	-	0	0	2,69	3,31	5,93	0	5,85	5,46	0	0	0	0	0	3,00	0	-	-	0	**
120	0	-	3,35	0	3,35	4,15	6,06	0	5,91	5,69	0	0	4,14	0	0	4,81	0	-	-	3,44	**
135	0	-	3,87	0	3,19	3,74	5,62	0	5,20	5,56	0	0	3,69	0	0	0	0	-	-	3,31	**
150	0	-	0	0	0	2,87	5,85	0	5,71	5,12	0	0	4,12	0	0	0	0	-	-	0	**
165	0	-	0	0	0	4,15	5,48	0	5,18	5,08	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	**
180	0	-	0	0	0	3,85	5,43	0	5,80	5,37	0	0	2,96	0	0	0	0	-	-	0	**
195	0	-	0	0	0	4,07	5,33	0	5,76	5,26	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	**
210	0	-	0	0	0	-	-	0	-	4,59	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	
225	0	-	0	0	0	-	-	0	-	5,36	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	
240	0	-	0	0	0	-	-	0	-	5,76	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	
255	0	-	0	0	0	-	-	0	-	6,31	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	

(-) : Morte do animal.

* Estatisticamente significativo ao nível de 1% (Teste não paramétrico de Mann-Whitney) em relação aos camundongos normais (Tabela 7).

** Estatisticamente significativo ao nível de 5% (Teste não paramétrico de Mann-Whitney) em relação aos camundongos normais (Tabela 7).

TABELA 9 - Número de camundongos normais e sialoadenectomizados que apresentaram *C. albicans* na cavidade bucal após quatro inoculações com 10^8 células viáveis da levedura. Estão apresentadas também as médias dos logaritmos das ufc/mL de *C. albicans* recuperadas dos animais positivos.

DIAS	CAMUNDONGOS NORMAIS (n=20)			CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS (n=20)			
	NÚMERO	%	MÉDIA ufc/mL	NÚMERO	%	MÉDIA ufc/mL	n
1	20	100	4,09 ± 0,72	20	100	4,99 ± 0,51	20
2	20	100	3,98 ± 0,49	20	100	4,79 ± 0,37	20
3	20	100	4,12 ± 0,56	20	100	5,06 ± 0,44	20
5	20	100	4,15 ± 0,75	20	100	4,73 ± 0,59	20
8	20	100	4,01 ± 0,70	20	100	4,74 ± 0,59	20
15	15	75	2,86 ± 0,68	20	100	3,81 ± 0,76	20
30	11	55	2,39 ± 0,48	15	75	3,82 ± 0,73 *	20
45	12	60	2,78 ± 0,78	16	84,2	3,89 ± 0,90 *	19
60	5	25	2,08 ± 0,46	10	55,5	4,00 ± 1,29 *	18
75	4	20	1,43 ± 0,94	9	50,0	3,98 ± 1,05 *	18
90	3	15	1,85 ± 0,46	7	38,9	4,53 ± 0,94 *	18
105	4	20	2,02 ± 0,37	6	35,3	4,37 ± 1,53 *	17
120	3	15	2,19 ± 0,20	9	52,9	4,54 ± 1,12 *	17
135	1	5	1,61 ± 0,00	8	47,1	4,27 ± 1,02 *	17
150	2	10	1,77 ± 0,25	5	29,4	4,74 ± 1,24 *	17
165	1	5	1,39 ± 0,00	4	23,5	4,97 ± 0,57 *	17
180	2	10	2,24 ± 0,13	5	29,4	4,68 ± 1,22 *	17
195	1	5	2,15 ± 0,00	4	23,5	5,11 ± 0,72 *	17
210	0	0	-	1	7,1	4,59 ± 0,00	14
225	0	0	-	1	7,1	5,36 ± 0,00	14
240	0	0	-	1	7,1	5,76 ± 0,00	14
255	0	0	-	1	7,1	6,31 ± 0,00	14

* Diferença significativa entre os logaritmos das médias de ufc/mL em relação aos normais, ao nível de 5% (Teste *t* de Student).

5.4 Candidose na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados

Analisando-se os cortes histológicos obtidos das línguas dos camundongos submetidos à inoculação de suspensão contendo 10^8 células viáveis de *C. albicans*, observou-se que o desenvolvimento de candidose ocorreu em maior número nos camundongos sialoadenectomizados, considerando-se uma ou quatro inoculações da suspensão (Tabelas 10, 11 e 12). Nos animais que receberam 4 inoculações de suspensão de *C. albicans*, candidose estava presente em 83,3% ou 100% dos camundongos até 8 dias após o último inóculo, ocorrendo decréscimo após 15 dias, para 33,3% dos animais. Após 115 dias da última inoculação, apenas 1 (16,6%) animal apresentou candidose. Nos animais que receberam uma inoculação de suspensão de *C. albicans*, candidose foi verificada nos cortes histológicos da língua de 33,3% dos animais até o período de 15 dias, diminuindo a seguir para 16,6% dos animais até 75 dias após inoculação. Após este período, nenhum animal foi positivo para candidose. Nos camundongos xerostômicos, as áreas de candidose apresentavam-se mais extensas, observando-se infecção por toda a superfície da língua, com a presença de pseudohifas e leveduras penetrando no epitélio das regiões central, lateral e borda da língua.

Considerando-se os animais normais, não se observou diferença na quantidade de camundongos com candidose após uma ou 4 inoculações de suspensão de *C. albicans*. Após uma inoculação, um animal apresentou candidose no dorso da língua após 8 dias da inoculação. Após 4 inoculações, um camundongo apresentou candidose na língua, na leitura de 45 dias.

TABELA 11 - Número de camundongos normais e sialoadenectomizados que apresentaram candidose no dorso da língua, verificada através de cortes histológicos, após uma e quatro inoculações de *C. albicans* na cavidade bucal. Os cortes foram obtidos em 3 regiões do dorso da língua: porção central (A), lateral (B) e borda da língua (C).

PERÍODO	CAMUNDONGOS NORMAIS (n=6)						CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS (n=6)					
	4 inoculações			1 inoculação			4 inoculações			1 inoculação		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1	0	0	0	0	0	0	6	6	6	1	2	1
2	2	1	1	0	0	0	5	5	5	0	0	1
3	0	1	1	0	0	0	6	6	6	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	4	4	5	1	1	1
8	0	0	0	0	1	0	5	5	5	2	2	2
15	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1
30	0	0	0	0	0	0	1	2	3	1	1	1
45	1	1	1	0	0	0	2	2	1	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
90	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
115	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
165	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A: porção central do dorso da língua; B: porção lateral; C: borda do dorso da língua

TABELA 12 - Médias e desvio-padrão da quantidade de candidose produzida por uma e quatro inoculações de *C. albicans*, na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados. Para cada animal considerou-se 6 regiões da língua (cortes sagitais): porção central do lado direito e esquerdo, porção lateral do lado direito e esquerdo e borda da língua do lado direito e esquerdo.

PERÍODO DIAS	CAMUNDONGOS NORMAIS (n=6)		CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS (n=6)	
	4 inoculações	1 inoculação	4 inoculações	1 inoculação
1	0	0	4,17 ± 1,60	1,17 ± 2,04
2	0,67 ± 1,21	0	5,00 ± 2,45 *	0,16 ± 0,41
3	1,00 ± 2,45	0	4,33 ± 1,03 *	0
5	0	0	3,83 ± 2,71	0,50 ± 1,22
8	0	0,17 ± 0,41	3,33 ± 2,34	1,66 ± 1,47 *
15	0	0	1,66 ± 2,66	0,83 ± 1,60
30	0	0	1,66 ± 2,42	1,00 ± 2,45
45	0,17 ± 0,41	0	1,83 ± 2,40 *	0
60	0	0	0,50 ± 1,22	0
75	0	0	0,50 ± 1,22	1,00 ± 2,45
90	0	0	0,50 ± 1,22	0
115	0	0	0,50 ± 1,22	0
165	0	0	0	0

* Diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% (Teste *t* de Student) em relação aos normais.

No exame histológico dos camundongos que não receberam inoculações de *C. albicans* (grupo controle, n=6), efetuou-se análise microscópica do epitélio da porção bucal do dorso da língua dos animais. A língua do camundongo é um órgão muscular revestido por epitélio queratinizado, formado de uma região superior, o dorso e uma inferior, o ventre. O dorso da língua apresenta porção bucal que se estende desde a ponta da língua até a papila valada e uma porção faríngea, posterior a esta papila. A porção bucal do dorso da língua divide-se em duas partes: os 2/3 anteriores que apresentam sulco mediano na direção do longo eixo, e o tubérculo intermolar que corresponde ao terço posterior.

O dorso da língua é revestido por epitélio pavimentoso estratificado ortoqueratinizado, formando interdigitações com o conjuntivo subjacente. Estão presentes projeções, as papilas filiformes, classificadas em três tipos: cônicas simples, nos 2/3 anteriores (Figura 2); verdadeiras, no tubérculo intermolar (Figura 3); e gigantes, na região que separa as papilas cônicas das verdadeiras (Figura 4).

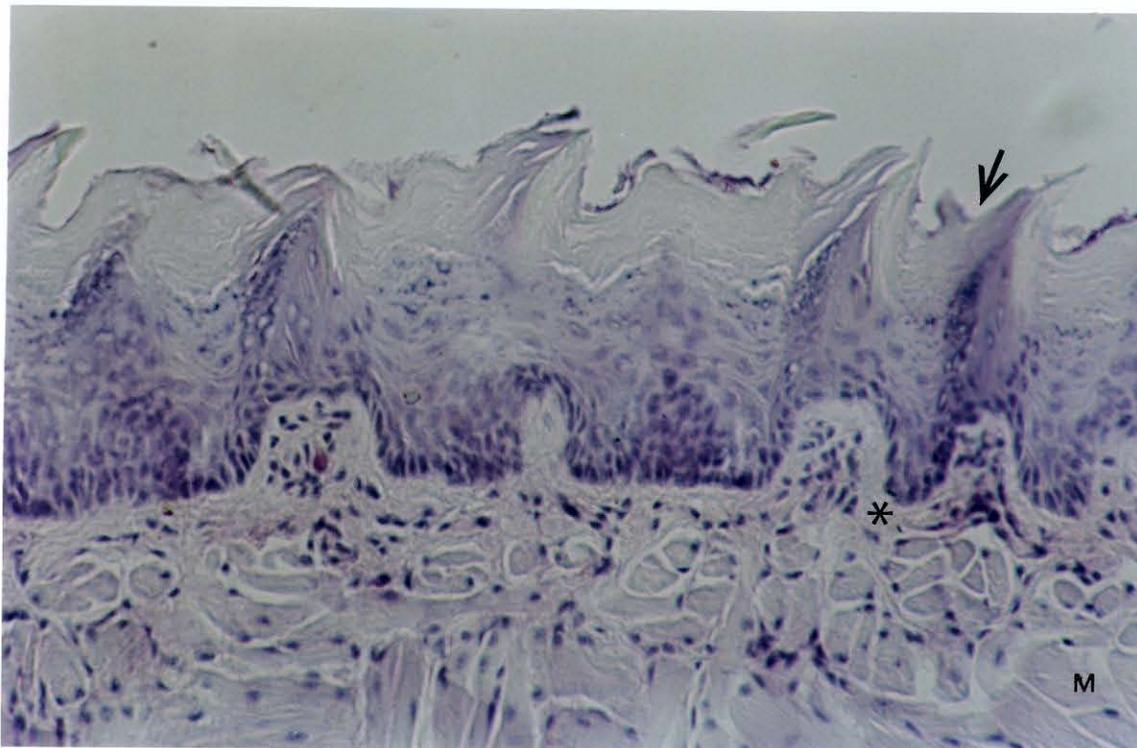


FIGURA 2 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo normal, que não foi inoculado com suspensão de *C. albicans*. Observa-se papilas cônicas simples (seta), com tecido conjuntivo seguindo o padrão morfológico da superfície (*). Abaixo do conjuntivo subepitelial, a língua é formada por tecido muscular estriado (M). Coloração P.A.S. (aumento 200x).



FIGURA 3 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo normal, que não foi inoculado com suspensão de *C. albicans*. Observa-se papilas verdadeiras (seta), com tecido conjuntivo seguindo o padrão morfológico da superfície (*). Abaixo do conjuntivo subepitelial, a língua é formada por tecido muscular estriado (M), estando presentes ácinos de glândulas salivares menores (G). Coloração P.A.S. (aumento 200x).

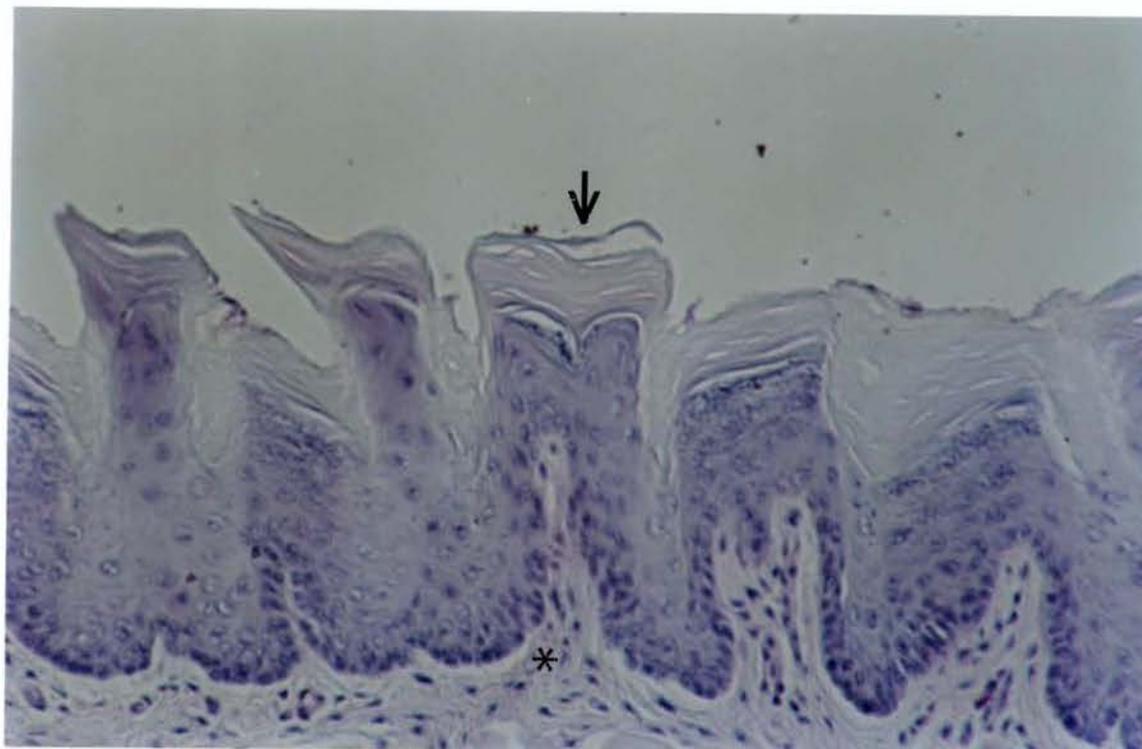


FIGURA 4 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo normal, que não foi inoculado com suspensão de *C. albicans*. Observa-se papilas gigantes (seta), com tecido conjuntivo seguindo o padrão morfológico da superfície (*). Coloração P.A.S. (aumento 200x).

A seguir, os aspectos histológicos de alterações no epitélio e presença de candidose nos cortes obtidos da porção bucal do dorso da língua dos camundongos, estão descritos nos diferentes períodos de tempo após inoculação de 10^8 células de *C. albicans*:

• 24 horas após inoculação de *C. albicans*:

Após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans*, nenhum camundongo normal apresentou candidose, observando-se apenas algumas células de levedura aderidas nas superfícies das papilas linguais. Nos animais sialoadenectomizados, presença de pseudohifas no interior do epitélio foram observadas em todas regiões do dorso da língua dos camundongos observados (Figura 5). As áreas com candidose foram intensas e freqüentes em toda a superfície da língua, ocorrendo discreta prevalência nas papilas verdadeiras e papilas cônicas simples.

Nas áreas com candidose, o epitélio da superfície da língua apresentava aplainamento das papilas, hiperqueratose, acantose e presença de polimorfonucleares neutrófilos, com formação freqüente de microabscessos intraepiteliais. A extensão das lesões foi variável, podendo-se encontrar presença de pseudohifas em apenas uma papila, ou áreas de intensa proliferação de pseudohifas, atingindo regiões compreendendo em torno de 10 papilas. Observou-se também, áreas onde o aspecto histológico do epitélio sugeria que havia ocorrido candidose no local, encontrando-se em processo de resolução.

Após uma inoculação de suspensão de *C. albicans*, candidose foi observada no dorso da língua de dois camundongos sialoadenectomizados. Os animais apresentaram penetração de pseudohifas apenas na região das

papilas cônicas simples, com presença de polimorfonucleares neutrófilos e formação de microabscessos intraepiteliais.

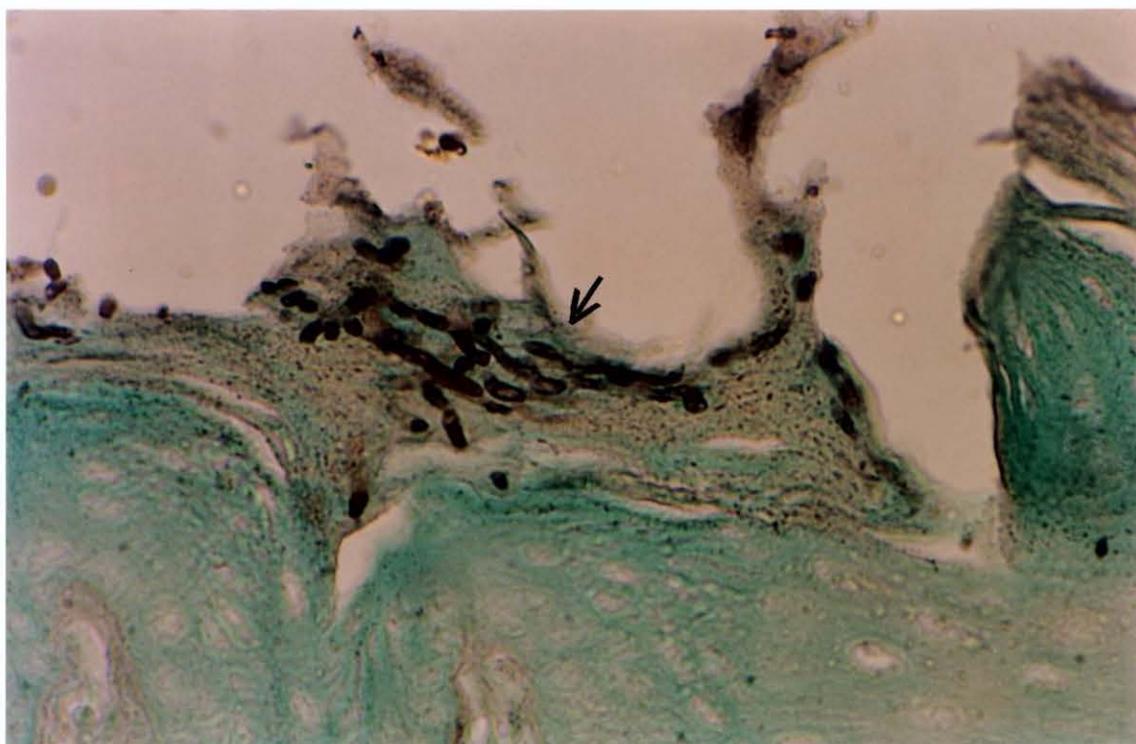


FIGURA 5 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo sialoadenectomizado, 1 dia após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans* cavidade bucal. Observa-se pseudohifas no interior do epitélio (seta). Coloração Gomori-Grocott (aumento 480x).

• 48 horas (2 dias) após inoculação de *C. albicans*:

Nos camundongos que receberam 4 inoculações de *C. albicans*, 2 animais normais apresentaram candidose nas regiões das papilas verdadeiras e cônicas simples (Figura 6). Em um animal, observou-se áreas com necrose do epitélio, permanecendo preservadas apenas as células da camada basal. Nos camundongos sialoadenectomizados, as áreas de candidose foram mais extensas, atingindo os três tipos de papilas linguais, observando-se aplainamento das papilas, hiperqueratose, acantose e infiltração de polimorfonucleares (Figura 7).

Após um inóculo de *C. albicans*, apenas um camundongo sialoadenectomizado apresentou pequena área de candidose nas papilas cônicas simples, sendo o aspecto do epitélio do dorso da língua nos demais animais normal.

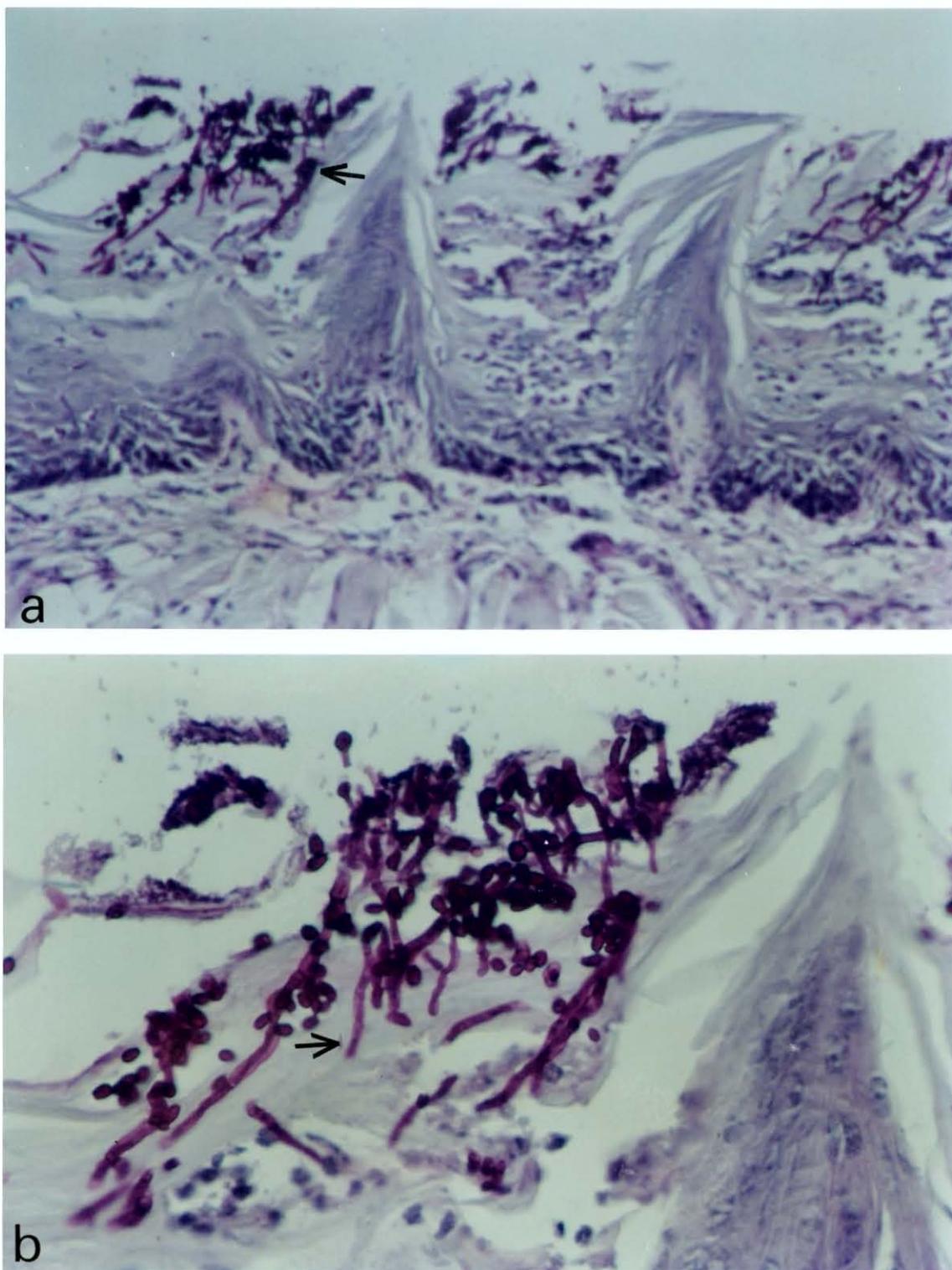


FIGURA 6 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo normal, 2 dias após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans* na cavidade bucal. A) Observa-se grande quantidade de pseudohifas no interior do epitélio (seta). Coloração P.A.S. (aumento 200x). B) Maior aumento da figura A: observa-se em maior detalhe, presença de pseudohifas e leveduras no interior do epitélio (seta). (aumento 480x).

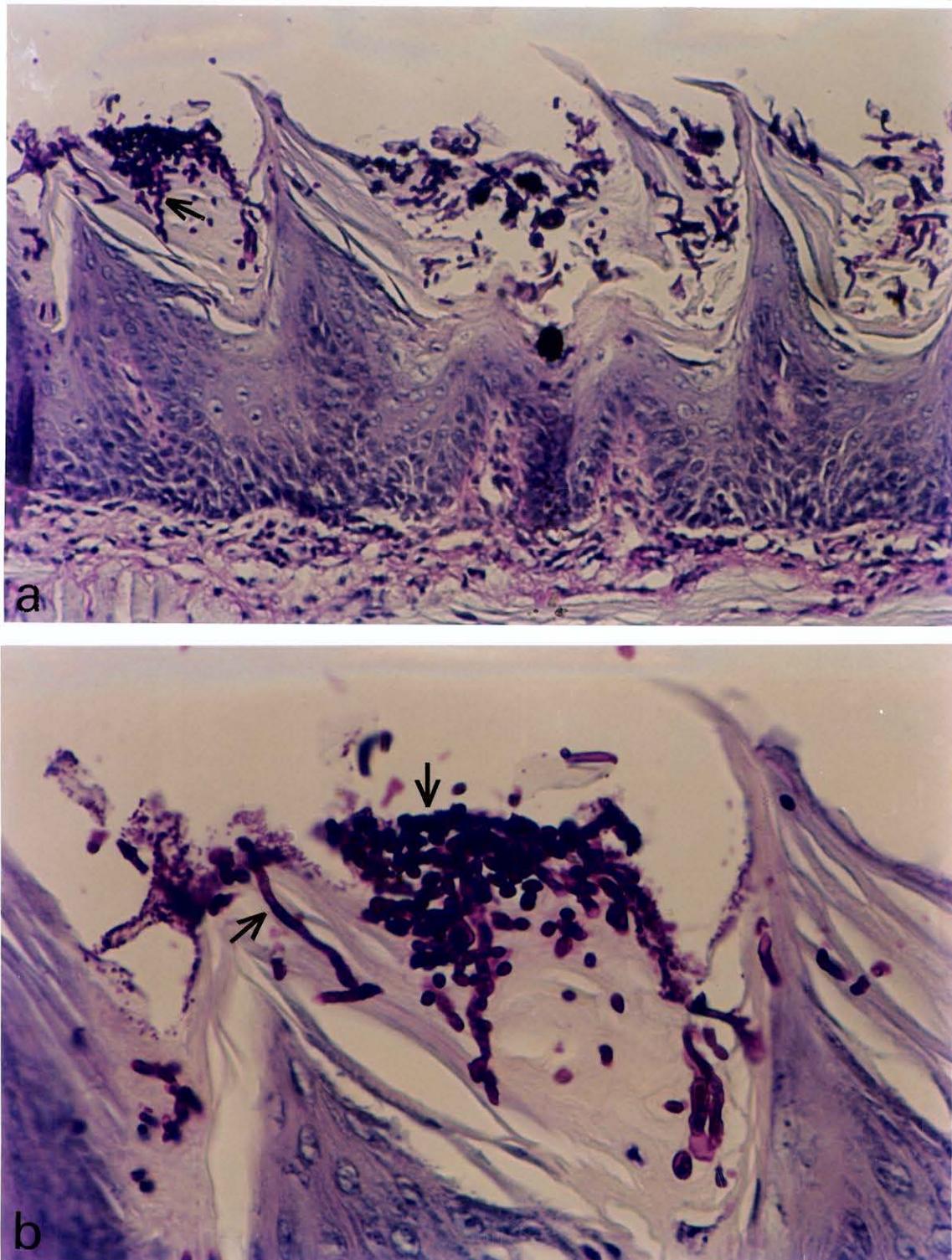


FIGURA 7 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo sialoadenectomizado, 2 dias após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans* na cavidade bucal. A) Observa-se grande quantidade de pseudohifas no interior do epitélio (seta). Coloração P.A.S. (aumento 200x). B) Maior aumento da figura A: observa-se em maior detalhe presença de pseudohifas e leveduras (setas) aderidas na superfície e no interior do epitélio (aumento 480x).

- 3 dias após inoculação de *C. albicans*:

Todos os animais que receberam uma inoculação de suspensão de *C. albicans* apresentaram epitélio com aspecto normal. Após 4 inoculações da suspensão, apenas 1 animal normal apresentou candidose, menos intensa quando comparada com os camundongos sialoadenectomizados. Três camundongos normais apresentaram áreas necrosadas no epitélio, com presença de infiltrado de polimorfonucleares, nas três regiões analisadas.

Camundongos sialoadenectomizados apresentaram áreas de candidose extensas, com aplainamento das papilas, acantose, hiperqueratose e infiltrado neutrofílico (Figura 8). As áreas de candidose foram freqüentes, tanto nas papilas cônicas simples quanto nas papilas verdadeiras e gigantes. Um camundongo apresentou grande quantidade de pseudohifas invadindo toda a superfície do dorso da língua.

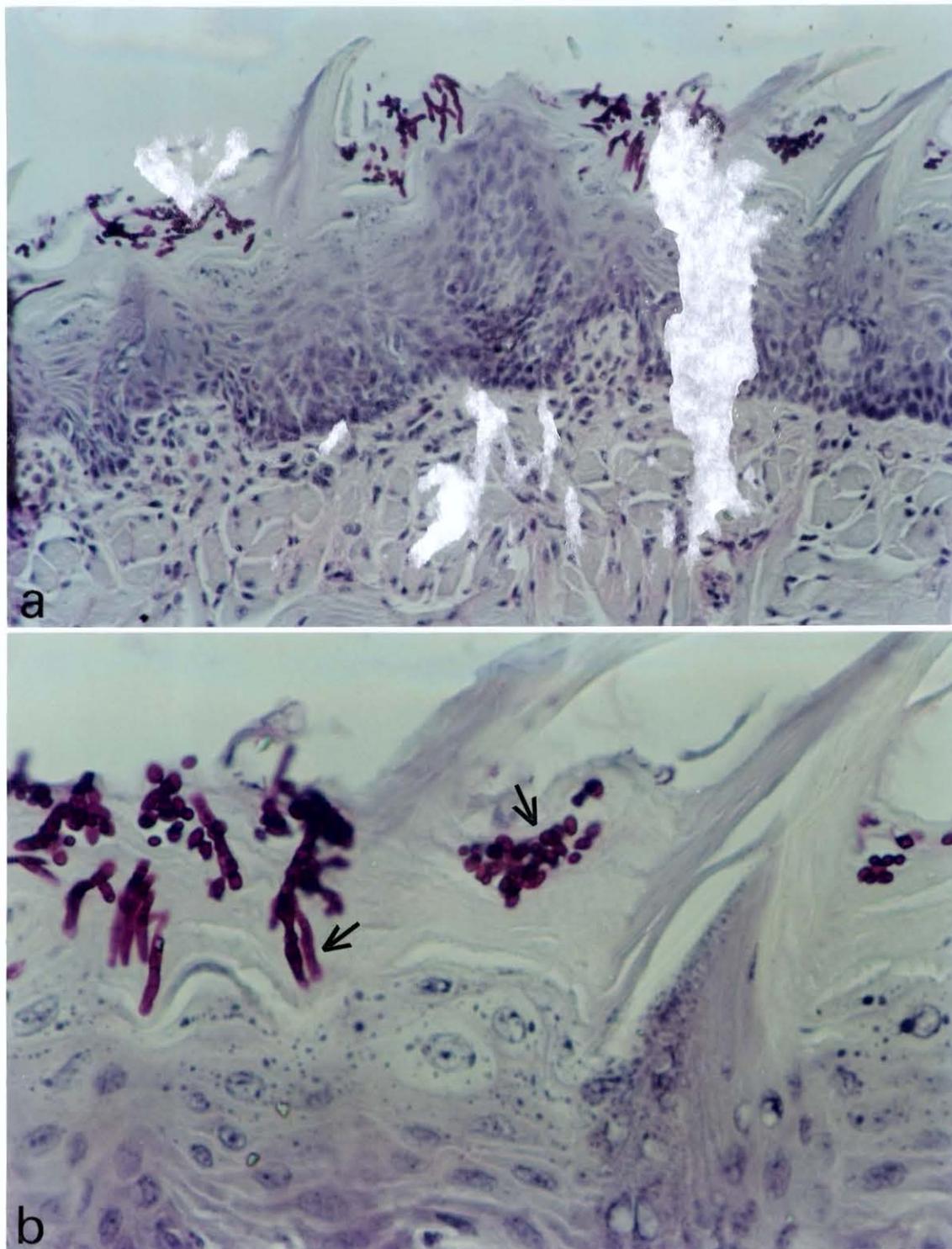


FIGURA 8 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo sialoadenectomizado, 3 dias após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans* na cavidade bucal. A) Observa-se grande quantidade de pseudohifas no interior do epitélio, presença de infiltrado inflamatório, aplainamento das papilas, acantose e hiperqueratose do epitélio. Coloração P.A.S. (aumento 200x). B) Maior aumento da figura A: observa-se em maior detalhe presença de pseudohifas e leveduras (setas) aderidas na superfície e no interior do epitélio. (aumento 480x).

- 5 dias após inoculação de *C. albicans*:

Camundongos normais não apresentaram candidose nos cortes observados, após um inóculo de *C. albicans*, enquanto um animal sialoadenectomizado apresentou candidose nas três regiões da língua.

Após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans*, animais normais não tinham candidose no dorso da língua, apresentando entretanto áreas de necrose com as camadas de células do epitélio destruídas e infiltradas por neutrófilos. Animais sialoadenectomizados continuaram a apresentar intensas regiões com candidose, semelhantes às observadas nos períodos anteriores (Figura 9 e 10).

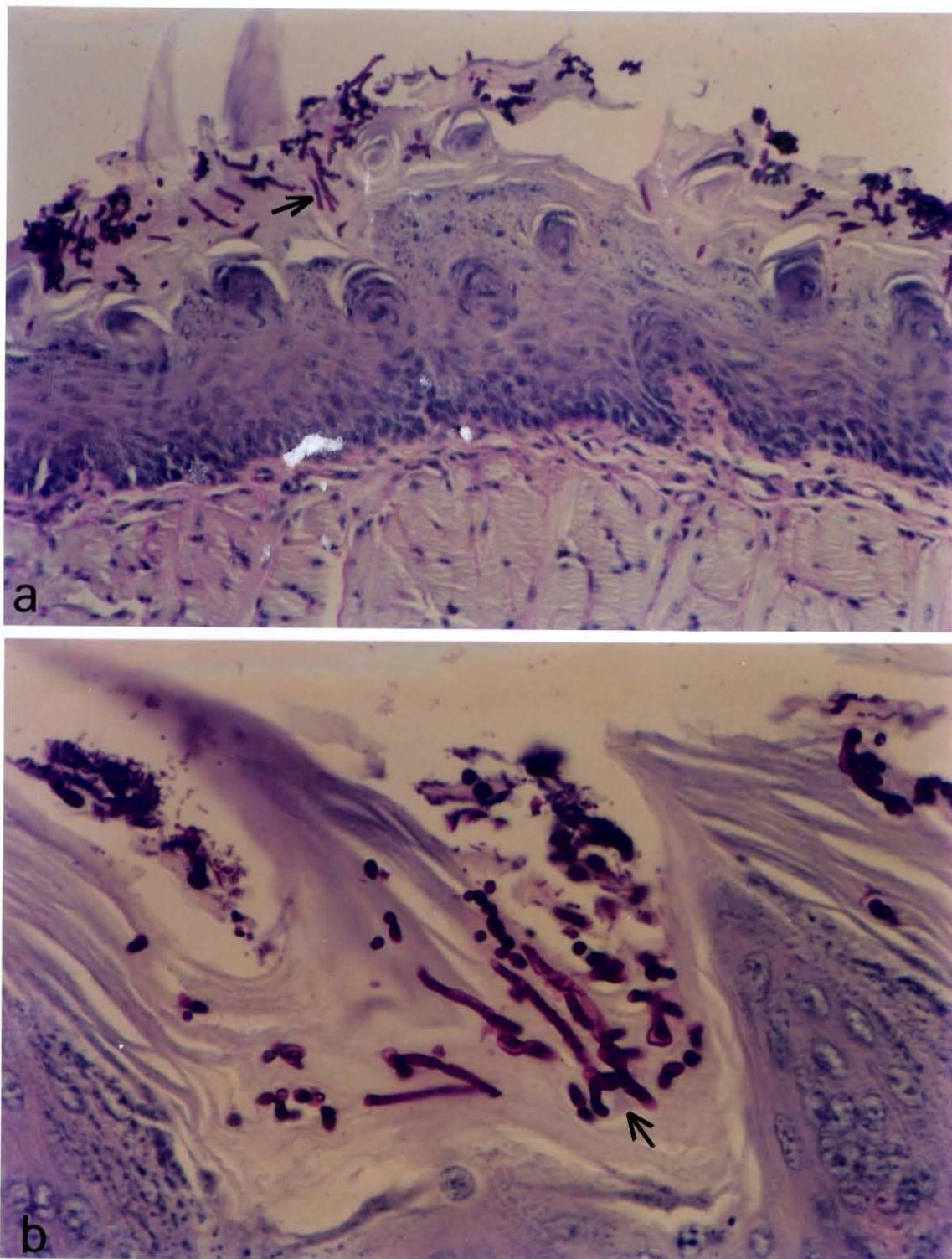


FIGURA 9 - Corte sagital da região das papilas cônicas simples do dorso da língua de camundongo sialoadenectomizado, 5 dias após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans* na cavidade bucal. A) Observa-se grande quantidade de pseudohifas no interior do epitélio (seta), aplainamento das papilas, acantose e hiperqueratose do epitélio. Coloração P.A.S. (aumento 200x). B) Observa-se em detalhe presença de pseudohifas e leveduras aderidas na superfície e no interior do epitélio (seta). (aumento 480x).

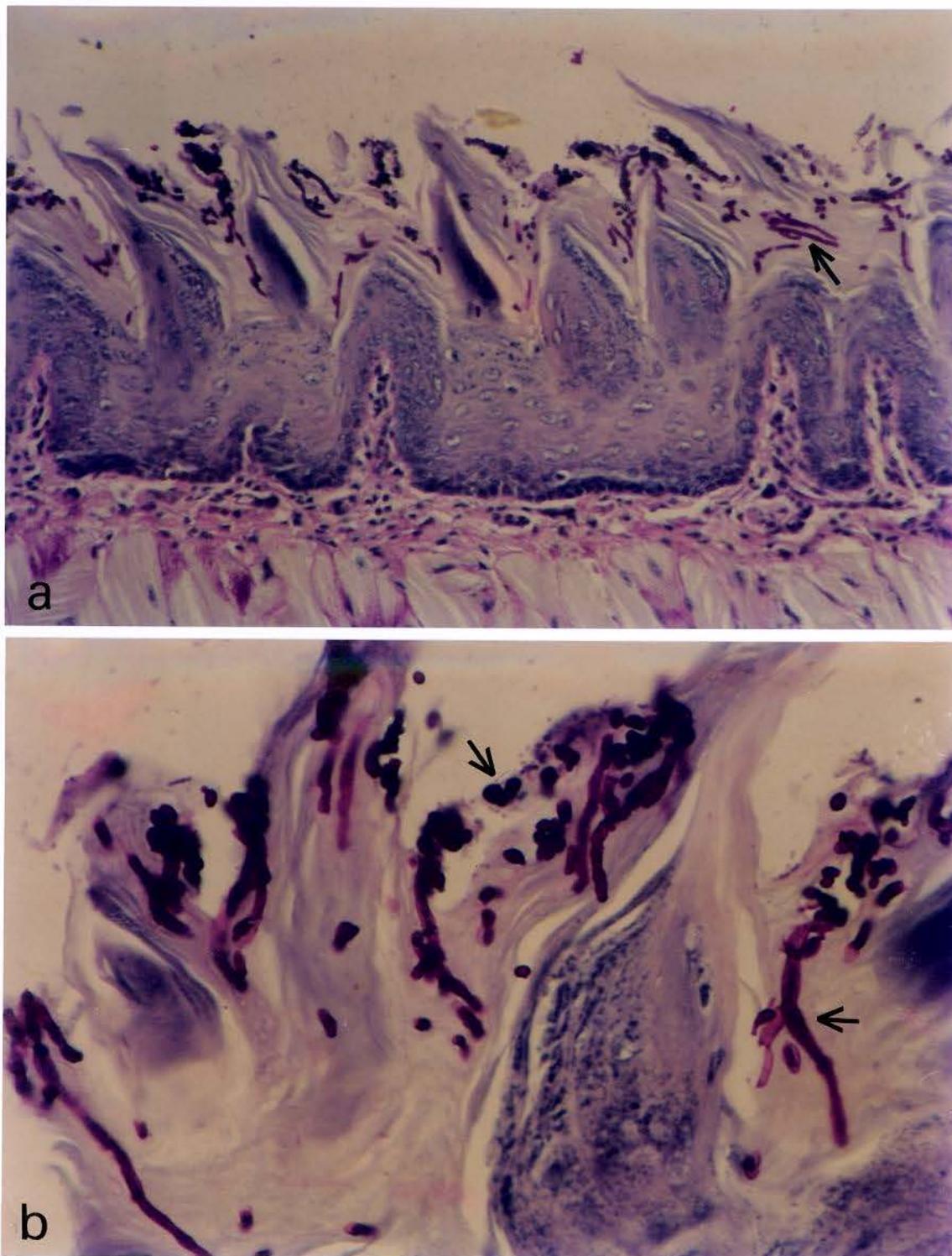


FIGURA 10 - Corte sagital da região das papilas verdadeiras do dorso da língua de camundongo sialoadenectomizado, 5 dias após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans* na cavidade bucal. A) Observa-se grande quantidade de pseudohifas no interior do epitélio (seta). Coloração P.A.S. (aumento 200x). B) Observa-se em detalhe presença de pseudohifas e leveduras aderidas na superfície e no interior do epitélio (setas). (aumento 480x).

- 8 dias após inoculação de *C. albicans*:

Após este período, considerando-se os animais que receberam apenas 1 inóculo de *C. albicans*, observou-se candidose no dorso da língua de dois camundongos sialoadenectomizados e de um normal. As lesões na língua dos animais sialoadenectomizados apresentaram-se intensas, com aplainamento das papilas, acantose, hiperqueratose e infiltração de polimorfonucleares.

Observações realizadas após 4 inoculações, demonstraram áreas de necrose no dorso da língua de camundongos normais, conforme descrito para o período de 5 dias. Animais sialoadenectomizados apresentaram áreas com candidose intensa, principalmente na região das papilas verdadeiras.

- 15 a 60 dias após inoculações de *C. albicans*:

Camundongos normais apresentaram epitélio do dorso da língua com aspecto histológico normal, após uma inoculação de suspensão de *C. albicans* no período de 15 a 60 dias. Candidose foi observada em 2 animais sialoadenectomizados após 15 dias e em 1 após 30 dias, apresentando-se a seguir negativos nos períodos de 45 e 60 dias após inoculação. As lesões caracterizavam-se pela presença de poucas hifas no interior da queratina do epitélio do dorso da língua, sem que fossem observadas alterações no epitélio.

Após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans*, um camundongo normal e 2 sialoadenectomizados demonstraram candidose nos exames dos cortes histológicos obtidos do dorso da língua dos animais, após 45 dias da última inoculação (Figura 11). Nos períodos após 15 e 30 dias, 2 animais sialoadenectomizados apresentaram candidose no dorso da língua e no período de 60 dias, apenas um apresentou-se positivo. As áreas de candidose eram

extensas, atingindo principalmente a região das papilas verdadeiras e cônicas simples, ocorrendo em todo o dorso da língua. Nos camundongos que não apresentavam candidose, observou-se áreas de aplainamento das papilas linguais, hiperqueratose, acantose e infiltrado inflamatório predominando polimorfonucleares e áreas de necrose do epitélio.

- 75 a 165 dias após inoculação de *C. albicans*:

Apenas camundongos sialoadenectomizados apresentaram candidose nestes períodos. Áreas extensas de candidose, semelhantes aos aspectos anteriormente descritos foram observadas. Nos demais animais o aspecto histológico do dorso da língua era normal.

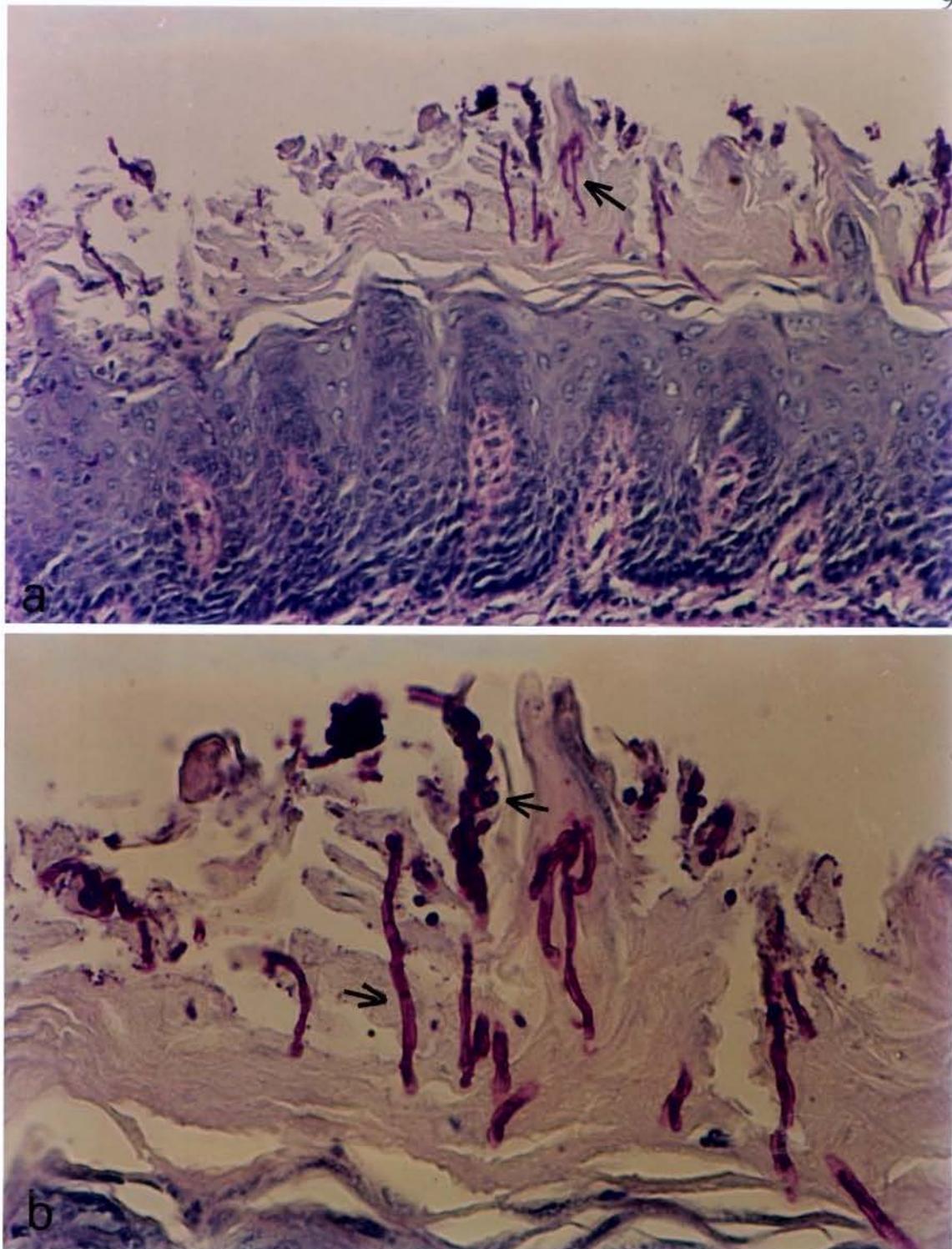


FIGURA 11 - Corte sagital do dorso da língua de camundongo sialoadenectomizado, 45 dias após 4 inoculações de suspensão de *C. albicans* na cavidade bucal. A) Observa-se grande quantidade de pseudohifas (seta) no interior do epitélio, aplainamento das papilas, acantose e hiperqueratose do epitélio. Coloração P.A.S. (aumento 200x). B) Maior aumento da figura A: observa-se em maior detalhe presença de pseudohifas e leveduras aderidas na superfície e no interior do epitélio (setas). (aumento 480x).

5.5 Presença de anticorpos anti-*Candida* no soro de camundongos inoculados com *Candida albicans*

O nível de imunoglobulina G (IgG) anti-*Candida* encontrado no soro de camundongos que receberam 1 ou 4 inóculos de *C. albicans*, encontram-se na Tabela 13. Os animais apresentaram baixos níveis de IgG no soro, em todos os períodos analisados, até 75 dias após inoculação de *C. albicans*, não ocorrendo diferenças significativas em relação aos controles.

TABELA 13 - Médias e desvio-padrão das densidades ópticas (DO) obtidas na dosagem de IgG através de reação ELISA, no soro de camundongos normais e sialoadenectomizados, após uma e quatro inoculações de *C. albicans*.

PERÍODO DIAS	CAMUNDONGOS NORMAIS (n=6)		CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS (n=6)	
	4 inoculações	1 inoculação	4 inoculações	1 inoculação
1	0,32 ± 0,12	0,48 ± 0,42	0,30 ± 0,12	0,48 ± 0,79
2	0,42 ± 0,21	0,39 ± 0,25	0,36 ± 0,07	0,58 ± 0,09
3	0,72 ± 0,37	0,48 ± 0,29	0,40 ± 0,17	0,56 ± 0,24
5	1,04 ± 0,81	0,37 ± 0,12	0,31 ± 0,12	0,73 ± 0,35
8	0,44 ± 0,22	0,57 ± 0,32	0,41 ± 0,19	0,56 ± 0,38
15	0,91 ± 0,91	0,69 ± 0,35	0,34 ± 0,10	0,67 ± 0,22
30	0,41 ± 0,15	0,34 ± 0,08	0,47 ± 0,24	0,75 ± 0,35
45	0,40 ± 0,12	0,47 ± 0,17	0,34 ± 0,07	0,72 ± 0,59
60	0,75 ± 0,48	0,38 ± 0,12	0,60 ± 0,21	0,77 ± 0,38
75	0,37 ± 0,16	0,41 ± 0,11	0,15 ± 0,09	0,10 ± 0,05
CONTROLE	0,20 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,32 ± 0,09	0,32 ± 0,09

6 DISCUSSÃO

A remoção cirúrgica das glândulas salivares maiores, produziu acentuada xerostomia nos camundongos, sendo a quantidade de saliva coletada reduzida em aproximadamente 75% nos animais submetidos à cirurgia. No ser humano, os sintomas de xerostomia ocorrem quando o fluxo salivar é reduzido em 40 a 50% do volume normal^{67,92}. A quantidade residual de saliva presente nos camundongos sialoadenectomizados, foi provavelmente produzida pelas glândulas salivares menores, que estão localizadas por toda a cavidade bucal, predominantemente no palato mole e na região posterior da língua.

As glândulas salivares menores contribuem com 8 a 10% do total do volume salivar no ser humano, produzindo grande quantidade de mucina (mais de 70%). A mucina representa mecanismo efetivo contra determinados microrganismos, controla a dessecação das mucosas bucais³³² e limita a difusão tecidual de várias substâncias¹. Mesmo assim, segundo DEAN & HIRAMOTO⁶⁸ (1986) a xerostomia induzida em animais aumenta a permeabilidade da mucosa a medicamentos. A retirada unilateral das glândulas parótida, sublingual e submandibular, provoca aumento de volume das glândulas salivares contralaterais em animais, sendo provável que após sialoadenectomia, ocorra aumento de atividade das glândulas salivares menores. Pacientes com aplasia das glândulas salivares maiores apresentam alta viscosidade da saliva e presença de glândulas salivares menores no lábio e palato¹⁹².

Após a cirurgia, a cavidade bucal dos ratos sialoadenectomizados apresentava-se bastante seca, demonstrando apenas saliva residual viscosa e presença de muitos resíduos de alimentos aderidos nas mucosas e dentes. Nos

animais normais, era evidente o acúmulo de saliva, principalmente na região sublingual. Não foram observadas alterações morfológicas visíveis macro e microscopicamente nas mucosas da língua dos camundongos sialoadenectomizados, resultados semelhantes aos obtidos por ITO ¹³² (1990) e JORGE ¹⁴⁰ (1991), em ratos. A sialoadenectomia foi a técnica selecionada para obtenção de xerostomia nos camundongos utilizados no presente trabalho, por ser um método simples e que mantém permanente a redução do fluxo salivar. O uso de agentes químicos também podem proporcionar xerostomia em animais ^{180,353}, porém seus efeitos são transitórios e podem provocar efeitos colaterais que poderiam interferir nos resultados.

Apesar de não ter sido quantificado, observou-se que os camundongos com xerostomia bebiam água mais freqüentemente que os normais, sem entretanto aumentar o consumo; semelhante ao observado por ITO ¹³² (1990) em ratos. Este fato 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 freqüência, principalmente durante a ingestão de alimentos ⁸¹.

Em seres humanos, a xerostomia tem sido associada com atrofia da mucosa bucal, em particular do dorso da língua ³⁵², o que não foi observado nos camundongos sialoadenectomizados estudados no presente trabalho. Alterações na microbiota bucal também têm sido relatadas em pacientes com xerostomia ¹⁸⁴. BROW *et al.* ³⁶ (1975) relataram aumento na quantidade de *Candida*, principalmente *C. albicans*, em pacientes submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço. Apenas a sialoadenectomia não propiciou, nos dados deste trabalho, que os camundongos apresentassem leveduras na cavidade bucal. Este fato deve ser em decorrência de *C. albicans* não ser microrganismo

habitual na cavidade bucal de camundongos, conforme pode ser observado nos dados obtidos neste trabalho. Nenhum dos 404 camundongos examinados (item 5.1, pág. 64), apresentou leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal antes dos experimentos. Os 202 camundongos que foram sialoadenectomizados não passaram a apresentar leveduras posteriormente, o que foi comprovado em duas coletas realizadas 1 e 2 semanas após cirurgia.

O uso de camundongos para estudo da patogenicidade de *C. albicans* nas mucosas da boca, visto que estes animais não apresentam este microrganismo na boca, parece ser mais viável que a utilização de ratos, pois estes podem apresentar *Candida* na boca ^{7,117,140,337}.

As leveduras do gênero *Candida* podem estar presentes na cavidade bucal dos seres humanos ^{190,329} e vários fatores predisponentes, incluindo xerostomia podem alterar sua condição de comensal e expressar patogenicidade, produzindo candidose, infecção micótica de ocorrência comum na cavidade bucal ^{11,291,358}. A espécie *C. albicans* é a mais patogênica das espécies devido aos seus fatores de virulência como produção de tubo germinativo, enzimas, toxinas e capacidade de aderência às células epiteliais bucais ¹¹.

A amostra de *C. albicans* (ATCC 36801) utilizada no presente trabalho apresentou alta letalidade para camundongos por via endovenosa ¹². Além disso é produtora de proteinase, hialuronidase, condroitin-sulfatase e fosfatase, enzimas consideradas como fatores de virulência ¹². Amostras de *C. albicans* produtoras de maior quantidade de proteinase apresentam maior aderência às células epiteliais bucais ^{32,51,164}, são mais patogênicas para camundongos ²³², e possuem maior aderência e poder de invasão na pele de camundongos ²⁶⁵.

Neste trabalho foram utilizados inóculos de 0,1 mL, contendo 10^8 células viáveis de *C. albicans*, dose que os camundongos suportaram bem, não ocorrendo alterações sistêmicas visíveis clinicamente. A padronização do número de células viáveis de *C. albicans* nas suspensões utilizadas nas inoculações foi feita em câmara de Neubauer, após prévia coloração com corante vital, conforme utilizado por vários autores^{87,88,140,141,142,268,336,337}. Por outro lado, vários trabalhos relatam a padronização do número de microrganismos em contagens de ufc/mL^{6,7,8,123}. Em 50 amostras de suspensões de *C. albicans* padronizadas através de câmara de Neubauer, foram realizadas em estudos anteriores, diluições e contagens das ufc/mL em ágar Sabouraud dextrose, para confirmação do número de leveduras que estava sendo utilizado. A média obtida em 50 contagens foi de $5,71 \times 10^8$ ufc/mL de *C. albicans*, com desvio padrão de 2,64. Considerou-se desta maneira, que o método de contagem em câmara de Neubauer foi preciso, mais rápido, de maior facilidade de execução e possibilitou ainda, o cálculo do número de células da suspensão, antes das inoculações.

Após uma inoculação de 10^8 células viáveis de *C. albicans* na cavidade bucal de camundongos normais e sialoadenectomizados, verificou-se nos resultados do presente trabalho, recuperação da levedura em todos os animais nas coletas de 24 e 48 horas (Tabelas 4 e 5). A quantidade de *C. albicans* obtida nas contagens de colônias demonstrou valores maiores para os animais sialoadenectomizados, apesar da diferença não ser estatisticamente significativa (Tabela 6). Por outro lado, quando utilizou-se 4 inoculações, *C. albicans* foi recuperada da cavidade bucal de todos os animais normais até 8 dias (Tabela 7) após inoculação e até 15 dias (Tabela 8) após, para animais sialoadenectomizados. Apesar das médias das ufc/mL de *C. albicans* recuperadas apresentarem-se sempre maiores nos animais

sialoadenectomizados, a diferença não foi significativa (Tabela 9). Importante salientar que as médias das ufc/mL recuperadas dos camundongos sialoadenectomizados, que receberam 4 inoculações de *C. albicans*, demonstraram diferenças significativas no período de 30 até 195 dias após inoculações. A xerostomia produzida experimentalmente em camundongos parece predispor, portanto, a permanência de *C. albicans* por período mais prolongado na cavidade bucal dos animais.

A confirmação de que a amostra que foi inoculada era a mesma recuperada da cavidade bucal dos camundongos, foi realizada através da identificação da levedura obtida em cultura pura ao nível de espécie, baseando-se nos critérios estabelecidos por Sandven³⁰¹ (1990). Foi também confirmado tratar-se do mesmo biotipo, através de fator *killer*²⁵⁷. Todas as amostras recuperadas foram *C. albicans* biotipo 111, o que nos leva a afirmar que, com certeza, as amostras recuperadas eram provenientes da mesma amostra que foi inoculada. Além disso, convém salientar que os animais foram mantidos em gaiolas individuais, as quais foram desinfetadas semanalmente, o que impediu transmissão de *C. albicans* de um animal para outro.

A análise estatística através do teste não paramétrico de Mann-Whitney, possibilitou a rejeição da hipótese de que os dois grupos (normal e sialoadenectomizado) comportaram-se da mesma maneira após inoculações de *C. albicans*. Após 1 inoculação do microrganismo, camundongos sialoadenectomizados comportaram-se de maneira diferente nos períodos de 1 a 30 dias após a mesma. Após 4 inoculações da levedura, o comportamento foi também diferente estatisticamente nos camundongos sialoadenectomizados em relação aos normais nos períodos de 1 a 195 dias após as inoculações. Desta maneira, pode-se inferir que a ausência de saliva, causada pela sialoadenectomia influenciou a colonização e presença de

C. albicans na cavidade bucal de camundongos, tanto após 1 inoculação prévia, como após 4 inoculações.

A metodologia utilizada de 4 inoculações de *C. albicans* na cavidade bucal dos camundongos resultou em maior permanência do microrganismo na boca dos animais, ocorrendo maior quantidade de candidose no dorso da língua em relação a apenas 1 inoculação.

Outro fator importante a ser analisado, foi a variação individual que ocorreu entre os camundongos, nas recuperações. Pode-se observar (Tabelas 4, 5, 7 e 8) culturas negativas em determinadas coletas e positivas em outras; alguns animais apresentaram 2 a 3 coletas negativas, seguindo-se uma positiva. TOTTI ³³⁷ (1994) e ALLEN *et al.* ⁸ (1982) também relataram variações no número de *C. albicans* recuperado da cavidade bucal de ratos, em coletas realizadas semanalmente. Esta flutuação tem sido também observada em humanos. Já em 1950, LILIENTHAL ¹⁸³ observou variações na presença de *C. albicans* na boca de indivíduos normais, caracterizando-a como microrganismo transitório. GERGELY & URI ⁹⁹ (1966) estudaram variação diária de fungos na cavidade bucal durante 8 dias e verificaram resultados variáveis. WILLIAMSON ^{359,360} (1972) verificou variações em contagens diurnas de *C. albicans* em cavidades bucais humanas.

Alguns fatores devem contribuir para que *C. albicans* não seja isolada da boca em determinadas coletas. Presença de microbiota comensal ⁵⁹, tamanho, viabilidade e quantidade dos receptores nas células epiteliais bucais para as leveduras ²⁹⁹ e os métodos utilizados para coleta e cultivo. Desde que a metodologia usada neste trabalho para isolamento e cultivo das amostras de *C. albicans* foi sempre a mesma, a variabilidade nas recuperações não foi devido à metodologia.

O desenvolvimento de candidose após inoculação de 10^8 células viáveis de *C. albicans*, ocorreu em maior número de camundongos sialoadenectomizados em relação aos normais, após 1 ou 4 inoculações da levedura. Após 8 dias das 4 inoculações, 83,3% dos animais inoculados apresentaram candidose com lesões extensas, principalmente na região das papilas verdadeiras.

LACASSE *et al.*¹⁷¹ (1990) aplicaram *C. albicans* com *swab* na boca de camundongos e observaram a presença de candidose através de cortes histológicos de 1 hora a 7 dias após a inoculação. Logo após 3 horas, os autores já observaram tubos germinativos penetrando a queratina, com presença de leveduras aderidas à superfície. A quantidade de focos contendo pseudohifas foi aumentando progressivamente, atingindo máximo ao redor de 48 horas, decrescendo após 2 a 3 dias da inoculação. No presente estudo, o número de camundongos normais que apresentaram candidose após 1 inoculação, foi menor que os encontrados por LACASSE *et al.*¹⁷¹ (1990), pois apenas 1 animal apresentou lesões no dorso da língua, após 8 dias da inoculação. Considerando-se, entretanto, os animais que receberam 4 inoculações, 33,3% dos animais apresentaram candidose após 24 horas (Tabela 10), decrescendo a seguir, o que está de acordo com o descrito pelos autores.

A candidose experimental obtida no dorso da língua dos camundongos do presente trabalho, caracterizou-se por presença de pseudohifas no interior do epitélio, aplainamento das papilas, hiperqueratose, acantose e presença de polimorfonucleares neutrófilos, com freqüente formação de microabscessos intraepiteliais. As leituras foram consideradas em seis regiões: porção central, média e lateral do dorso da língua, no sentido lateral e região das papilas cônicas simples, papilas gigantes e papilas

verdadeiras, no sentido antero-posterior. Não foram observadas diferenças nas lesões em relação às regiões centrais, médias e laterais do dorso da língua. Ocorreu, entretanto, discreta prevalência das lesões nas papilas verdadeiras e cônicas simples em relação às gigantes.

Apesar do rato ser considerado bom modelo experimental para estudo dos efeitos da xerostomia na candidose bucal^{34,140,141,142,197,336,337}, o camundongo também pode ser considerado modelo viável para estes estudos, conforme dados obtidos no presente trabalho, o que está de acordo com LACASSE *et al.*¹⁷¹ (1990) e LACASSE *et al.*¹⁷² (1993). A microbiota bacteriana do camundongo apresenta menor número de espécies, as quais são praticamente conhecidas³⁴⁰, o que torna possível avaliar o papel da competição microbiana no início da infecção pela *C. albicans*. Além disso, *C. albicans* não é isolada da microbiota bucal normal do camundongo, conforme demonstrado nos resultados do presente trabalho, o que também concorda com os dados obtidos por LACASSE *et al.*¹⁷¹ (1990) e CHAKIR *et al.*⁵³ (1994), sendo portanto, a infecção pela levedura, considerada colonização transitória na boca destes animais.

Nos resultados do presente trabalho, as dosagens de IgG no soro dos camundongos sialoadenectomizados e normais que receberam inoculações de *C. albicans*, em relação aos animais controle (sem contato com *C. albicans*), apresentaram níveis de imunoglobulina muito baixos, não sendo verificada diferença significativa em todos os animais e grupos estudados. Estes resultados provavelmente ocorreram devido à via de inoculação ser oral, o que não deve ter induzido produção de IgG. Resultados interessantes provavelmente poderiam ser obtidos com outra forma de inoculação ou com dosagem de IgA secretora na saliva dos animais. Nos camundongos

sialoadenectomizados, não foi possível coletar quantidade de saliva suficiente para ser realizada dosagem de IgA secretora.

A xerostomia produzida pela sialoadenectomia, possibilitou permanência mais acentuada de *C. albicans* na cavidade bucal de camundongos. O desenvolvimento de candidose experimental no dorso da língua dos camundongos sialoadenectomizados, também ocorreu em maior número de animais e na maior extensão das lesões.

7 CONCLUSÕES

- A xerostomia produzida pela sialoadenectomia em camundongos, propiciou recuperação de *C. albicans* na cavidade bucal dos animais, em maior número e por períodos mais prolongados.
- As quantidades de *C. albicans* na cavidade bucal de camundongos sialoadenectomizados foram maiores e estatisticamente significativas nas recuperações de 30 até 195 dias após 4 inoculações da levedura.
- Candidose ocorreu em maior número de animais e as lesões foram mais extensas nos camundongos sialoadenectomizados, em relação aos normais.

8 RESUMO

A presença de *Candida albicans* e o desenvolvimento de candidose na cavidade bucal de camundongos normais e xerostômicos foram avaliados após uma e quatro inoculações com 10^8 células viáveis de *C. albicans* na boca dos animais. A xerostomia foi obtida pela retirada das glândulas salivares maiores dos camundongos (sialoadenectomia) e a recuperação da levedura foi realizada após 1, 2, 3, 5, 8, 15 dias e a seguir intervalos regulares de 15 dias. A comprovação da levedura recuperada foi feita através de identificação da espécie e da verificação do fator *killer*. Candidose foi verificada no epitélio de 6 regiões do dorso da língua dos camundongos em cortes histológicos sagitais corados por H.E e P.A.S. Os resultados obtidos demonstraram: a) que a xerostomia produzida pela sialoadenectomia em camundongos, propiciou recuperação de *C. albicans* na cavidade bucal dos animais, em maior número e por períodos mais prolongados; b) as quantidades de *C. albicans* na cavidade bucal de camundongos sialoadenectomizados foram maiores e estatisticamente significativas nas recuperações de 30 até 195 dias após 4 inoculações da levedura; c) candidose ocorreu em maior número de animais e as lesões foram mais extensas nos camundongos sialoadenectomizados, em relação aos normais.

9 SUMMARY

The presence of *Candida albicans* and candidosis development in the oral cavity of normal and sialoadenectomized mice were evaluated after one and four inoculations, with 10^8 viable cells of *C. albicans* in the mouth of the animals. The xerostomia was obtained by surgical removal of the major salivary glands from mice (sialoadenectomy) and the recovery of the yeast was accomplished after 1, 2, 3, 5, 8, 15 days and then in intervals of 15 days. The confirmation of the yeast recovered was established through identification of the species and the verification of the *killer* factor. Candidosis was verified in the epithelium of six areas of the dorsal mice tongue in sagital histological sections stained with hematoxylin & eosin and periodic acid-Schiff. The results obtained showed: a) that xerostomia produced by the sialoadenectomy in the mice propitiated recovery of *C. albicans* in the oral cavity of the animals in higher number and for more wide periods; b) The quantity of *C. albicans* in the oral cavity of sialoadenectomized mice were larger and statistically significant in the recoveries of 30 to 195 days after four inoculations of the yeast; c) candidosis occured in higher number of animals and the lesions were more extensive in the sialoadenectomized mice in relation to the normal.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

- 1 ADAMS, D. The effect of saliva on the penetration of fluorescent dyes into the oral mucosa of the rat and rabbit. *Arch.Oral Biol.*, v.19, p.505-9, 1974.
- 2 _____, JONES, J.H. Life history of experimentally induced acute oral candidiasis in the rat. *J.Dent.Res.*, v.50, p.643-644, 1971.
- 3 AHEARN, G.D. Medically important yeasts. *Annu.Rev.Microbiol.*, v.32, p.59-58, 1978.
- 4 ALCABES, P. *et al.* Laboratory markers and the risk of development HIV-1 disease among injecting drug users. *AIDS*, v.8, p.107-115, 1994.
- 5 ALLEN, C.M. Animal models of oral candidiasis: a review. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.78, p.216-21, 1994.
- 6 _____, BECK, F.M. Strain-related differences in pathogenicity of *Candida albicans* for oral mucosa. *J.Infect.Dis.*, v.147, p.1036-40, 1983.
- 7 _____, _____. Differences in mucosal reaction related to *Candida albicans* isolates. *J.Oral Pathol.*, v.16, p.89-93, 1987.

(*) - Baseado em:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro, Referências bibliográficas NBR 6023. Rio de Janeiro, 1989. 19p.

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

- 8 ALLEN, C.M. *et al.* Chronic candidiasis of the rat tongue: a possible model for human median rhomboid glossitis. *J.Dent.Res.*, v.61, p.1287-91, 1982.
- 9 _____ *et al.* Role of tetracycline in pathogenesis of chronic candidiasis of rat tongue. *Infect.Immun.*, v.47, p.480-483, 1985.
- 10 _____ *et al.* Resolution of candidal lesions of the dorsal rat tongue by ketoconazole. *J.Oral Pathol.*, v.17, p.158-163, 1988.
- 11 _____. Diagnosing and managing oral candidiasis. *J.Am.Dent.Assoc.*, v.123, p.77-82, 1992.
- 12 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, 1991. 111p. Tese (Livre-Docência)/UNESP, 1991, 111p. (Tese de Livre-Docência). Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos/Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- 13 ANTLEY, P.P., HAZEN, K.C. Role of yeast cell growth temperature on *Candida albicans* virulence in mice. *Infect.Immun.*, v.56, p.2884-90, 1988.
- 14 ARENDORF, T.M., ADDY, M. Candidal carriage and plaque distribution before, during and after removable orthodontic appliance therapy. *J.Clin.Periodontol.*, v.12, p.360-8, 1985.
- 15 _____. *et al.* Tobacco smoking and denture wearing in oral candidal leucoplakia. *Br.Dent.J.*, v.155, p.340-3, 1983.
- 16 _____, WALKER, D.M. Denture stomatitis: a review. *J.Oral Rehabil.*, v.182, p.217-27, 1987.
- 17 ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. Oral candidal populations in health and disease. *Br.Dent.J.*, v.147, p.267-72, 1979.

- 18 ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch.Oral Biol.*, v.25, p.1-10, 1980.
- 19 _____, _____. Tobacco smoking and denture wearing as local aetiological factors in median rhomboid glossites. *Int.J.Oral Surg.*, v.13, p.411-5, 1984.
- 20 ARONSON, I.K. ; SOLTAMI, K. Chronic mucocutaneous candidosis: a review. *Mycopathologia*, v.60, p.17-25, 1976.
- 21 ASHMAN, R.B., PAPADIMITRIOU, J.M. What's new in the mechanisms of host resistance to *Candida albicans* infection?. *Pathol.Res.Pract.*, v.186, p.527-34, 1990.
- 22 BABU, J.B. et al. Isolation and characterization of a 60 kilodalton salivary glycoprotein with agglutination activity against strains of *Streptococcus mutans*. *Infect.Immun.*, v.51, p.405-13, 1986.
- 23 BADENHORST, L., BOTTA, P.L., JANSE VAN RENSBURG, M.N. The incidence of hospital fungal infections - Yeast fungaemia. *S.Afr.Med.J.*, v.79, p.302-3, 1991.
- 24 BANNO, Y., YAMADA, T., NOZAWA, Y. Secreted phospholipases of dimorphic fungus, *Candida albicans*; separation of three enzymes and some biological properties. *Sabouraudia*, v.23, p.47-54, 1985.
- 25 BARRETT-BEE, K. et al. A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeast. *J.Gen.Microbiol.*, v.131, p.1217-21, 1985.
- 26 BASTIAAN, R.J., READE, P.C. The prevalence of *Candida albicans* in the mouths of tobacco smokers with and without oral mucous membrane keratoses. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.53, p.148-51, 1982.
- 27 BENDOVA, O. The killer phenomenon in yeasts. *Folia Microbiol.*, v.31, p.422-33, 1986.

- 28 BERDICEVSKY, I. et al. Oral *Candida* in asymptomatic denture wearers. *Int.J.Oral Surg.*, v.9, p.113-5, 1980.
- 29 _____ et al. Oral *Candida* in children. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.57, p.37-40, 1984.
- 30 BEVAN, E.A., MAKOVER, M. The physiological basis of the *killer* character in yeast. *Proc.Intern.Congr.Genet.*, v.1, p.203, 1963.
- 31 BORG, M., RÜCHEL, R. Demonstration of fungal proteinase during phagocytosis of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.28, p.3-14, 1990.
- 32 _____, _____. Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic *Candida spp.* during experimental infection of oral mucosa. *Infect.Immun.*, v.56, p.626-31, 1988.
- 33 BORG-VON ZEPELIN, M., GRÜNESS, V. Characterization of two monoclonal antibodies against secretory proteinase of *Candida tropicalis* DSM 4238. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.31, p.1-15, 1993.
- 34 BOWEN, W.H., PEARSON, S.K., YOUNG, D.A. The effect of desalivation on coronal and root surface caries in rats. *J.Dent.Res.*, v.67, p.21-3, 1988.
- 35 BRAWNER, D.L., CUTLER, J.E. Oral *Candida albicans* isolates from nonhospitalized normal carriers, immunocompetent hospitalized patients, and immunocompromised patients with or without acquires immunodeficiency syndrome. *J.Clin.Microbiol.*, v.27, p.1335-41, 1989.
- 36 BROWN, L.R. et al. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. *J.Dent.Res.*, v.54, p.740-50, 1975.
- 37 BUDTZ-JÖRGENSEN, E., BERTRAM, U. Denture stomatitis. 1. The etiology in relation to trauma and infection. *Acta Odontol.Scand.*, v.28, p.71-92, 1970.

- 38 BUDTZ-JÖRGENSEN, E., LÖE, H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. *Scand.J.Dent.Res.*, v.80, p.457-64, 1972.
- 39 _____, STENDERUP, A., GRABOWSKI, M. An epidemiologic study of yeast in elderly denture wearers. *Community Dent.Oral Epidemiol.*, v.3, p.115-9, 1975.
- 40 _____, THEILADE, E., THEILADE, J. Quantitative relationship between yeasts and bacteria in denture-induced stomatitis. *Scand.J.Dent.Res.*, v.91, p.134-42, 1983.
- 41 _____. A significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. *Scand.J.Dent.Res.*, v.82, p.151-90, 1974.
- 42 _____. Denture stomatitis IV. An experimental model in monkeys. *Acta Odontol.Scand.*, v.29, p.513-26, 1971b.
- 43 _____. Effects of triamcinolone acetonide on experimental oral candidiasis in monkeys. *J.Dent.Res.*, v.83, p.171-8, 1975.
- 44 _____. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.61-9, 1990a.
- 45 _____. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. Diagnosis of oral candidosis. *Acta Ondontol. Scand.*, v.48, p.37-43, 1990b.
- 46 _____. Immune response to *Candida albicans* in monkeys with experimental candidiasis in the palate. *Scand.J.Dent.Res.*, v.81, p.360-71, 1973.
- 47 _____. Proteolytic activity of *Candida spp.* as related to the pathogenesis of denture stomatitis. *Sabouraudia*, v.12, p.266-71, 1971a.
- 48 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.*, v.26, p.49-56, 1988.

- 49 BUTLER, K.M., BAKER, C. *Candida*: an increasingly important pathogen in the nursery. *Pediatr.Clin.N.Am.*, v.35, p.543-63, 1988.
- 50 CARCASSI, A., SALETTI, M., BOSCHI, S. Artrite acuta da *Candida*: isolamento di *Candida* in un eroinomane. *Minerva Med.*, v.73, p.2905-9, 1982.
- 51 CASSONI, A. *et al.* Evidence for a correlation between proteinase secretion and vulvovaginal candidosis. *J.Infect.Dis.*, v.156, p.777-83, 1987.
- 52 CAWSON, R.A., LEHNER, T. Chronic hyperplastic candidiasis - Candidal leukoplakia. *Br.J.Dermatol.*, v.80, p.9-16, 1968.
- 53 CHAKIR, J. *et al.* Differential pattern of infection and immune response during experimental oral candidiasis in BALB/c and DBA/2 (H-2^d) mice. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.9, p.88-94, 1994.
- 54 CHAKRABARTI, A., NAYAK, N., TALWAR, P. *In vitro* proteinase production by *Candida* species. *Mycopathologia*, v.114, p.163-8, 1991.
- 55 CHALLACOMBE, S.J. Immunologic aspects of oral candidiasis. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.78, p.202-10, 1994.
- 56 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.*, v.67, p.255-63, 1971.
- 57 CHEYNE, V.D. A description of the salivary glands of the rat and a procedure for their extirpation. *J.Dent.Res.*, v.18, p.457-68, 1939.
- 58 COLLINS-LECH, C. *et al.* Inhibition by sugars of *Candida albicans* adherence to human buccal mucosal cells and corneocytes *in vitro*. *Infect.Immun.*, v.46, p.831-4, 1984.

- 59 CORMANE, R.H., GOSLINGS, W.R.O. Factors influencing the growth of *Candida albicans* (*in vivo* and *in vitro* studies). *Sabouraudia*, v.3, p.52-63, 1963.
- 60 CUTLER, J.E., FRIEDMAN, L., MILNER, K.C. Biological and chemical characterization of toxic substances from *Candida albicans*. *Infect.Immun.*, v.6, p.616-27, 1972.
- 61 DAHLE, U.R., OLSEN, I. Anaerobiosis and serum promote mycelium formation by *Candida albicans* in colonies on TSBV agar. *Acta Odontol.Scand.*, v.49, p.41-5, 1991.
- 62 DAHLÉN, G. et al. A retrospective study of microbiologic samples from oral mucosal lesions. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.53, p.250-5, 1982.
- 63 DAMASCENO, C.A.V. et al. Distribuição quantitativa de *Candida* na cavidade oral humana. *Arq.Cent.EstCurso Odontol.*, v.11, p.245-60, 1974.
- 64 DARWAZEH, A.M.G., AL-BASHIR, A. Oral candidal flora in healthy infants. *J.Oral Pathol.Med.*, v.24, p.361-4, 1995.
- 65 _____, et al. Systemic fluconazole therapy and *in vitro* adhesion of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. *J.Oral Pathol.Med.*, v.20, p.17-9, 1991.
- 66 DAVENPORT, J.C. The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. *Br.Dent.J.*, v.129, p.151-6, 1970.
- 67 DAWES, C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *J.Dent.Res.*, v.66 (special issue), p.648-53, 1987.
- 68 DEAN, D.H., HIRAMOTO, R.N. Oral mucosal permeability of desalivated rats. *J.Oral Med.*, v.41, p.170-1, 1986.
- 69 DOREY, J.L. et al. Oral mucosal disorders in denture wearers. *J.Prosthet.Dent.*, v.53, p.210-3, 1985.

- 70 DOUGLAS, L.J. Adhesion of *Candida* species to epithelial surfaces. *Crit.Rev.Microbiol.*, v.15, p.27-43, 1987.
- 71 _____. Adhesion of pathogenic *Candida* species to host surfaces. *Microbiol.Sci.*, v.2, p.243-7, 1985.
- 72 EDGARD, W.M. Saliva and dental health. *Br.Dent.J.*, v.11, p.96-8, 1990.
- 73 _____, BOWEN, W.H., COLE, M.F. Development of rampant dental caries, and composition of plaque fluid and saliva in irradiated primates. *J.Oral Pathol.*, v.10, p.284-95, 1981.
- 74 _____. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br.Dent.J.*, v.172, p.305-12, 1992.
- 75 EISENSTEIN, B.I. Pathogenic mechanisms of *Legionella pneumophila* and *Escherichia coli*. *Am.Soc.Microbiol.News*, v.53, p.621-4, 1987.
- 76 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.*, v.56, p.495-9, 1983.
- 77 _____, FREILCH, M.M., LE, N.D. Risk factors for oropharyngeal candidiasis in patients who receive radiation therapy for malignant conditions of the head and neck. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.76, p.169-74, 1993.
- 78 _____. *et al.* Effects of specific antibodies on the interaction between the fungus *Candida albicans* and human oral mucosa. *Arch.Oral Biol.*, v.27, p.469-74, 1982.
- 79 _____, PEARSALL, N.N., TRUELOVE, E.L. Quantitative relationship between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. *J. Clin.Microbiol.*, v.12, p.475-6, 1980.

- 80 EPSTEIN, J.B., SCULLY, C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. *J.Can.Dent.Assoc.*, v.58, p.217-21, 1992.
- 81 _____, STEVENSON-MOORE, P., SCULLY, C. Management of xerostomia. *J.Can.Dent.Assoc.*, v.58, p.140-3, 1992.
- 82 _____. Antifungal therapy in oropharyngeal mycotic infections. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.69, p.32-41, 1990.
- 83 ERICSON, T., MARINEN, K.K. Saliva formation and possible role. In: FEJERSKOV, O., THYLSTRUP, A. ed. *Textbook of cariology*. Copenhagen: Munksgaard, p.28-32, 1986.
- 84 FETTER, A. *et al.* Assymptomatic oral *Candida albicans* carriage in HIV-infection: Frequency and predisposing factors. *J.Oral Pathol.Med.*, v.22, p.57-9, 1993.
- 85 FIELD, E.A., FIELD, J.K., MARTIN, M.V. Does *Candida* have a role in oral epithelial neoplasia?. *J.Med.Vet.Micol.*, v.27, p.277-94, 1989.
- 86 FISHER, B.M. *et al.* Carriage of *Candida* species in the oral cavity in diabetic patients: relationship to glycaemic control. *J.Oral Pathol.*, v.16, p.282-4, 1987.
- 87 FISKER, A.V., RINDOM-SCHIOTT, C., PHILIPSEN, H.P. Long-term oral candidosis in rats. *Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand.*, v.90, p.221-7, 1982a.
- 88 _____, _____, _____. Short-term oral candidosis in rats, with special reference to the site of infection. *Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand.*, v.90, p.49-57, 1982b.
- 89 FLETCHER, J. *et al.* Mouth lesions in iron deficient anaemia: Relationship to *Candida albicans* in saliva and to impairment of lymphocyte transformation. *J.Infect.Dis.*, v.131, p.44-50, 1975.

- 90 FOTOS, P.G., HELLSTEIN, J.W., VINCENT, S.D. Oral candidosis revisited. *Gen.Dent.*, v.39, p.422-30, 1991.
- 91 _____, _____, _____. Oral candidosis. Clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.74, p.41-9, 1992.
- 92 FOX, C.P., VAN DER VEN, P.F., SONIES, B.C. Xerostomia: evaluation of a symptom with increasing significance. *J.Am.Dent.Assoc.*, v.110, p.519-25, 1985.
- 93 FRANKER, C.K. *et al.* Characterization of the mycoflora from oral mucosal surfaces of some HIV-infected patients. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol.*, v.69, p.683-7, 1990.
- 94 FREITAS, H.R., BIRMAN, E.G. Candidose bucal - Aspectos clínicos e terapêuticos. *Rev.Assoc.Paul.Cir.Dent.*, v.43, p.227-30, 1989.
- 95 FROMTLING, R.A., ABRUZZO, G.K., GILTINAN, D.M. *Candida tropicalis* infection in normal, diabetic, and neutropenic mice. *J.Clin.Microbiol.*, v.25, p.1416-20, 1987.
- 96 GARADINER, R., PODGORSKI, C., DAY, A.W. Serological studies on the fimbriae of yeasts-like species. *Bot.Gaz.*, v.143, p.534-41, 1982.
- 97 GARRET, J.R. The proper role of nerves in salivary secretion. *J.Dent.Res.*, v.66, p.387-97, 1987.
- 98 GELFAND, M.S. *Candida tropicalis*. *Infect.Control.Hosp.Epidemiol.*, v.10, p.280-3, 1989.
- 99 GERGELY L., URI, J. Day-by-day variation in the mycotic flora of the mouth. *Arch.Oral Biol.*, v.2, p.15-9, 1966.
- 100 _____, _____. The mycotic flora of the healthy mouth. *Arch.Oral Biol.*, v.3, p.125-8, 1961.

- 101 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.*, v.104, p.171-80, 1988.
- 102 _____, *et al.* Effects of octenidine and pirtenidine on adhesion of *Candida* species to human buccal epithelial cells *in vitro*. *Arch.Oral Biol.*, v.35, p.249-53, 1990.
- 103 _____, ABU-ELTEEN, K.H. Pathogenicity determinants of *Candida*. *Mycoses*, v.33, p.265-82, 1990.
- 104 _____, _____. Correlative relationship between proteinase production, adherence and pathogenicity of various strains of *Candida albicans*. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.24, p.407-13, 1986.
- 105 _____. Mechanisms potentiating *Candida* infections. A review. *Mycoses*, v.31, p.543-7, 1988.
- 106 GIBBONS, R.J., van HOUTE, J. Seletive bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinants. *Infect.Immun.*, v.3, p.567-73, 1971.
- 107 GILDA, J.E., KEYES, P.H. Increased dental caries activity in the Syrian hamster following desalivation. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v.66, p.28-32, 1947.
- 108 GLASS, B.J. *et al.* Xerostomia: diagnosis and treatment planning considerations. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.58, p.248-52, 1984.
- 109 GOLDSTEIN, E. *et al.* Studies on the pathogenesis of experimental *Candida parapsilosis* and *Candida guilliermondii* infections in mice. *J.Infect.Dis.*, v.115, p.293-302, 1965.
- 110 GOMEZ, F.J., GOMEZ, A.M., DEEPE JR., G.S. An 80-kilodalton antigen from *Histoplasma capsulatum* that has homology to heat shock protein 70 induces cell-mediated immune responses and protection in mice. *Infect.Immun.*, v.60, p.2565-71, 1992.

- 111 GORDON, R.A. *et al.* Intra-abdominal abscess and fungemia caused by *Candida krusei*. *Arch.InternMed.*, v.140, p.1239-40, 1980.
- 112 GREENSPAN, D. Treatment of oral candidiasis in HIV infection. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.78, p.211-5, 1994.
- 113 GUSBERTI, F.A. *et al.* Cultivable microflora of plaque from full denture bases and adjacent palatal mucosa. *J.Biol.Buccale*, v.13, p.227-36, 1985.
- 114 HASENCLEVER, H.F. Comparative pathogenicity of *Candida albicans* for mice and rabbits. *J.Bacteriol.*, v.78, p.105-109, 1959.
- 115 _____, MITCHELL, W.O. Pathogenicity of *C. albicans* and *C. tropicalis*. *Sabouraudia*, v.1, p.16-21, 1961.
- 116 _____, _____. Antigenic studies of *Candida* III. Comparative pathogenicity of *Candida albicans* group A, group B, and *C. stellatoidea*. *J.Bacteriol.*, v.82, p.578-581, 1962.
- 117 HASSAN, O.E., JONES, J.H., RUSSEL, C. Experimental oral candidal infection and carriage of oral bacteria in rats subjected to a carbohydrate-rich diet and tetracycline treatment. *J.Med.Microbiol.*, v.20, p.291-298, 1985.
- 118 HEIMDAHL, A., NORD, C.E. Oral yeast infections in immunocompromised and seriously diseased patients. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.77-84, 1990.
- 119 HENRICI, A.T. Characteristics of fungous diseases. *J.Bacteriol.*, v.39, p.113-38, 1940.
- 120 HERNANDEZ, Y.L., DANIELS, T.E. Oral candidiasis in Sjögren's syndrome: prevalence, clinical correlations, and treatment. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.68, p.324-9, 1989.
- 121 HERRERA, J.L., LYONS, M.F., JOHNSON, L.F. Saliva: its role in health and disease. *J.Clin.Gastroenterol.*, v.10, p.569-78, 1988.

- 122 HOLBROOK, W.P., RODGERS, G.D. Candidal infections: Experience in a British dental hospital. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol.*, v.49, p.122-5, 1980.
- 123 _____, 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.*, v.28, p.1089-91, 1983.
- 124 HOLMSTRUP, P., AXÉLL, T. Classification and clinical manifestations of oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.57-9, 1990.
- 125 _____, BESSERMANN, M. Clinical, therapeutic, and pathogenic aspects of chronic oral multifocal candidiasis. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.56, p.388-95, 1983.
- 126 HOPFER, R.L. *et al.* Disseminated candidiasis caused by four different *Candida* species. *Arch.Pathol.Lab.Med.*, v.105, p.454-5, 1981.
- 127 HOWLETT, J.A. The infection of rat tongue mucosa *in vitro* with five species of *Candida*. *J.Med.Microbiol.*, v.9, p.309-16, 1976.
- 128 HSIA, C.C. *et al.* Enhancement of formation of the esophageal carcinogen benzylnitrosamine from its precursors by *Candida albicans*. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v.78, p.1878-81, 1981.
- 129 HURLEY, R., WINNER, H.I. The pathogenicity of *Candida tropicalis*. *J.Pathol.Bacteriol.*, v.84, p.33-8, 1962.
- 130 HURLEY, R., STANLEY, C. Cytopathic effects of pathogenic and nonpathogenic species of *Candida* on cultured mouse epithelial cells: relation to the growth rate and morphology of the fungi. *J.Med.Microbiol.*, v.2, p.63-74, 1969.
- 131 IACOPINO, A.M., WATHEN, W.F. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *J. Am.Dent.Assoc.*, v.123, p.46-51, 1992.

- 132 ITO, V.S. *Efeitos da xerostomia nas estruturas bucais do rato*. Tese (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1990. 68p.
- 133 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.
- 134 JENKINS, W.M.M. *et al.* Nutricional deficiency in oral candidosis. *Int.J.Oral Surg.*, v.6, p.204-10, 1977.
- 135 JANSMA, J. *et al.* A model to investigate xerostomia-related dental caries. *Caries Res.*, v.22, p.357-61, 1988.
- 136 JEPSEN, A., WINTHER, J.E. Mycotic infection in oral leucoplakia. *Acta Odontol.Scand.*, v.23, p.239-56, 1965.
- 137 JONES, J.H., ADAMS, D. Experimentally induced acute oral candidosis in the rat. *Br.J.Dermatol.*, v.83, p.670-3, 1970.
- 138 _____, RUSSEL, C. The histology of chronic candidal infection of the rat's tongue. *J.Pathol.*, v.113, p.97-100, 1974.
- 139 _____, *et al.* Tetracycline and the colonization and infection of the mouths of germ-free and conventionalized rats with *Candida albicans*. *J.Antimicrob.Chemother.*, v.2, p.247-253, 1976.
- 140 JORGE, A.O.C. *Efeitos da sialoadenectomia na presença de Candida albicans e candidose na cavidade bucal de ratos*. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1991. 235p.
- 141 _____, *et al.* Effect of sialoadenectomy on the carriage of *Candida albicans* in the mouths of rats. *J.Oral Pathol.Med.*, v.22, p.138-40, 1993a.
- 142 _____, *et al.* Oral candidiasis established in the sialoadenectomised rat. *J.Oral Pathol.Med.*, v.22, p.54-6, 1993b.

- 143 JORGE, A.O.C. *et al.* Estomatite por prótese total: presença de bactérias e fungos. *Rev.Arq.Centro EstCurso Odontol.UFMG*, v.27, p.9-15, 1990.
- 144 _____ . *Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de Candida albicans na cavidade bucal*. Tese (Dissertação de Mestrado) - Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté, 1986. 45p.
- 145 _____ . *et al.* Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de *Candida albicans* na cavidade bucal. *Rev.Assoc.Paul.Cirurg.Dent.*, v.41, p.308-10, 1987.
- 146 _____ . *et al.* Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. *Rev.Odontol.Univ.São Paulo*, v.11, p.279-285, 1997.
- 147 JORIZZO, J.L. Chronic mucocutaneous candidosis: an update. *Arch.Dermatol.*, v.118, p.963-5, 1982.
- 148 KAMINISHI, H. *et al.* Degradation of bovine achilles tendon collagen by *Candida albicans* proteinase. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.26, p.315-8, 1988.
- 149 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*, v.21, p.93-8, 1983.
- 150 KENNEDY, M.J., SANDIN, R.L. Influence of growth conditions on *Candida albicans* adhesion, hydrophobicity and cell wall ultrastructure. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.26, p.79-92, 1988.
- 151 KENNEDY, M.J. *et al.* Variation in adhesion and cell surface hydrophobicity in *Candida albicans* white and opaque phenotypes. *Mycopathologia*, v.102, p.149-56, 1988.
- 152 KENNEDY, M.J. Adhesion and association mechanisms of *Candida albicans*. *Current Topics Med.Mycol.*, v.2, p.73-169, 1988.

- 153 KIEHN, T.E., EDWARDS, F.F., ARMSTRONG, D. The prevalence of yeast in clinical specimens from cancer patients. *Am.J.Clin.Pathol.*, v.73, p.518-21, 1980.
- 154 KIMURA, L.H., PEARSALL, N.N. Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. *Infect.Immun.*, v.21, p.64-8, 1978.
- 155 _____, _____. Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. *Infect.Immun.*, v.28, p.464-8, 1980.
- 156 KING, R.D., LEE, J.C., MORRIS, A.L. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. *Infect.Immun.*, v.27, p.667-74, 1980.
- 157 KIRKPATRICK, C.H., RICH, R.B., BENNETT, J.E. Chronic mucocutaneous candidiasis: model building in cellular immunity. *Ann.Inter.Med.*, v.74, p.955-78, 1971.
- 158 KLAPPER, C.E., VOLKER, J.F. The influence of impaired salivary function on dental caries in the Syrian hamster. *J.Dent.Res.*, v.32, p.219-23, 1953.
- 159 KLOTZ, S.A., DRUTZ, D.J., ZAJIC, J.E. Factors governing adherence of *Candida* species to plastic surfaces. *Infect.Immun.*, v.50, p.97-101, 1985.
- 160 KNIGHT, L., FLETCHER, J. Growth of *Candida albicans* in saliva: stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids, and diabetes mellitus. *J.Infect.Dis.*, v.123, p.371-7, 1971.
- 161 KNIGHTON, H.T. A study of Monilia and other yeastlike organisms found in the oral cavity. *J.Dent.Res.*, v.18, p.103-25, 1939.
- 162 KOLNICK, J.R. Candidosis oral. Report of a case implicating *Candida parapsilosis* as a pathogen. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.50, p.411-5, 1980.

- 163 KOMSHIAN, S.V. *et al.* Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. *Rev.Infect.Dis.*, v.11, p.379-90, 1989.
- 164 KONDOH, Y., SHIMIZU, K., TANAKA, K. Proteinase production and pathogenicity of *Candida albicans*. II. Virulence for mice of *C. albicans* strains of different proteinase activity. *Microbiol.Immunol.*, v.31, p.1061-1069, 1987.
- 165 KONTOU-KASTELLANO, C. *et al.* A case of *Candida parapsilosis* endocarditis. *Mycoses*, v.33, p.427-9, 1990.
- 166 KOOP, H.M. *et al.* Influence of human whole saliva on bacterial aggregation. *J.Dent.Res.*, v.66, p.613-15, 1987.
- 167 KOOPMANS, A.S.F., KIPPUW, N., GRAAFF, J. Bacterial involvement in denture-induced stomatitis. *J.Dent.Res.*, v.67, p.1246-50, 1988.
- 168 KREGER-van RIJ, N.J.W. *The yeasts: A taxonomic study.*, 3.ed., Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1984. p.585-844.
- 169 KROG, P. The role of yeast in oral cancer by means of endogenous nitrosation. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.85-8, 1990.
- 170 KROG, P. *et al.* Yeast species and biotypes associated with oral leucoplakia and lichen planus. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.63, p.48-54, 1987.
- 171 LACASSE, M. *et al.* Experimental oral candidosis in the mouse: microbiological and histological aspects. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.136-41, 1990.
- 172 LACASSE, M. *et al.* Acquired resistance and persistence of *Candida albicans* following oral candidiasis in the mouse: a model of the carrier state in humans. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.312-317, 1993.
- 173 LACAZ, C.S. *Candidiases.* São Paulo, Ed.Pedagógica Universitária e Ed.Universidade de São Paulo, 1980. 190p.

- 174 LAMEY, P.J. *et al.* Secretor status, candidal carriage and candidal infection in patients with diabetes mellitus. *J.Oral Pathol.*, v.17, p.354-7, 1988.
- 175 _____ *et al.* Chronic hyperplastic candidosis and secretor status. *J.Oral Pathol.Med.*, v.20, p.64-7, 1991.
- 176 LAY, K.M., RUSSEL, C. *Candida* species and yeasts in mouth of infants from a special care of a maternity hospital. *Arch.Dis.Clin.*, v.52, p.794-804, 1977.
- 177 LEHNER, T., WILTON, J.M.A., IVANYL, L. Immunodeficiencies in chronic mucocutaneous candidosis. *Immunology*, v.22, p.755-87, 1972.
- 178 _____ *et al.* Oral thrush, or acute pseudomembranous candidiasis. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.18, p.27-37, 1964.
- 179 LEHRER, N. *et al.* Effect of *Candida albicans* cell wall components on the adhesion of the fungus to human and murine vaginal mucosa. *Mycopathologia*, v.102, p.115-21, 1988.
- 180 LEKHOLM, V., WALLENIUS, K. Experimental oral cancer in rats with xerostomia. *Odontol.Rev.*, v.27, p.11-8, 1976.
- 181 LEW, M.A. Diagnosis of systemic *Candida* infections. *Ann.Rev.Med.*, v.40, p.87-97, 1989.
- 182 LIFSON, A.R. *et al.* Time from HIV seroconversion to oral candidiasis or hairy leukoplakia among homosexual and bisexual men enrolled in three prospective cohorts. *AIDS*, v.8, p.73-9, 1994.
- 183 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.*, v.28, p.279-86, 1950.

- 184 LLORY, H., DAMMRON, A., FRANK, R.M. Les modifications de la flore buccale aerobie apres radiotherapie bucco-pharynge. *Arch.Oral Biol.*, v.16, p.617-30, 1971.
- 185 LOURIA, D.B. *et al.* Fungemia caused by "nonpathogenic"yeast. *Arch.Intern.Med.*, v.119, p.247-52, 1967.
- 186 _____ *et al.* The pathogenesis of *Candida tropicalis* infections in mice. *Sabouraudia*, v.4, p.14-25, 1966.
- 187 _____, STIFF, D.P., BENNETT, B. Disseminated moniliasis in the adult. *Medicine*, v.41, p.307-37, 1962.
- 188 LUCATORTO, F.M. *et al.* Treatment of refractory oral candidosis with fluconazole. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.71, p.42-4, 1991.
- 189 LUNDSTRÖN, I.M.C., ANNEROTH, G.B., HOLMBERG, K. *Candida* in patients with oral lichen planus. *Int.J.Oral Surg.*, v.13, p.226-38, 1984.
- 190 LYNCH, D.P. Oral candidiasis. History, classification, and clinical presentation. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol.*, v.78, p.189-93, 1994.
- 191 MACDONALD, F. Secretion of inducible proteinase by pathogenic *Candida* species. *Sabouraudia*, v.22, p.79-82, 1984.
- 192 MacDONALD, F.G. *et al.* Salivary gland aplasia: an ectodermal disorder? *J. Oral Pathol.*, v.15, p.115-117, 1986.
- 193 MacFARLANE, T.W., HELNARSKA, S.J. The microbiology of angular cheilitis. *Br.Dent.J.*, v.140, p.403-6, 1976.
- 194 MacKINNON, J.E. (1936). *In:* _____, JONES, J.H., ADANS, D. Experimentally induced acute oral candidosis in the rat. *Br.J.Dermatol.*, v.83, p.670-673, 1970.

- 195 MACURA, A.B., PAWLICK, B., WITA, B. *Candida* adherence to mucosal epithelial cells with regard to its pathogenicity. *Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg.*, v.254, p.561-5, 1983.
- 196 _____. Hydrophobicity of *Candida albicans* related to their adherence to mucosal epithelial cells. *Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg.*, v.266, p.491-6, 1987.
- 197 MADISON, K.M. *et al.* Effect of desalivation and age on susceptibility to infection by *Streptococcus sobrinus*. *Caries Res.*, v.23, p.70-74, 1989.
- 198 _____. *et al.* Caries incidence in intact rat infected with *Streptococcus sobrinus* via transmission from desalivated cagemates. *J.Dent.Res.*, v.69, p.1154-9, 1990.
- 199 MAGARÓ, H.M., BIASOLI, M.S., BRANCALENTI, B.J.C. Sistema killer em cepas de *Candida albicans*: parte I. *Bol.Micol.*, v.4, p.67-72, 1989.
- 200 MAIBACK, H.I., KLIGMAN, A.M. The biology of experimental human cutaneous moniliasis. (*Candida albicans*). *Arch.Dermatol.*, v.85, p.233-57, 1962.
- 201 MANDEL, I.D. Relation of saliva and plaque to caries. *J.Dent.Res.Suppl.*, v.53, p.246-66, 1974.
- 202 MANDEL, I.D. The diagnostic uses of saliva. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.119-25, 1990.
- 203 _____. The functions of saliva. *J.Dent.Res.*, v.66, p.623-7, 1987.
- 204 _____. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J.Am.Dent.Assoc.*, v.119, p.298-304, 1989.
- 205 MANKOWSKI, Z.T. The experimental pathogenicity of various species of *Candida* in Swiss mice. *Trans.N.Y.Acad.Sci.*, v.19, p.548-70, 1957.

- 206 MARKITZIU, A., SHANI, J., AVNI, J. Salivary gland function in patients on chronic lithium treatment. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.66, p.551-7, 1988.
- 207 MARSH, P.D., PERCIVAL, R.S., CHALLACOMBE, S.J. The influence of denture-wearing and age on the oral microflora. *J.Dent.Res.*, v.71, p.1374-81, 1992.
- 208 MARTIN, M.V., LAMB, D.J. Frequency of *Candida albicans* serotypes in patients with denture-induced stomatitis and in normal denture wearers. *J.Clin.Pathol.*, v.35, p.888-91, 1982.
- 209 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*, v.22, p.471-6, 1984.
- 210 McCARTHY, G.M. Host factors associated with HIV-related oral candidiasis. A review. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.73, p.181-6, 1992.
- 211 McCOURTIE, J., DOUGLAS, L.J. Extracellular polymer of *Candida albicans*: isolation, analysis and role in adhesion. *J.Gen.Microbiol.*, v.131, p.495-503, 1985.
- 212 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.*, v.32, p.1234-41, 1981.
- 213 _____, _____: Relationship between cell surface composition, adherence, and virulence of *Candida albicans*. *Infect.Immun.*, v.45, p.6-12, 1984.
- 214 _____, MacFARLANE, T.W., SAMARANAYAKE, L.P. Effect of saliva and serum on the adherence of *Candida* species to chlorexidine-treated denture acrylic. *J.Med.Microbiol.*, v.21, p.209-13, 1986.

- 215 McMANNERS, J., SAMARANAYKE, L.P. Suppurative oral candidosis. *Int.J.Oral Maxillofac.Surg.*, v.19, p.257-9, 1990.
- 216 McNABB, P.C., TOMASI, T.B. Host defence mechanisms at mucosal surfaces. *Ann.Rev.Microbiol.*, v.35, p.477-96, 1981.
- 217 MEITNER, S.W., BOWEN, W.H., HAIDARIS, C.G. Oral and esophageal *Candida albicans* infection in hyposalivatory rats. *Infect.Immun.*, v.58, p.2228-36, 1990.
- 218 MESTRES, J.B., RUIZ, M.E., ESTRANY, C. Infecciones graves por *Candida parapsilosis* en el lactante. *An.Esp.Pediatr.*, v.32, p.70-2, 1990.
- 219 MEURMAN, J.H., RANTONEN, P. Salivary flow rate, buffering capacity, and yeast counts in 187 consecutive adult patients from Kuopio, Finland. *Scand.J.Dent.Res.*, v.102, p.229-34, 1994.
- 220 MEYER, S.A., AHEARN, D.G., YARROW, D. Genus 4. *Candida* Berkhout. In: KREGER-VAN RIJ, N.J.W. *The yeasts: a taxonomic study*. 3.ed., Amsterdam: Elsevier, 1984, p.585-844.
- 221 MINAGI, S. *et al.* Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. *Infect.Immun.*, v.47, p.11-4, 1985.
- 222 MIRANDA, V.C., GRECCO, A.J.T., ITO, I.Y. Influência de aparelhos ortodônticos removíveis sobre a microbiologia da saliva de crianças. *Ars Curandi Odontol.*, v.9, p.14-6, 1983.
- 223 MONIACI, D. *et al.* Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.477-81, 1990.
- 224 MOURAD, S., FRIEDMAN, L. Pathogenicity of *Candida*. *J.Bacteriol.*, v.81, p.550-1, 1961.
- 225 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.*, v.33, p.346-56, 1954.

- 226 MYEROWITZ, R.L., PAZIN, G.J., ALLEN, C.M. Disseminated candidiasis: Changes in incidence, underlying diseases, and pathology. *Am.J.Clin.Pathol.*, v.68, p.29-38, 1977.
- 227 NÄRHI, T.O., AINAMO, A., MEURMAN, J.H. Salivary yeasts, saliva, and oral mucosa in the elderly. *J.Dent.Res.*, v.72, p.1009-14, 1993.
- 228 _____, *et al.* Antimicrobial factors, sialic acid, and protein concentration in whole saliva of the elderly. *Scan J.Dent.Res.*, v.102, p.120-5, 1994.
- 229 NATER, J.P. *et al.* Etiologic factors in denture sore mouth syndrome. *J.Prosthet.Dent.*, v.40, p.367-73, 1978.
- 230 NAVARRO, C.M. *Efeitos da sialoadenectomia na carcinogênese bucal de ratos provocada pelo óxido de nitroquinolina (4NQO)*. Tese (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1992. 111p.
- 231 NAVAZESH, M., WOOD, G.J., BRIGHTMAN, V.J. Relationship between salivary flow rates and *Candida albicans* counts. *Oral Surg.OralMed.Oral Pathol.*, v.80, p.284-8, 1995.
- 232 NEELY, A.N., HOLDER, I.A. Effect of proteolytic activity on virulence of *Candida albicans* in burned mice. *Infect.Immun.*, v.58, p.1527-31, 1990.
- 233 NERY, E. O. *et al.* Influência dos antígenos do sistema ABO (H) na saliva sobre a presença do gênero *Candida* na cavidade bucal. *Rev.Odontol.Univ.São Paulo*, v.8, p.37-41, 1994.
- 234 NGUYEN, V.A., PENN, R.L. *Candida krusei* arthritis. A rare complication of neutropenia. *Am.J.Med.*, v.83, p.963-5, 1987.
- 235 NIELSEN, H. *et al.* Oral candidiasis and immune status of HIV-infected patients. *J.Oral Pathol.Med.*, v.23, p.140-3, 1994.

- 236 NIKAWA, H., HAMADA, T. Binding of salivary or serum proteins to *Candida albicans in vitro*. *Arch.Oral Biol.*, v.35, p.571-3, 1990.
- 237 ODDEN, K. *et al.* Candidal infection of the gingiva in HIV-infected persons. *J.Oral Pathol.Med.*, v.23, p.178-83, 1994.
- 238 ODDS, F.C. *et al.* Carriage of *Candida* species and *Candida albicans* biotypes in patients undergoing chemotherapy or bone marrow transplantation for haematological disease. *J.Clin.Pathol.*, v.42, p.1259-66, 1989.
- 239 _____. *Candida and candidosis*. Baltimore: Univ.Press, 1979, 352p.
- 240 _____. *Candida* infections: an overview. *Crit.Rev.Microbiol.*, v.15, p.1-5, 1987.
- 241 _____. Ecology and epidemiology of *Candida* species. *Zentralbl.Bakteriol.Hyg.*, v.257, p.207-12, 1984.
- 242 ÖHMAN, S.C., JONTELL, M. Treatment of angular cheilitis: the significance of microbial analysis, antimicrobial treatment, and interfering factors. *Acta Odontol.Scand.*, v.46, p.267-72, 1988.
- 243 OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.71-4, 1990.
- 244 OLIVER, D.E., SHILLITOE, E.J. Effects of smoking on the prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans*. *J.Oral Pathol.*, v.13, p.265-70, 1984.
- 245 OLSEN, I., HAANAES, H.R. Experimental palatal candidosis and saliva flow in monkeys. *Scand.J.Dent.Res.*, v.85, p.135-41, 1977.
- 246 _____, STENDERUP, A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.11-8, 1990.
- 247 _____. Denture stomatitis. Occurrence and distribution of fungi. *Acta Odontol.Scand.*, v.32, p.229-33, 1974.

- 248 OLSEN, I. Oral adhesion of yeast. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.45-53, 1990.
- 249 ÖSTERBERG, T., LANDAHL, S., HEDEGARD, B. Salivary flow, saliva, pH and buffering capacity in 70-year-old men and women. *J.Oral Rehabil.*, v.11, p.157-70, 1984.
- 250 PAPAS, A.S. *et al.* Caries prevalence in xerostomic individuals. *J.CanDent.Assoc.*, v.59, p.171-9, 1993.
- 251 PARVINEN, T., LARMAS, M. The relation of stimulated salivary flow rate and pH to *Lactobacillus* and yeast concentrations in saliva. *J.Dent.Res.*, v.60, p.1929-35, 1981.
- 252 PAULA, C.R. *et al.* Oral yeast in patients with cancer of the mouth, before and during radiotherapy. *Mycopathologia*, v.112, p.119-24, 1990.
- 253 PEDERSEN, W. *et al.* Age-dependent decreases in human submandibular gland flow rates as measured under resting and post-stimulation conditions. *J.Dent.Res.*, v.64, p.822-5, 1985.
- 254 PETTINATI, A.H. Anatomia patológica das candidíases. In: LACAZ, C.S. *Candidíases*. São Paulo, Ed.Pedagógica Universitária e Ed.Universidade de São Paulo, 1980, p.101-112.
- 255 POLLOCK, J.J. *et al.* Lysozyme - protease - inorganic monovalent anion lysis of oral bacterial strains in buffers and stimulated whole saliva. *J.Dent.Res.*, v.66, p.467-74, 1987.
- 256 _____ *et al.* Fungistatic and fungicidal activity of human parotid salivary histidine-rich polypeptides on *Candida albicans*. *Infect.Immun.*, v.44, p.702-7, 1984.
- 257 POLONELLI, L., MORACE, G. Re-evaluation of the *killer* phenomenon. *J.Clin.Microbiol.*, v.24, p.866-9, 1986.
- 258 PRICE, M.F., CAWSON, R.A. Phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v.15, p.179-85, 1977.

- 259 PRICE, M.F., WILKINSON, I.D., GENTRY, L.O. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v.20, p.7-14, 1982.
- 260 PUGH, D., CAWSON, R.A. The cytochemical localization of phospholipase A and lysophospholipase in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v.13, p.110-5, 1975.
- 261 QUIRINO, M.R. *et al.* Distribution of oral yeast in controlled and uncontrolled diabetic patients. *Rev.Microbiol.*, v.25, p.37-41, 1994.
- 262 RAMIREZ, V. *et al.* Oral lesions in mexican HIV-infected patients. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.482-5, 1990.
- 263 RAY, T.L., DIGRE, K.B., PAYNE, C.D. Adherence of *Candida* species to human epidermal corneocytes and buccal mucosal cells: correlation with cutaneous pathogenicity. *J.Invest.Dermatol.*, v.83, p.37-41, 1984.
- 264 _____, PAYNE, C.D. Scanning electron microscopy of epidermal adherence and cavitation in murine candidiasis: a role for *Candida* acid proteinase. *Infect.Immun.*, v.56, p.1942-9, 1988.
- 265 RAY, T.L., PAYNE, C.D. Comparative production and rapid purification of *Candida* acid proteinase from protein-supplemented cultures. *Infect.Immun.*, v.50, p.508-14, 1990.
- 266 _____, WUEPPER, K.D. Experimental cutaneous candidiasis in rodents. *J.Invest.Dermatol.*, v.66, p.29-33, 1976.
- 267 REDAELLI, P. Experimental moniliasis. *J.Trop.Med.Hyg.*, v.27, p.211-13, 1924.
- 268 REED, M.F. *et al.* *In vivo* effects of *Candida albicans* products on rat oral epithelium. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.326-9, 1990.

- 269 REICHL, R.B. Oral candidiasis: An old disease of growing concern. *Gen.Dent.*, v.38, p.114-20, 1990.
- 270 REINHOLDT, J., KROGH, P., HOLMSTRUP, P. Degradation of IgA1, IgA2, and S-IgA by *Candida* and *Torulopsis* species. *Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand.*, v.95, p.265-74, 1987.
- 271 REMOLD, H., FASOLD, H., STAIB, F. Purification and characterization of a proteolytic enzyme from *Candida albicans*. *Biochim.Biophys.Acta*, v.167, p.399-406, 1968.
- 272 RINDUM, J.L., STENDERUP, A., HOLMSTRUP, P. Identification of *Candida albicans* types related to healthy and pathological oral mucosa. *J.Oral Pathol.Med.*, v.23, p.406-12, 1994.
- 273 ROGERS, T.J., BALISH, E. Experimental *Candida albicans* infection in convencional rats. *Infect.Immun.*, v.14, p.33-38, 1980.
- 274 _____, _____. Immunity to *Candida albicans*. *Microbiol.Rev.*, v.44, p.660-82, 1980.
- 275 ROITT, I.M., LEHNER, T. *Immunology of oral diseases*. 2.ed. Oxford: Blackwell, 1983. 442p.
- 276 ROSSIE, K.M. *et al.* Influence of radiation therapy on oral *Candida albicans* colonization: a quantitative assessment. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.64, p.698-701, 1987.
- 277 ROTROSEN, D., CALDERONE, R.A., EDWARDS JR, J.E. Adherence of *Candida* species to host tissues and plastic surfaces. *Rev.Infect.Dis.*, v.8, p.73-85, 1986.
- 278 RUBINSTEIN, E. *et al.* Fungal endocarditis: analysis of 24 cases and review of the literature. *Medicine*, v.54, p.331-44, 1974.
- 279 RÜCHEL, R., TEGELER, R., TROST, M.A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v.20, p.233-44, 1982.

- 280 RÜCHEL, R., UHLEMANN, K., BÖNING, B. Secretion of acid proteinases by different species of the genus *Candida*. *Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg.*, v.255, p.537-48, 1983.
- 281 _____. A variety of *Candida* proteinases and their possible targets of proteolytic attack in the host. *Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg.*, v.257, p.266-74, 1984.
- 282 _____. Cleavage of immunoglobulins by pathogenic yeasts of the genus *Candida*. *Microbiol.Sci.*, v.3, p.316-9, 1986.
- 283 RUSSEL, C., JONES, J.H. Effects of oral inoculation of *Candida albicans* in tetracycline-treated rats. *J.Med.Microbiol.*, v.6, p.275-79, 1973a.
- 284 _____, LAY, K.M. Natural history of *Candida* species and yeasts in the oral cavities of infants. *Arch.Oral Biol.*, v.18, p.957-62, 1973.
- 285 SALTARELLI, C.G., GENTILE, K.A., MANCUSO, S.C. Lethality of *Candida* strains as influenced by the host. *Can.J.Microbiol.*, v.21, p.648-54, 1975.
- 286 SALVIN, S.B. Endotoxin in pathogenic fungi. *J.Immunol.*, v.69, p.89-99, 1952.
- 287 SAMARANAYAKE, L.P., HUGHES, A., MacFARLANE, T.W. The proteolytic potential of *Candida albicans* in human saliva supplemented with glucose. *J.Med.Microbiol.*, v.17, p.13-22, 1984a.
- 288 _____. *et al.* Growth and acid production of *Candida* species in human saliva supplemented with glucose. *J.Oral.Pathol.*, v.15, p.251-4, 1986.
- 289 _____, MacFARLANE, T.W. An *in vitro* study of the adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Arch.Oral Biol.*, v.25, p.603-9, 1980.

- 290 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.*, v.27, p.869-73, 1982a.
- 291 _____, _____. *Oral candidosis*. London, Wright, 1990. 265p.
- 292 _____, _____. The adhesion of the yeast *Candida albicans* to epithelial cells of human origin *in vitro*. *Arch.Oral Biol.*, v.26, p.815-20, 1981.
- 293 _____, _____. The effect of dietary carbohydrates on the *in vitro* adhesion of *Candida albicans* to epithelial cells. *J.Med.Microbiol.*, v.15, p.511-517, 1982b.
- 294 _____, McCOURTIE, J., MacFARLANE, T.W. Factors affecting the *in vitro* adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Arch.Oral Biol.*, v.25, p.611-5, 1980.
- 295 _____, McLAUGHLIN, L., _____. Adherence of *Candida* species to fibrin clots *in vitro*. *Mycopathologia*, v.102, p.135-8, 1988.
- 296 _____, RAESIDE, J.M., _____. Factors affecting the phospholipase activity of *Candida* species *in vitro*. *Sabouraudia*, v.22, p.201-7, 1984b.
- 297 _____. Host factors and oral candidosis. In: _____, MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990. p.66-103.
- 298 _____. Nutritional factors and oral candidosis. *J.Oral Pathol.*, v.15, p.61-5, 1986.
- 299 SANDIN, R.L. ANDIN, R.L. *et al.* Variation in affinity to *Candida albicans in vitro* among human buccal epithelial cells. *J.Med.Microbiol.*, v.24, p.151-5, 1987.

- 300 SANDIN, R.L. *et al.* Concurrent isolation of *Candida krusei* and *Candida tropicalis* from multiple blood cultures in a patient with acute leucemia. *Arch.Pathol.Lab.Med.*, v.117, p.521-3, 1993.
- 301 SANDVEN, P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.27-36, 1990.
- 302 SANGEORZAN, J.A. *et al.* Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: Colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance. *Am.J.Med.*, v.97, p.339-46, 1994.
- 303 SCHIODT, M. *et al.* Oral candidosis and hairy leukoplakia correlate with HIV infection in Tanzania. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.69, p.591-6, 1990.
- 304 SCHWARTZ, A., SHAW, J.H. Studies on the effect of selective desalivation on the dental caries incidence of albino rats. *J.Dent.Res.*, v.34, p.239-47, 1955.
- 305 SCHWARTZMAN, R.M., DEUBLER, M.J., DICE, P.F. Experimentally induced cutaneous moniliasis (*Candida albicans*) in the dog. *J.Small Anim.Pract.*, v.6, p.327-332, 1965.
- 306 SCULLY, C. Xerostomia. *Lancet*, v.1, p.884, 1989.
- 307 SEGAL, E., LEHRER, N., OFEK, I. Adherence of *Candida albicans* to human vaginal epithelial cells: inhibition by amino sugars. *Exp.Cell.Biol.*, v.50, p.13-7, 1982.
- 308 _____. Pathogenesis of human mycoses: role of adhesion to host surfaces. *Microbiol.Sci.*, v.4, p.344-7, 1987.
- 309 SHAFER, W.G., HINE, M.K., BARNET, M.L. *Tratado de patologia bucal*. 2ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985. p.363-7.
- 310 SHAKIR, B.S., MARTIN, M.V., SMITH, C.J. induced palatal candidosis in the wistar rat. *Arch.Oral Biol.*, v.26, p.787-93, 1981.

- 311 SHAKIR, B.S., MARTIN, M.V., SMITH, C.J. Relative effectiveness of various yeasts, *Candida ssp.* and *Torulopsis glabrata*, for inducing palatal infection in the wistar rat. *Arch.Oral Biol.*, v.28, p.1069-70, 1983.
- 312 _____, _____, _____. Effect on experimental palatal candidosis in the wistar rat of removal and re-insertion of acrylic appliances. *Arch.Oral Biol.*, v.31, p.617-21, 1986.
- 313 SHARP, A.M., ODDS, F.C., EVANS, E.G.V. *Candida* strains from neonates in a special care baby unit. *Arch.Dis.Child.*, v.67, p.48-52, 1992.
- 314 SHATZMAN, A.R., HENKIN, R.J. Gustin concentrations changes relative to salivary zinc and taste in humans. *Proc.Natl.Acad.Sci.*, v.78, p.3867-71, 1981.
- 315 SHAW, J.H., WEISBERGER, D. Carious lesions in cotton rat molars. II. Effect of removal of principal salivary glands. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v.70, p.103-5, 1949.
- 316 _____, WOLLMAN, D.H. The influence of sialoadenectomy in rats on food and water consumption. *J.Dent.Res.*, v.37, p.805-10, 1958.
- 317 SHEPHERD, M.G., POULTER, R.T.M., SULLIVAN, P.A. *Candida albicans*: biology, genetics and pathogenicity. *Annu.Rev.Microbiol.*, v.39, p.579-614, 1985.
- 318 _____. Biology of *Candida species*. In: SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990. p.10-20.
- 319 _____. Pathogenicity of morphological and auxotrophic mutants of *Candida albicans* in experimental infections. *Infect.Immun.*, v.50, p.541-4, 1985.
- 320 _____. The pathogenesis and host defence mechanisms of oral candidosis. *N.Z.Dental.J.*, v.82, p.78-81, 1986.

- 321 SHIMIZU, K., SHIMIZU, F., KAMIYAMA, K. Microbiological studies on denture-induced stomatitis in children. *Pediatr.Dent.*, v.9, p.304-7, 1987.
- 322 SHIMIZU, M.T. Enzimas histolíticas produzidas por leveduras do gênero *Candida*. *Rev.Microbiol.*, v.19, p.442-5, 1988.
- 323 SLUTSKY, B., BUFFO, J., SOLL, D.R. High-frequency switching of colony morphology in *Candida albicans*. *Science*, v.230, p.666-9, 1985.
- 324 _____, et al. White-opaque transition: a second high frequency switching in *Candida albicans*. *J.Bacteriol.*, v.169, p.189-97, 1987.
- 325 SMITH, D.J. et al. Effect of age on immunoglobulin content and volume of human labial gland saliva. *J.Dent. Res.*, v.71, p.1891-4, 1992.
- 326 SOBEL, J.D., MULLER, G., BUCKLEY, H.R. Critical role of germ tube formation in the pathogenesis of candidal vaginitis. *Infect.Immun.*, v.44, p.575-8, 1984.
- 327 _____, et al. Adherence of *Candida albicans* to human vaginal and buccal epithelial cells. *J.Infect.Dis.*, v.143, p.76-82, 1981.
- 328 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.*, v.14, p.52-6, 1986.
- 329 STENDERUP, A. Oral mycology. *Acta Oodontol. Scand.*, v.48, p.3-10, 1990.
- 330 SUDDICK, R.P., DOWD, F.J. Mechanism of secretion of saliva. In: *The biological basis of dental caries*. L. Menaker, Ed. Hagerstow: Harper and Row, 1980, p.64-112.
- 331 SWANGO, P.A., KLEINMAN, D.V., KONZELMAN, J.L. HIV and periodontal health: a study of military personnel with HIV. *J.Am. Dent.Assoc.*, v.122, p.49-54, 1991.

- 332 TABAK, A.L. *et al.* Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J.Oral Pathol.*, v.11, p.1-17, 1982.
- 333 TAPPER-JONES, L.M., ALDRED, M., WALKER, D.M. Prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans* in Sjögren's syndrome. *J.Clin.Pathol.*, v.33, p.282-7, 1980.
- 334 _____ *et al.* Candidal infections and populations of *Candida albicans* in mouths of diabetics. *J.Clin.Pathol.*, v.34, p.706-11, 1981.
- 335 TENOVUO, J., PRUITT, K., THOMAS, E.L. Peroxidase antimicrobial system of human saliva: hypothiocyanite levels in resting and stimulated saliva. *J.Dent.Res.*, v.61, p.982-85, 1982.
- 336 TOTTI, M.A.G. *et al.* Implantation of *Candida albicans* and other *Candida* species in the oral cavity of rats. *J.Oral Pathol.Med.*, v.25, p.308-310, 1996.
- 337 _____. *Recuperação de Candida albicans, C. parapsilosis, C. tropicalis, C. guilliermondii e C. krusei da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados.* Tese (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1994. 119p.
- 338 TOUYZ, L., ZG., PETERS, E. Candidal infection of the tongue with nonspecific inflammation of the palate. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.63, p.304-8, 1987.
- 339 TRONCHIN, G. *et al.* Adherence of *Candida albicans* germ tubes to plastic: ultrastructural and molecular studies of fibrillar adhesins. *Infect.Immun.*, v.56, p.1987-93, 1988.
- 340 TRUDEL, L. *et al.* Bacteriology of oral cavity of BALB/c mice. *Can.J.Microbiol.*, v.32, p.673-78, 1986.

- 341 TWETMAN, S., LINDQUIST, L. Effect of salivary lysozyme on glucose incorporation and acid production of *Streptococcus mutans*. *Caries Res.*, v.19, p.414-21, 1985.
- 342 _____, _____, SUND, M.L. Effect of human lysozyme on 2-deoxyglucose uptake by *Streptococcus mutans* and other oral microorganisms. *Caries Res.*, v.20, p.223-9, 1986.
- 343 TYLEND, C.A. *et al.* High levels of oral yeasts in early HIV-1 infection. *J.Oral Pathol.Med.*, v.18, p.520-4, 1989.
- 344 UETA, E. *et al.* Prevalence of *diabetes mellitus* in odontogenic infections and oral candidiasis: an analysis of neutrophil suppression. *J.Oral Pathol.Med.*, v.22, p.168-74, 1993.
- 345 van der WAAL, I., BEEMSTER, G., van der KWAST, A.M. Median rhomboid glossitis caused by *Candida*?. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.47, p.31-5, 1979.
- 346 van HOUTE, J. Bacterial adherence in the mouth. *Rev.Infect.Dis.*, v.5, p.659-69, 1983.
- 347 VANDENBUSSCHE, M., SWINNE, D. Yeasts oral carriage in denture wearers. *Mykosen*, v.27, p.431-5, 1984.
- 348 VASILAS, A. *et al.* The influence of morphological variation on *Candida albicans* adhesion to denture acrylic *in vitro*. *Arch.Oral Biol.*, v.37, p.613-22, 1992.
- 349 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.*, v.27, p.617-21, 1982.
- 350 WAHLIN, Y.B. Salivary secretion rate, yeast cells, and oral candidiasis in patients with acute leukemia. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol.*, v.71, p.689-95, 1991.

- 351 WALKER, D.M. *et al.* *Candida* and the immune defects in iron deficiency. *J.Dent.Res.* (Suppl. 5): v.52, p.938-9, 1973.
- 352 WALLACE, M., PETRUSNECK, F. The dental implications of xerostomia. A review of the literature. *J.Ala.Dent.Assoc.*, v.69, p.44-7, 1985.
- 353 WALLENIUS, K. Experimental oral cancer in the rat, with special reference to the influence of saliva. *Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand.* Suppl. 180, p.5-91, 1966.
- 354 WALSH, T.J., MERZ, W.G. Pathologic features in the human alimentary tract associated with invasiveness of *Candida tropicalis*. *Am.J.Clin.Pathol.*, v.85, p.498-502, 1986.
- 355 WATSON, C.J., KROONE, H.B. The survival of *Candida albicans* experimentally inoculated into the mouths of healthy human subjects. *J.Dent.*, v.9, p.248-53, 1981.
- 356 WATSON, I.B., MacDONALD, D.G. Oral mucosa and complete dentures. *J.Prosthet Dent.*, v.47, p.133-40, 1982.
- 357 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.*, v.26, p.88, 1940.
- 358 WILKIESON, C. *et al.* Oral candidosis in the elderly in long term hospital care. *J.Oral Pathol.Med.*, v.20, p.13-6, 1991.
- 359 WILLIAMSON, J.J. A study of extent of variation in daily counts of *Candida albicans* in saliva. *Aust.Dent.J.*, v.17, p.106-9, 1972b.
- 360 _____. Diurnal variation of *Candida albicans* counts in saliva. *Aust.Dent.J.*, v.17, p.54-60, 1972a.
- 361 WINGARD, J.R., MERZ, W.G., SARAL, R. *Candida tropicalis*: A major pathogen in immunocompromised patients. *Ann.Intern.Med.*, v.91, p.539-43, 1979.

- 362 WINGARD, J.R., *et al.* Pathogenicity of *Candida tropicalis* and *Candida albicans* after gastrointestinal inoculation in mice. *Infect.Immun.*, v.29, p.808-13, 1980.
- 363 _____, *et al.* Difference in virulence of clinical isolates of *Candida tropicalis* and *Candida albicans* in mice. *Infect.Immun.*, v.37, p.833-6, 1982.
- 364 WINNER, H.I. An experimental approach to the study of infections by yeast-like organisms. *Proc.R.Soc.Med.*, v.51, p.496-9, 1958.
- 365 WRAY, D., FELIX, D.H., CUMMING, C.G. Alteration of humoral responses to *Candida* in HIV infection. *Br.Dent.J.*, v.168, p.326-9, 1990.
- 366 YOON, K.J., EDGERTON, M., LEVINE, M.J. Binding of *Candida albicans* to human saliva and acquired pellicles. *J.Dent.Res.* (Special Issue), v.68, p.355, 1989.
- 367 YOUNG, G., RESCA, H.G., SULLIVAN, M.T. The yeast of the normal mouth and their relation to salivary acidity. *J.Dent.Res.*, v.30, p.426-30, 1951.
- 368 ZEGARELLI, D.J. Fungal infections of the oral cavity. *Otolaryngol.Clin.North Am.*, v.26, p.1069-89, 1993.

ANEXO 1 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de camundongos normais (n = 20), inoculados com *C. albicans* (inóculo), nos diversos períodos de tempo estudados.

DIAS	CAMUNDONGOS NORMAIS																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	31,6	30,6	37,6	48,2	45,3	35,7	20,6	59,2	40,4	4,9	43,8	43,6	17,5	17,2	26,3	45,1	27,7	17,1	30,1	36,8
2	22,2	37,2	26,1	42,9	33,1	18,8	32,9	66,3	46,5	13,1	31,5	20,0	20,6	21,0	35,2	51,5	21,5	25,4	40,0	50,4
3	31,3	33,0	21,4	35,7	23,0	32,6	54,0	43,2	45,4	18,3	32,7	20,7	21,0	22,1	23,7	40,4	22,6	20,3	25,9	25,5
5	20,8	34,1	38,0	39,9	32,6	38,9	49,5	43,0	37,0	20,1	25,1	25,0	15,6	13,9	28,5	54,5	19,7	32,8	24,7	48,7
8	32,0	20,5	28,0	41,3	27,8	28,3	22,5	50,7	65,2	21,5	26,2	18,2	27,1	33,2	34,1	49,4	24,5	32,0	27,0	47,7
15	28,8	20,6	28,8	25,0	31,9	40,1	21,4	26,9	60,5	25,0	35,1	20,9	21,6	9,1	22,8	34,9	28,3	31,0	45,4	48,1
30	3,8	20,2	35,4	52,5	48,1	31,1	29,8	63,4	48,4	42,3	29,7	29,9	8,8	35,6	45,9	27,3	33,4	19,3	49,5	42,3
45	32,0	39,3	43,0	58,6	39,4	56,7	34,6	79,3	54,3	41,4	41,4	54,0	27,1	44,4	55,1	43,0	42,7	51,2	55,1	63,8
60	34,9	29,4	55,2	42,8	22,6	32,1	14,6	91,2	38,4	40,8	41,5	58,3	27,1	27,3	53,7	48,2	34,7	55,3	54,6	50,4
75	42,1	39,7	58,3	49,2	37,4	62,4	57,2	72,4	59,8	71,2	38,9	35,9	48,4	51,2	74,4	68,3	39,1	67,4	59,3	52,3

ANEXO 2 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de camundongos sialoadenectomizados (n = 20), inoculados com *C. albicans* (linóculo), nos diversos períodos de tempo estudados.

DIAS	CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	7,5	4,4	5,7	5,0	8,1	6,3	16,1	5,6	6,6	5,3	4,8	3,7	5,3	2,8	4,0	3,6	5,6	12,1	5,0	5,3
2	3,5	9,0	5,4	10,5	7,2	3,1	3,8	7,7	3,8	2,6	10,2	7,3	5,2	6,2	4,8	9,0	6,6	8,0	5,3	5,2
3	6,3	13,9	6,0	12,4	5,4	6,4	4,8	5,8	7,0	2,0	5,8	8,6	8,4	7,1	10,7	11,4	4,4	8,3	7,1	13,5
5	2,6	21,8	5,8	13,5	5,4	8,3	5,0	25,0	3,9	5,3	5,4	5,1	6,0	2,4	7,5	14,3	3,5	5,5	6,0	6,9
8	3,8	0,7	9,5	4,1	3,3	3,2	7,2	6,4	7,2	6,2	6,0	2,8	3,6	4,1	9,7	10,1	32,7	7,2	4,3	5,0
15	1,0	0,6	2,7	9,4	3,2	2,1	3,5	3,1	9,6	0,2	3,6	3,5	2,2	3,2	4,8	2,5	3,9	5,5	3,7	21,1
30	0,4	2,4	1,0	0,3	0,3	0,4	1,6	2,8	6,2	4,0	0,9	7,8	5,4	13,6	4,5	3,4	9,1	5,5	3,7	4,3
45	2,5	5,6	6,8	8,1	0,6	4,0	0,3	2,9	3,9	2,5	0,3	3,3	1,8	5,6	4,2	11,3	5,8	2,7	7,2	3,8
60	4,4	2,9	4,5	6,9	4,2	3,2	1,8	10,7	0,4	2,2	4,0	3,0	4,1	4,2	3,2	2,4	2,9	4,1	1,7	4,9
75	2,6	0,8	1,9	3,2	2,4	2,7	0,8	1,7	1,1	6,1	1,2	2,4	2,1	1,4	3,1	2,2	2,7	8,0	1,2	0,9

ANEXO 3 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de camundongos normais (n = 20), inoculados com *C. albicans* (4 inóculos), nos diversos períodos de tempos estudados.

DIAS	CAMUNDONGOS NORMAIS																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	40,0	58,2	13,8	28,4	36,5	55,2	47,6	71,8	61,1	40,2	40,5	46,9	18,7	51,6	56,3	72,2	23,9	41,6	44,2	42,5
2	69,8	57,6	29,4	26,8	24,0	46,0	28,2	47,9	50,1	26,0	32,6	35,1	16,3	71,1	62,0	51,7	15,5	50,8	41,7	52,6
3	62,8	52,4	31,3	15,5	39,6	56,9	35,6	45,9	65,2	19,6	55,7	35,2	23,6	47,8	34,5	55,6	20,6	25,8	21,6	65,8
5	48,0	52,9	25,5	50,9	46,9	46,9	34,1	53,2	41,6	22,7	34,8	30,0	15,3	44,4	46,4	33,3	26,2	21,8	28,8	48,2
8	44,3	58,3	48,1	60,7	41,3	50,5	48,4	51,1	45,2	32,5	62,2	32,3	7,3	27,5	20,0	54,4	31,5	38,2	34,4	51,6
15	47,5	51,1	52,3	62,9	53,5	48,7	50,5	66,6	59,2	56,1	39,7	43,3	22,0	40,1	62,6	44,2	7,5	18,9	21,8	66,9
30	57,3	45,6	45,0	62,6	62,2	64,9	37,8	55,3	36,1	47,7	32,6	28,7	19,8	35,6	32,8	71,9	23,5	51,9	30,4	51,8
45	70,6	74,3	47,8	70,1	75,2	59,5	49,9	49,0	59,0	21,9	48,5	43,2	14,6	70,8	63,6	54,9	39,3	50,8	46,4	90,2
60	38,6	84,3	35,9	50,7	34,5	23,4	55,9	41,8	60,2	45,6	33,6	30,2	56,0	36,0	20,7	43,3	76,9	28,4	61,0	40,6
75	38,2	123,9	33,1	35,5	46,4	30,8	33,0	29,7	45,1	57,0	34,6	34,5	62,8	32,8	19,4	44,0	77,8	27,5	43,0	33,7
90	50,5	70,5	33,3	51,2	50,9	34,9	26,4	27,4	34,1	36,3	42,1	43,9	51,0	32,0	29,0	14,7	64,1	34,0	57,9	38,5
105	28,9	60,9	35,6	32,2	57,7	33,1	30,0	32,3	96,6	35,7	38,8	39,1	45,0	46,4	32,4	8,8	54,8	24,9	55,4	22,7
120	37,5	67,3	16,6	42,0	62,3	34,5	38,4	23,2	28,6	34,7	41,2	25,4	47,2	26,4	19,7	32,6	67,8	9,2	43,4	32,6
135	55,1	65,5	29,6	36,0	50,3	32,5	42,0	62,4	42,0	23,5	15,4	42,5	24,7	27,7	52,4	54,3	18,7	23,5	59,6	35,5
150	18,4	54,5	48,9	61,2	62,4	57,4	49,0	62,5	46,2	42,4	35,8	38,4	58,0	54,6	29,3	64,8	38,4	41,5	63,5	34,8
165	44,4	39,0	43,0	27,3	52,3	38,0	57,2	73,6	44,5	43,2	40,0	58,4	48,7	71,2	62,4	61,2	57,5	66,8	99,0	78,3
180	48,4	43,4	28,6	53,5	41,4	46,3	53,4	43,8	60,0	19,4	38,2	59,2	18,4	35,8	47,0	39,0	48,9	28,3	69,0	51,0
195	39,3	25,8	19,3	61,0	27,3	52,3	30,5	49,3	43,7	38,4	17,9	42,8	37,0	41,5	56,8	69,0	29,4	49,5	70,4	67,8
210	45,6	58,0	47,4	26,9	37,2	49,4	32,3	54,3	52,3	25,8	37,8	45,0	57,8	44,6	28,5	49,0	47,8	36,0	6,8	50,7
225	22,8	43,0	44,3	51,7	38,9	49,3	38,5	47,3	38,0	42,0	31,3	43,3	40,4	42,6	32,1	41,3	19,3	42,8	54,2	53,4
240	37,9	67,1	58,7	49,7	39,1	51,2	42,0	45,6	53,4	28,4	19,1	37,4	42,0	29,0	30,3	72,3	64,5	43,7	37,6	32,8
255	29,2	59,8	39,1	48,5	28,4	49,0	51,9	37,0	50,0	35,6	41,0	39,5	32,3	38,4	51,2	59,4	22,0	32,8	28,5	42,7

ANEXO 4 - Resultados individuais da quantidade de saliva (mg) coletada 5 minutos da cavidade bucal de camundongos sialoadenectomizados (n = 20), inoculados com *C. albicans* (4 inóculos), nos diversos períodos de tempo estudados.

DIAS	CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	5,9	7,4	10,0	4,7	14,4	7,4	6,3	5,2	22,9	10,7	8,2	6,3	9,7	2,7	12,6	9,7	6,1	4,0	8,4	7,6
2	6,9	7,6	12,4	11,8	7,6	9,1	5,0	4,0	7,9	13,6	9,7	4,9	7,6	3,6	15,7	2,7	11,8	4,0	5,5	6,3
3	5,0	10,1	9,5	7,7	11,5	11,0	9,0	1,8	6,5	7,0	6,5	7,9	12,5	4,7	14,8	4,7	11,9	5,1	15,8	5,8
5	8,2	5,9	12,2	7,9	6,8	15,0	9,1	8,6	9,4	15,2	12,0	7,4	15,8	9,7	11,3	5,3	11,5	8,7	14,7	7,0
8	5,1	12,0	16,4	7,0	14,6	14,4	20,7	8,5	4,4	21,7	3,9	11,3	13,7	3,3	4,0	5,6	6,9	2,7	13,5	9,3
15	7,3	14,2	10,8	7,5	23,1	16,0	12,0	6,1	13,4	6,0	2,8	4,3	11,2	4,6	7,7	5,9	6,1	1,9	4,0	5,7
30	10,4	22,1	11,8	9,9	35,5	17,5	13,0	6,7	11,7	6,8	7,3	10,0	7,8	7,1	11,2	8,1	5,0	5,9	8,5	11,3
45	8,2	-	10,3	5,9	9,6	4,7	5,7	5,6	9,2	13,3	4,0	8,3	7,2	8,1	15,2	3,9	6,2	3,9	7,0	9,6
60	5,9	-	6,0	13,3	8,4	4,6	6,9	8,4	9,2	10,6	8,2	5,3	3,8	4,3	4,1	3,3	3,8	5,5	-	9,1
75	5,4	-	3,8	4,5	7,4	5,1	8,9	7,6	8,6	5,7	3,1	9,9	3,9	4,1	2,5	4,2	4,5	5,3	-	6,1
90	0,9	-	1,1	2,1	7,9	3,1	7,1	2,7	5,1	3,4	0,4	1,2	0,6	5,3	1,7	2,1	0,6	4,2	-	3,7
105	7,0	-	5,8	5,1	5,1	3,6	8,5	7,0	10,9	8,3	0,9	5,6	8,1	5,0	5,2	5,0	6,4	-	-	4,6
120	4,3	-	2,2	3,0	2,2	1,9	5,0	2,4	6,9	7,4	3,2	3,9	1,6	5,2	4,7	3,4	0,6	-	-	1,8
135	2,8	-	2,0	1,8	1,6	0,9	3,4	3,2	7,2	1,1	1,7	2,8	0,5	3,3	2,7	0,7	1,8	-	-	1,2
150	4,2	-	3,4	1,7	2,9	3,3	6,6	6,4	8,7	7,0	4,5	2,7	4,3	3,8	4,8	5,2	2,8	-	-	1,9
165	4,8	-	6,2	5,2	10,9	5,8	6,0	2,3	20,8	10,5	3,8	5,3	6,5	4,7	3,4	1,2	1,7	-	-	2,4
180	3,5	-	8,2	4,7	8,1	4,6	6,0	7,3	8,8	5,3	5,2	3,8	2,7	6,3	6,1	1,4	2,2	-	-	3,8
195	3,7	-	4,2	6,2	1,2	2,1	4,9	3,9	5,8	6,7	3,9	8,1	1,7	4,2	1,9	2,7	0,8	-	-	2,1
210	1,2	-	2,5	3,1	4,2	-	-	3,7	-	9,1	2,2	4,7	3,6	0,8	3,4	4,3	3,2	-	-	8,6
225	7,1	-	1,9	3,0	10,1	-	-	2,5	-	14,5	3,2	4,8	1,9	0,8	5,2	4,3	3,7	-	-	9,1
240	5,2	-	6,3	3,7	1,2	-	-	2,6	-	14,9	2,2	3,1	0,9	6,2	5,2	4,7	6,4	-	-	0,7
255	5,7	-	4,1	1,1	8,4	-	-	2,2	-	16,1	5,2	1,8	1,9	4,7	7,8	4,8	6,2	-	-	4,1

(-): Morte do animal.

ANEXO 5. Resultados individuais da biotipagem pela observação do fenômeno *killer*, em amostras de *Candida* recuperadas nos diferentes períodos, da cavidade bucal de camundongos **normais** que receberam 1 inóculo da levedura .

COLETA (DIAS)	AMOSTRA	ATIVIDADE DO 1.º triplet				ATIVIDADE DO 2.º triplet				ATIVIDADE DO 3.º triplet				BIOTIPO	ESPÉCIE
		K1	K2	K3	CÓDIGO	K4	K5	K6	CÓDIGO	K7	K8	K9	CÓDIGO		
1	41	+	+	+	1	+	+	-	2	+	+	+	1	121	<i>C. albicans</i>
1	41	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	06	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	06	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	05	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	05	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
5	35	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
5	35	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	30	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	30	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	45	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	45	+	+	+	1	+	+	-	2	+	+	+	1	121	<i>C. albicans</i>
15	03	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
30	36	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
30	36	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>

ANEXO 6. Resultados individuais da biotipagem pela observação do fenômeno *killer*, em amostras de *Candida* recuperadas nos diferentes períodos, da cavidade bucal de camundongos *sialoadenectomizados* que receberam 1 inóculo da levedura .

COLETA (DIAS)	AMOSTRA	ATIVIDADE DO 1.º triplet				ATIVIDADE DO 2.º triplet				ATIVIDADE DO 3.º triplet				BIOTIPO	ESPÉCIE
		LEVEDURAS				LEVEDURAS				LEVEDURAS					
		K1	K2	K3	CÓDIGO	K4	K5	K6	CÓDIGO	K7	K8	K9	CÓDIGO		
1	28	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
1	28	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	42	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	42	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	15	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	15	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
5	37	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
5	37	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	11	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	11	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	48	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	48	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
30	17	-	+	+	4	+	+	+	1	+	+	+	1	411	<i>C. albicans</i>
30	17	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
45	32	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
45	32	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	121	<i>C. albicans</i>
60	13	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
60	13	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
75	12	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
75	12	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>

ANEXO 7. Resultados individuais da biotipagem pela observação do fenômeno *killer*, em amostras de *Candida* recuperadas nos diferentes períodos, da cavidade bucal de camundongos **normais** que receberam 4 inóculos da levedura .

COLETA AMOSTRA (DIAS)	ATIVIDADE DO 1.º triplet				ATIVIDADE DO 2.º triplet				ATIVIDADE DO 3.º triplet				BIOTIPO	ESPÉCIE	
	K1	K2	K3	CÓDIGO	K4	K5	K6	CÓDIGO	K7	K8	K9	CÓDIGO			
1	02	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
1	02	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	39	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	39	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	31	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	31	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
5	26	+	+	-	1	+	+	-	2	+	+	+	1	121	<i>C. albicans</i>
5	26	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	24	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	24	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	33	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	33	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
30	14	-	+	-	4	-	+	+	4	+	+	+	1	441	<i>C. albicans</i>
30	14	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
45	08	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
45	08	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
60	29	+	+	+	1	+	+	-	2	+	+	+	1	121	<i>C. albicans</i>
60	29	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
75	09	-	+	-	4	+	+	+	1	+	+	+	1	411	<i>C. albicans</i>
75	09	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
90	46	+	+	+	1	+	+	-	2	+	+	+	1	121	<i>C. albicans</i>
90	46	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
105	38	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
105	38	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
120	19	-	+	-	4	+	+	+	1	+	+	+	1	411	<i>C. albicans</i>
120	19	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
135	40	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
150	16	-	+	-	4	+	+	+	1	+	+	+	1	411	<i>C. albicans</i>
150	16	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
165	21	-	+	-	4	+	+	+	1	+	+	+	1	411	<i>C. albicans</i>
180	44	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
180	44	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
195	04	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
195	04	+	+	-	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>

ANEXO 8. Resultados individuais da biotipagem pela observação do fenômeno *killer*, em amostras de *Candida* recuperadas nos diferentes períodos, da cavidade bucal de camundongos **sialoadenectomizados** que receberam 4 inóculos da levedura.

COLETA (DIAS)	AMOSTRA	ATIVIDADE DO 1.º triplet				ATIVIDADE DO 2.º triplet				ATIVIDADE DO 3.º triplet				BIOTIPO	ESPÉCIE
		LEVEDURAS				LEVEDURAS				LEVEDURAS					
		K1	K2	K3	CÓDIGO	K4	K5	K6	CÓDIGO	K7	K8	K9	CÓDIGO		
1	54	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
1	54	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	56	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
2	56	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	57	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
3	57	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
5	53	+	+	+	1	+	+	-	2	+	+	+	1	121	<i>C. albicans</i>
5	53	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	58	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
8	58	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	55	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
15	55	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
30	52	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
30	52	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
45	25	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
45	25	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
60	07	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
60	07	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
75	10	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
75	10	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
90	27	-	+	+	4	+	+	+	1	+	+	+	1	411	<i>C. albicans</i>
90	27	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>

ANEXO 8 (Continuação). Resultados individuais da biotipagem pela observação do fenômeno *killer*, em amostras de *Candida* recuperadas nos diferentes períodos, da cavidade bucal de camundongos **sialoadenectomizados** que receberam 4 inóculos da levedura.

COLETA AMOSTRA (DIAS)	ATIVIDADE DO 1.º triplet				ATIVIDADE DO 2.º triplet				ATIVIDADE DO 3.º triplet				BIOTIPO	ESPÉCIE	
	K1	K2	K3	CÓDIGO	K4	K5	K6	CÓDIGO	K7	K8	K9	CÓDIGO			
105	22	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
105	22	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
120	49	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
120	49	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
135	43	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
135	43	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
150	01	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
150	01	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
165	47	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
165	47	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
180	34	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
180	34	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
195	50	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
195	50	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
210	18	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
210	18	-	+	+	4	+	+	+	1	+	+	+	1	411	<i>C. albicans</i>
225	51	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
225	51	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
240	20	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
240	20	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
255	23	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>
255	23	+	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	1	111	<i>C. albicans</i>

ANEXO 9. Resultados individuais da observação de candidose no dorso da língua de camundongos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), 1 dia após 4 inoculações com *C.albicans*.

ANIMAIS	NORMAIS						SIALOADENECTOMIZADOS					
	A		B		C		A		B		C	
	CANDIDOSE		CANDIDOSE		CANDIDOSE		CANDIDOSE		CANDIDOSE		CANDIDOSE	
	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua
1	0	-	0	-	0	-	3	PV	9	PV-PCS	8	PV-PG-PCS
2	0	-	0	-	0	-	1	PV	3	PV-PCS	1	PV
3	0	-	0	-	0	-	2	PV	2	PV	2	PV-PCS
4	0	-	0	-	0	-	4	PV-PCS	3	PV-PCS	3	PV-PCS
5	0	-	0	-	0	-	3	PV	5	PV-PCS	6	PV-PG-PCS
6	0	-	0	-	0	-	0	-	3	PV-PCS	2	PV-PCS

(PCS) - PÁPILAS CÔNICAS SIMPLES

(PV) - PÁPILAS VERDADEIRAS

(PG) - PÁPILAS GIGANTES

(F) - PORÇÃO FARÍNGEA

(A) - PORÇÃO CENTRAL DO DORSO DA LÍNGUA

(B) - PORÇÃO LATERAL

(C) - BORDA DO DORSO DA LÍNGUA

ANEXO 10. Resultados individuais da observação de candidose no dorso da língua de camundongos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), 2 dias após 4 inoculações com *C.albicans*.

ANIMAIS	NORMAIS						SIALOADENECTOMIZADOS					
	A		B		C		A		B		C	
	CANDIDOSE						CANDIDOSE					
	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua
7	0	-	0	-	0	-	2	PV-PCS	4	PV-PCS	4	PV-PG-PCS
8	0	-	0	-	0		2	PV-PCS	4	PV-PCS	6	PV-PG-PCS
9	1	PV-PCS	1	PCS	1	PV	0	-	0	-	0	-
10	1	PV	3	PV	1	PV	3	PV	3	PV	3	PV
11	0	-	0	-	0	-	3	PV-PCS	3	PV-PCS	3	PV-PCS
12	0	-	0	-	0	-	2	PV	2	PV	2	PV

ANEXO 11 . Resultados individuais da observação de candidose no dorso da língua de camundongos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6) , 3 dias após 4 inoculações com *C.albicans*.

ANIMAIS	NORMAIS						SIALOADENECTOMIZADOS					
	A		B		C		A		B		C	
	CANDIDOSE						CANDIDOSE					
	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua
13	2	PCS	2	PCS	2	PCS	3	PV-PCS	2	PV-PCS	2	PV-PCS
14	0	-	0	-	0	-	3	PV-PCS	3	PV-PCS	2	PCS
15	0	-	0	-	0	-	1	PV	1	PV	1	PV
16	0	-	0	-	0	-	4	PV-PCS	3	PV-PCS	2	PV-PCS
17	0	-	0	-	0	-	1	PCS	1	PCS	2	PV-PCS
18	0	-	0	-	0	-	2	PV	2	PV-PCS	4	PV-PCS

ANEXO 12. Resultados individuais da observação de candidose no dorso da língua de camundongos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), 5 dias após 4 inoculações com *C.albicans*.

ANIMAIS	NORMAIS						SIALOADENECTOMIZADOS					
	A		B		C		A		B		C	
	CANDIDOSE						CANDIDOSE					
	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua
19	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
20	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1	PCS
21	0	-	0	-	0	-	3	PV-PCS	3	PV-PCS	4	PV-PCS
22	0	-	0	-	0	-	1	PV	1	PV	1	PV
23	0	-	0	-	0	-	2	PV	2	PV	2	PV
24	0	-	0	-	0	-	3	F-PV-PCS	5	F-PV-PCS	4	PV-PCS

ANEXO 13. Resultados individuais da observação de candidose no dorso da língua de camundongos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), 8 dias após 4 inoculações com *C.albicans*.

ANIMAIS	NORMAIS						SIALOADENECTOMIZADOS					
	A		B		C		A		B		C	
	CANDIDOSE						CANDIDOSE					
	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua
25	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
26	0	-	0	-	0	-	4	PV-PCS	4	PV-PCS	4	PV-PCS
27	0	-	0	-	0	-	0	-	1	PV	1	PV
28	0	-	0	-	0	-	4	PV-PCS	3	PV-PCS	3	PCS
29	0	-	0	-	0	-	2	PV-PCS	3	PV-PCS	2	PV-PCS
30	0	-	0	-	0	-	2	PV	2	PV	2	PV

ANEXO 26. Resultados individuais da observação de candidose no dorso da língua de camundongos normais (n=6) e sialoadenectomizados (n=6), 8 dias após 1 inoculação com *C.albicans*.

ANIMAIS	NORMAIS						SIALOADENECTOMIZADOS					
	A		B		C		A		B		C	
	CANDIDOSE						CANDIDOSE					
	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua	n.o áreas	Regiões da língua
25	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
26	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1	PCS
27	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
28	0	-	0	-	0	-	2	PV-PCS	2	PV-PCS	2	PV-PCS
29	0	-	0	-	0	-	2	PV-PCS	2	PV-PCS	2	PV-PCS
30	0	-	1	PCS	0	-	0	-	0	-	0	-

