

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**João Milton Rocha Gusmão**

**LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida* NA SALIVA DE  
USUÁRIOS DE PRÓTESE PARCIAL REMOVÍVEL A  
GRAMPO**

**Taubaté-SP**  
**2007**

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**João Milton Rocha Gusmão**

**LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida* NA SALIVA DE  
USUÁRIOS DE PRÓTESE PARCIAL REMOVÍVEL A  
GRAMPO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, nível de Mestrado da Universidade de Taubaté.

Área de concentração: Prótese Dentária

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Soléo Ferreira dos Santos

**Taubaté-SP**  
**2007**

Leveduras do gênero *Candida* na saliva de usuários de prótese parcial removível a grampo/ organizador João Milton Rocha Gusmão...[et al]- Taubaté: UNITAU/ PRPPG, 2007. 76f.: il

1. Dissertação. I. Universidade de Taubaté. Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. II João Milton Rocha Gusmão.

**JOÃO MILTON ROCHA GUSMÃO**

**LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida* NA SALIVA DE USUÁRIOS DE PRÓTESE  
PARCIAL REMOVÍVEL A GRAMPO**

Dissertação apresentada para obtenção do título  
de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em  
Odontologia, nível de Mestrado da Universidade  
de Taubaté.

Área de concentração: Prótese Dentária

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

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

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Universidade de Taubaté

Assinatura \_\_\_\_\_

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

Assinatura \_\_\_\_\_

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

Assinatura \_\_\_\_\_

Ao meu filho João Victor, desejo sucesso em tudo de nobre que ele deseje realizar...

À minha esposa Cristiane.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, o grande Eu Sou, arquiteto de todas as etapas de minha vida.

Aos meus pais Itamar Gusmão de Oliveira e Raimunda Maria Rocha de Oliveira.

À minha esposa Cristiane Aguiar Gusmão e ao meu filho João Victor Aguiar Gusmão pela compreensão nas horas de ausência.

À professora Silvana Soléo Ferreira dos Santos, pela excelente orientação, fundamental para a realização deste trabalho.

Ao professor Antônio Olavo Cardoso Jorge, pela orientação inicial e colaboração em todas as etapas deste trabalho.

Ao professor Maximiliano Piero Neisser da Universidade de Taubaté pelo auxílio na elaboração da metodologia para mensuração da área das próteses.

Ao professor Ivan da Silva de Faria, auxiliar docente das disciplinas de Microbiologia e Imunologia da Universidade de Taubaté, os meus mais sinceros agradecimentos pela grande ajuda.

À professora Zélia Chequer pela correção ortográfica do texto.

À professora Marina Buselli professora de Metodologia Científica, pela correção do trabalho segundo as normas da ABNT.

À professora Rosana Clemente pela realização da análise estatística dos resultados da pesquisa.

À colega Flávia Sabrina Vasconcelos, pelo empréstimo da termoplastificadora a vácuo utilizada neste trabalho.

Às funcionárias do Laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté, Jane Rose Dias Dionísio Rodrigues, Tânia Cristina Sumita, Luzia Poulard, Marisa Fátima dos Santos e Cristiane de Moura, pelo inestimável auxílio nas diversas etapas do trabalho laboratorial.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Taubaté.

À Prefeitura Municipal de Vitória da Conquista, pela liberação de carga horária para o cumprimento dos créditos do Mestrado.

A todos os pacientes que, de bom grado, participaram do estudo.

A Sulane Vidal Lopes, Graciene Sousa Santos, Sônia Melo Silva, Cláudia Cerqueira Souza e Irene Maria Freire, que me auxiliaram na coleta de saliva e plastificação das próteses em Vitória da Conquista.

“Tudo posso Naquele que me fortalece”  
Fil. 4,13



## RESUMO

Microrganismos do gênero *Candida* estão presentes na saliva de aproximadamente metade da população e geralmente não causam doenças. Usuários de próteses totais removíveis apresentam aumento no número de *Candida* na saliva, o que contribui para o desenvolvimento de estomatite protética. Além de aderirem à resina acrílica, esses microrganismos são capazes de aderir à liga metálica de cobalto-cromo de próteses parciais removíveis a grampo. O propósito deste trabalho foi relacionar a presença e o número de leveduras do gênero *Candida* na saliva não estimulada de usuários de prótese parcial removível a grampo com a proporção metal/resina acrílica presente nas próteses. Saliva de 40 usuários de prótese parcial removível a grampo e de 40 indivíduos não usuários de qualquer tipo de prótese removível foi coletada e semeada, e as unidades formadoras de colônia sugestivas de *Candida* foram contadas e identificadas. A proporção metal/resina acrílica de cada prótese foi medida utilizando-se placas de silicone prensadas sobre cada prótese. Os moldes de silicone foram pesados e, de acordo com o peso, a área foi calculada. Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente com nível de significância de 5%. Houve diferença estatística significativa entre os grupos teste e controle, para o número de unidades formadoras de colônia por mililitro (nº de UFC/ml) de saliva e fraca correlação positiva entre área de metal e resina com nº de UFC/ml encontrados no grupo-teste, todavia sem diferença estatística significativa. A espécie mais prevalente nas amostras estudadas tanto no grupo-teste quanto no grupo-controle foi *Candida albicans*.

Palavras-chave: *Candida*. Prótese parcial removível. Aderência.

## ABSTRACT

Microorganisms of the *Candida* genus are present in the saliva of approximately half the population and generally do not cause diseases. Removable complete denture wearers present increased numbers of *Candida* in saliva, which contribute to the development of prosthetic stomatitis. In addition to adhering to acrylic resin, these microorganisms are capable of adhering to the cobalt-chrome metal alloy of clipped-on removable partial dentures. The purpose of this study was to relate the presence and number of *Candida* genus yeasts in the not stimulated saliva of clipped-on removable partial dentures to the proportion of metal/acrylic resin present in the dentures. Saliva from forty clipped-on removable partial denture wearers and of forty non-wearers of any type of removable denture was collected, seeded, and the colony forming units suggestive of *Candida* counted and identified. The metal/acrylic resin proportion of each denture was measured, using silicone plates pressed over each denture. The silicone molds were weighed, and from the weight, the area was calculated. The results obtained were statistically assessed at a level of significance of 5%. There was statistically significant difference between the test and control groups for the number of colony forming units per milliliter (No. of CFU/ml) of saliva and weak positive correlation between the metal and resin area with the No. of CFU/ml found in the test group, however, without statistically significant difference. The most prevalent species in the studied samples, both in the test and control groups, was *Candida albicans*.

Key Words: *Candida*. Removable Partial Denture. Adherence.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Grupo de estudo.....</b>	<b>35</b>
<b>4.2 Mensuração da área de resina acrílica e metal das próteses.....</b>	<b>35</b>
<b>4.3 Coleta e processamento da saliva.....</b>	<b>38</b>
<b>4.4 Identificação dos microrganismos.....</b>	<b>39</b>
4.4.1 Formação do tubo germinativo.....	40
4.4.2 Microcultivo.....	41
4.4.3 Assimilação de carboidratos.....	42
4.4.4 Fermentação de carboidratos.....	44
4.4.5 Diferencial de temperatura.....	44
<b>4.5 Análise estatística.....</b>	<b>45</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>47</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>65</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Microrganismos do gênero *Candida* estão presentes na cavidade bucal de cerca de 50% da população humana e geralmente não causam doenças. Podem, entretanto, em determinadas circunstâncias, atuar como agente infeccioso, ocasionando desenvolvimento da candidose. A estomatite protética (candidose crônica atrófica) é uma inflamação da mucosa localizada sob as próteses acrílicas, sendo a forma mais comum de infecção bucal por *Candida* e afeta dois terços da população usuária dessas próteses, podendo trazer sérios prejuízos aos pacientes, como sangramento e dor, o que pode tornar inviável o uso de próteses mucossuportadas. *C. albicans* é o principal agente etiológico dessa infecção (KULAK; ARIKAN; KAZAZOGLU, 1997).

Já está estabelecido que usuários de próteses totais removíveis podem apresentar aumento do número de leveduras do gênero *Candida* na saliva. (BARBEAU et al., 2003; CROSS et al., 2004; MONROY et al., 2005; RAMAGE et al., 2004). Esses microorganismos têm sido recuperados de próteses totais em resina acrílica, em elevado número de unidades formadoras de colônia e diversidade de espécies (ARENDORF; WALKER, 1979; KULAK; ARIKAN; KAZAZOGLU, 1997; MONROY et al., 2005; OLSEN, 1974; PENHA et al., 2000).

Próteses totais convencionais mucossuportadas são constituídas apenas por resina acrílica, enquanto as próteses parciais removíveis a grampo são constituídas por resina acrílica e liga metálica, normalmente cobalto-cromo.

Todavia não existem muitos trabalhos sobre a associação dos diferentes tipos de próteses parciais removíveis a grampo com leveduras do gênero *Candida*. Assim como na resina acrílica, *Candida albicans* possui capacidade de se aderir à liga metálica de cobalto-cromo (TAYLOR; MARIAN; VERRAN, 1998).

A maioria da população brasileira é classificada como de baixa renda (IBGE, 2003), e o uso de próteses parciais removíveis em pacientes edêntulos parciais, para reabilitação, é a opção mais aceita em razão do baixo custo. Seu planejamento é executado de acordo com cada caso clínico, o que determina variações no tipo e quantidade de elementos constituintes e, conseqüentemente, nas proporções de resina e metal (TODESCAN; SILVA; SILVA, 1996).

Este trabalho teve por objetivo relacionar a presença e o número de leveduras do gênero *Candida*, na saliva de usuários de prótese parcial removível, com a área de resina acrílica e liga metálica de cobalto-cromo dessas próteses.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Olsen (1974) verificou a presença de leveduras no palato e na superfície de próteses totais de cem pacientes que apresentavam estomatite protética, por meio de reproduções dessas superfícies em ágar Sabouraud Dextrose obtidas por meio da moldagem com alginato e pelo exame direto da superfície das próteses totais e de esfregaços de material coletado dos tecidos. Foram observadas oito espécies de leveduras, sendo *Candida albicans* e *Torulopsis glabrata* as mais freqüentes.

Arendorf e Walker (1979) estudaram sessentapacientes dentados, sessenta pacientes sem estomatite protética usuários de prótese total removível e 52 pacientes que apresentavam estomatite protética. Para este trabalho, os autores utilizaram semeadura por impressão. Eles observaram que, nos indivíduos dentados, a língua era o local com maior quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Candida albicans*. Nos usuários saudáveis de prótese, maior contagem foi encontrada na superfície das próteses e, nos pacientes com estomatite protética, a contagem de UFC em todos os locais examinados foi maior em comparação aos indivíduos dentados e usuários saudáveis de prótese total. Os autores concluíram que o uso noturno das próteses favorece a densidade e freqüência da colonização das próteses por *C. albicans* e, conseqüentemente, o desenvolvimento da estomatite protética.

Maccourtie e Douglas (1981) verificaram a aderência de *C. albicans* sobre superfícies acrílicas, utilizando meios quimicamente definidos, contendo glicose, sacarose, frutose, maltose ou galactose como fonte de carbono. Corpos-de-prova em resina acrílica foram colocados em meio inoculado com *C. albicans* contendo um carboidrato específico. Observaram que os microrganismos aderiram aos corpos-de-

prova em presença de todos os açúcares testados, sendo maior a aderência em presença de galactose.

Martin e Lamb (1982) verificaram a presença de *C. albicans* sorotipos A e B em biofilme formado sobre a superfície de prótese total e mucosa de pacientes usuários de próteses totais, com presença (grupo-teste) ou ausência (grupo-controle) de estomatite protética. No grupo-teste, 99% dos pacientes apresentaram *C. albicans* sorotipo A, tanto no biofilme formado sobre a mucosa quanto no formado sobre a prótese. O grupo-controle apresentou equilíbrio entre os sorotipos A e B.

Arendorf e Walker (1987) revisaram a literatura sobre estomatite protética, considerando nomenclatura, classificação, sintomas, patologias associadas, prevalência, distribuição por idade e gênero, possíveis fatores etiológicos, como trauma, estado da prótese, reação alérgica ao acrílico, fatores nutricionais e sistêmicos, infecção por microrganismos do gênero *Candida* e outros fatores associados. Os autores verificaram que, nos casos de estomatite protética classificada como tipo I (hiperemia puntiforme), segundo a classificação de Newton (1962), o trauma parece ser o fator etiológico; já naquelas classificadas como tipo II (eritema generalizado) e III (hiperplasia papilar) de Newton, a etiologia parece ser multifatorial, envolvendo presença de *C. albicans*, alergia ao acrílico da prótese, fatores sistêmicos predisponentes, como deficiência dietética e desordem hematológica. De acordo com os autores, o tratamento da estomatite protética está associado com a eliminação de falhas, controle do biofilme na superfície das próteses e o seu uso descontínuo.

Jorge Junior et al. (1991) examinaram 270 indivíduos idosos institucionalizados na cidade de Piracicaba-SP para determinar a prevalência de lesões na mucosa bucal. Nos pacientes que usavam prótese total e que

apresentavam estomatite protética, o diagnóstico foi estabelecido segundo os critérios de Newton (1962); o nível de higiene bucal segundo escala estabelecida por Ambjornsen et al (1982); a estabilidade da prótese segundo escala de Vigild (1987); e a retenção da prótese segundo escala de Rise (1979). A proporção de homens e mulheres foi similar entre os grupos, com média de idade de 74,5 anos. Cento e quatro indivíduos apresentavam algum tipo de alteração na mucosa, 44 indivíduos apresentavam dois tipos diferentes de lesão, e 11 indivíduos apresentavam três ou mais tipos de lesão. Estomatite protética (20%), hiperplasia fibrosa (9,6%), leucoplasia (3%) e carcinoma (1,1%) foram os achados importantes.

Iacopino e Waten (1992) realizaram revisão da literatura sobre infecção por microrganismos do gênero *Candida* e estomatite protética. Os autores descreveram a lesão clínica e relataram os principais fatores predisponentes à infecção por *Candida*, como deficiências no sistema imunológico do hospedeiro, xerostomia e uso de próteses removíveis. O método preciso de estabelecimento do diagnóstico também foi discutido, cabendo destaque para o tratamento em que os autores, com base na literatura, referiram a um método de impregnação das próteses com ácido benzóico, que substituiria ou reduziria os métodos de tratamento tópicos ou sistêmicos já conhecidos, como o uso de antifúngicos.

Edgerton et al. (1993) estudaram o papel da película de saliva, das glândulas submandibulares e sublinguais, na aderência de *C. albicans* em resina acrílica. O estudo constou de etapas *in vitro* e *in vivo*. No estudo *in vitro*, a película salivar formada sobre os corpos-de-prova de resina acrílica aumentava a aderência de *C. albicans*; já no estudo *in vivo*, a saliva, por meio da proteína mucina, promovia a diminuição da aderência à resina acrílica.



Zanguellini, Rheinberger e Arends (1996) quantificaram a formação de depósitos orgânicos *in vivo* sobre sete materiais, após um ano de acompanhamento, e relacionaram a intensidade da formação de depósito a duas características dos materiais: microrrugosidade e microdureza. Para este estudo, foram confeccionados blocos com sete tipos de material: poliestireno, poliamida-6, polimetil-pentene, polivinil-cloride, policarbonato, politetrafluoroetileno e polimetilmetacrilato, que foram fixados às próteses totais superiores na região do bordo vestibular. Nove pacientes edêntulos voluntários, quatro homens e cinco mulheres com média de idade de 59 anos, utilizaram as próteses sem higienizá-las no local onde as amostras dos materiais estavam fixadas. Após o período de acompanhamento, os autores concluíram que a metodologia empregada era eficaz para avaliar a formação de depósitos bucais sobre vários tipos de material, e que esta formação era fortemente influenciada pela microrrugosidade de superfície, mas não pela microdureza.

Zanetti et al. (1996) estudaram as condições da mucosa bucal, em pacientes usuários de próteses parciais removíveis em cobalto-cromo, para verificar a presença de lesões associadas ao uso dessas próteses. Foram examinados sessenta pacientes parcialmente edêntulos, portadores de próteses removíveis em um ou em ambos os arcos, com média de idade de 50,41 anos. Dos sessenta pacientes examinados, 17 eram do gênero masculino, dos quais 41,17% apresentavam lesão na mucosa sob a prótese, e 43 do gênero feminino, com 51,16% apresentando mucosa com lesão. Dos 72 arcos estudados, nos quais havia próteses removíveis, 63,3% não apresentavam lesão; 35% apresentavam estomatite protética; 1,5% hiperplasia fibrosa inflamatória; e 6,67% úlcera traumática.

Jeganathan, Payne e Thean (1997) avaliaram a ocorrência de estomatite protética em um grupo de 75 usuários de prótese total superior, atendidos na

Faculdade de Odontologia da Universidade de Singapura. Os pacientes foram examinados por inspeção da mucosa do palato, dos quais 39 pacientes apresentavam mucosa saudável (grupo-controle), e 36 (grupo-teste) apresentavam estomatite protética tipo II segundo Newton (1962). Para cada indivíduo, foi aplicado um questionário sobre idade da prótese, hábitos de higiene e frequência de uso. O estado de limpeza da prótese foi avaliado por método proposto por Butz-Jorgensen e Bertram (1970) em que, após remoção dos restos alimentares por enxágüe, eritrosina foi utilizada para evidenciação de biofilme, e a limpeza classificada como: boa (nenhum ou apenas poucos pontos de biofilme), regular (menos da metade ou metade da superfície interna das próteses recoberta por biofilme) e pobre (mais da metade da superfície interna das próteses recoberta por biofilme). Os pacientes do grupo-controle higienizavam melhor as próteses, a maioria as retirava à noite e possuía próteses com menos biofilme aderido à superfície interna, o que foi estatisticamente significativo. Não houve diferença estatística significativa com a idade das próteses entre os grupos teste e controle.

Jorge et al. (1997) estudaram a presença de microrganismos do gênero *Candida* na saliva de indivíduos normais e compararam com a saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes locais, quais foram: a) uso de prótese total; b) presença de periodontite crônica do adulto; c) respiradores bucais; d) uso de aparelho ortodôntico fixo; e) uso de aparelho ortodôntico removível e uso de aparelho extrabucal. Participaram do estudo 1063 indivíduos. O grupo-controle foi constituído por 570 indivíduos, e o grupo-teste, por 493 indivíduos. Após a coleta de saliva, foi realizado o isolamento e a identificação das espécies do gênero *Candida*. Os resultados mostraram que, no grupo de pacientes que apresentavam fatores predisponentes, havia predominância do isolamento de *C. albicans* em relação ao

grupo-controle. Também foi observada maior diversidade de espécies do gênero *Candida* nos grupos que apresentavam fatores predisponentes

Nevalainen, Narhi e Ainamo (1997) estudaram a prevalência de lesões na mucosa bucal de pacientes em Helsinki (Finlândia) e relacionaram a presença das alterações encontradas a gênero, idade e utilização de diferentes tipos de prótese. Foram estudados 364 indivíduos nascidos em 1904, 1909 e 1914. Para estudar a relação das lesões ao uso de próteses, os pacientes foram divididos em três subgrupos: usuários de prótese total, usuários de prótese parcial removível provisória e usuários de prótese parcial removível com estrutura metálica. Foram encontradas alterações da mucosa bucal em 128 indivíduos (38%). Cinquenta e um por cento dos indivíduos usuários de prótese total e 43% dos usuários de prótese parcial removível com estrutura metálica apresentavam lesões na mucosa adjacente às próteses; os indivíduos do gênero feminino foram os mais acometidos. Não houve diferença estatística significativa entre as três faixas etárias estudadas.

Kulak, Arikan e Kazazoglu (1997) investigaram a presença e o número de *C. albicans* e outros microrganismos em indivíduos sem lesões e apresentando estomatite protética na mucosa do palato. Sessenta usuários de prótese total participaram do estudo, sendo 45 com evidência clínica de estomatite protética generalizada e 15 saudáveis. A condição clínica da mucosa foi estabelecida de acordo com a escala de Butz-Jorgensen e Bertram (1970). Foi realizada a raspagem da mucosa com hastes de algodão, e o material coletado foi semeado em placas contendo ágar Sabouraud com cloranfenicol 0,005% e ciclohexamina 0,04%. Após crescimento dos microrganismos, foi feita a identificação. Observaram que, em pacientes com estomatite protética, o número de microrganismos encontrado foi

superior ao encontrado nos indivíduos saudáveis e que, além de leveduras, bactérias também estavam presentes de forma significativa.

Nikawa, Hamada e Yamamoto (1998) realizaram revisão da literatura sobre o biofilme de prótese total e identificaram conceitos relacionados à presença de *C. albicans* na cavidade bucal. Foram selecionados artigos sobre as patologias por *Candida albicans* (infecções orais, gastrintestinais e pulmonares) e sua relação com lesões de cárie coronária, cárie radicular e doença periodontal. Os autores concluíram que as publicações se referiam à patogenicidade do biofilme não apenas relacionada com candidoses bucais, mas também com a cárie de coroa, cárie de raiz e doença periodontal. As publicações também chamavam a atenção para o risco da aspiração de *C. albicans* presente no biofilme da prótese, podendo levar os pacientes, sobretudo os imunocomprometidos, a infecções sistêmicas.

Taylor, Marian e Verran (1998) estudaram o efeito de diferentes acabamentos de superfície na retenção de três microrganismos presentes na boca: *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus oralis* e *C. albicans*. Para este trabalho, os autores utilizaram corpos-de-prova de resina acrílica e liga de cobalto-cromo com dimensões pré-estabelecidas e diferentes acabamentos de superfície. Os corpos-de-prova foram mantidos em estufa a 37°C por uma hora. De posse dos resultados, os autores concluíram que o diâmetro dos corpos-de-prova e o grau de aspereza da superfície afetaram significativamente a retenção dos microrganismos nas superfícies. Tratamento elétrico da liga de cobalto-cromo não reduziu a rugosidade de superfície e a subsequente adesão celular.

Williams et al. (1998) desenvolveram uma tecnologia para a análise da aderência de *C. albicans* às superfícies sólidas. Confeccionaram blocos de resina acrílica transparente, com dez milímetros de largura por três milímetros de altura,

que foram autoclavados antes do experimento. Foram isoladas onze cepas de *C. albicans*, nove obtidas de pacientes, dos quais quatro apresentavam candidose crônica hiperplásica, quatro candidose não hiperplásica e um paciente saudável portador de *C. albicans*. As duas restantes foram obtidas de cultura de laboratório. Os microrganismos em suspensão foram dispensados em placa de Petri esterilizada, contendo os corpos-de-prova e o conjunto incubado por uma hora sem agitação. Após esse período, os blocos de resina foram retirados da suspensão, imersos em solução fisiológica e mantidos em agitação leve. Nesse momento, utilizando microscópio de contraste de fase invertido, foi mensurada a aderência de *C. albicans* à resina. Os autores observaram que era possível contar as leveduras aderidas à resina acrílica transparente, que se apresentavam distribuídas uniformemente, e que a agregação de microrganismos, que ocorre quando se utiliza metodologia a seco, dificulta a contagem dos microrganismos. Não houve diferença estatisticamente significativa, entre as cepas estudadas, quanto ao número encontrado na contagem de leveduras sobre a superfície da resina.

Radford et al. (1998) investigaram os principais fatores que influenciam na adesão da *C. albicans* a superfícies *in vitro*: a) o grau de rugosidade do material; b) o tipo de material da base da prótese total; c) o efeito da saliva. Para este trabalho, os autores utilizaram três materiais: um acrílico termopolimerizável (Tevalon Clear<sup>®</sup>, Dentsply) e dois resilientes (Moloplast B<sup>®</sup>, Karl Huber e Novus<sup>®</sup>, Hygenic). Foram confeccionados corpos-de-prova com dimensões de 15 mm x 15 mm x 0,7 mm com cada um dos materiais. As cepas de *C. albicans* foram obtidas de culturas-padrão (Commonwealth Micological Institute, n°3153<sup>A</sup>). Duas investigações foram realizadas, uma para verificar a aderência de *C. albicans* nos três materiais testados com diferentes rugosidades de superfície e a outra para verificar o efeito da saliva

sobre a colonização da superfície por *C. albicans*. De posse dos resultados, os autores concluíram que quanto mais rugosa a superfície de um material, independente do tipo, maior a aderência de *C. albicans*. A presença da película de saliva sobre a superfície dos materiais reduz a aderência da *C. albicans*.

Ellepola e Samaranayake (1998) avaliaram a aderência de sete cepas de *C. albicans* isoladas da cavidade bucal depois de limitada exposição (1h) à concentração subletal de cinco agentes antifúngicos (nistatina, anfotericina B, fluorocitocina, cetoconazol e fluconazol). Durante esse período, os sete isolamentos de *C. albicans* foram expostos 48 vezes à concentração inibitória mínima (CIM) dos cinco antifúngicos utilizados na pesquisa. O medicamento foi removido por meio de sucessivas lavagens, e a aderência dos microrganismos aos blocos de resina acrílica foi avaliada *in vitro* por ensaios de aderência. Os autores observaram que a aderência foi inibida após a exposição dos microrganismos aos cinco antifúngicos utilizados.

Batista, Birman e Cury (1999) avaliaram a susceptibilidade de *C. albicans* a três agentes antifúngicos: anfotericina B, cetoconazol e miconazol. Foram isoladas 19 cepas de *C. albicans*, obtidas *in vivo* de pacientes que apresentavam estomatite protética. Dois parâmetros foram utilizados para a avaliação da atividade antifúngica dos medicamentos citados: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM). A diluição dos fármacos foi realizada em ágar. Os autores concluíram que a anfotericina B (fungicida) foi mais eficaz que o miconazol e o cetoconazol (fungiostáticos).

Mcmullan-Vogel et al. (1999) isolaram cepas de *Candida albicans* de pacientes com estomatite protética, para determinar o sorotipo e a atividade secretora de proteinase ácida. Os resultados foram comparados com os encontrados

em pacientes HIV positivos. Os autores observaram maior quantidade de *Candida albicans* de sorotipo B nos locais onde havia estomatite protética. O aumento da secreção de proteinase ácida tem significância na patogênese da candidose em pacientes HIV positivos, mas não no desenvolvimento da estomatite protética. A atividade da proteinase ácida em pacientes com estomatite protética, mesmo em níveis mais baixos, é eficaz por ter sua atividade potencializada pelo baixo pH local e reduzido fluxo salivar abaixo das próteses.

Azevedo et al. (1999) isolaram, identificaram e determinaram a prevalência de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal de indivíduos saudáveis com alterações inflamatórias da mucosa bucal e aferiram a Diluição Inibitória Mínima (DIM) do Própolis® (Apis- Flora) e Periogard® (Colgate) para as leveduras do gênero *Candida*. Foram selecionados 50 indivíduos adultos, de ambos os gêneros, com média de idade de 42 anos. Dezenove indivíduos eram saudáveis (grupo-controle), vinte e dois indivíduos apresentavam candidose, e nove indivíduos apresentavam desvio da normalidade (língua fissurada ou pilosa). Os autores observaram que leveduras do gênero *Candida* estavam em maior número na saliva de indivíduos com lesão (candidose) do que em indivíduos saudáveis e com fatores predisponentes (língua fissurada e pilosa). Diferentes espécies de leveduras do gênero *Candida* foram inibidas pela aplicação dos produtos comerciais Própolis® (Apis Flora) e Periogard® (Colgate).

Panagoda e Samaranayake et al. (1999) quantificaram a aderência de microrganismos do gênero *Candida* a superfícies não biológicas, usando uma técnica semi-automatizada de análise de imagens. Utilizaram *C. albicans*, isoladas de pacientes que apresentavam estomatite protética que, após aderirem a corpos-de-prova em resina acrílica, foram submetidas à quantificação. O método se

apresentou simples e menos trabalhoso em relação à microscopia de luz, sendo bastante útil quando uma grande quantidade de testes se fizer necessária.

Candido, Azevedo e Komesu (2000) pesquisaram a detecção das enzimas extracelulares fosfolipase e proteinase, produzidas por espécies de leveduras isoladas da cavidade bucal de 19 indivíduos saudáveis e 31 indivíduos que apresentavam candidose bucal. Após isolamento e identificação, 79 cepas de espécies do gênero *Candida* foram submetidas à prova de detecção das enzimas fosfolipase e proteinase. Os autores concluíram que *C. albicans* foi a espécie mais prevalente em todas as amostras dos pacientes com candidose bucal. Foram isoladas outras espécies, e a maioria (58,8%) das leveduras isoladas em locais com lesão produziu enzimas fosfolipase e proteinase.

Hanulla et al. (2000) determinaram diferenças na expressão de fatores de virulência entre *C. albicans* e *C. dubliniensis* e entre *C. albicans* obtidos de pacientes com e sem comprometimento do sistema imune. Os autores verificaram menor produção de proteinase e fosfolipase por cepas de *C. dubliniensis* em relação a cepas de *C. albicans* e constataram não haver diferença estatística significativa na expressão de fatores de virulência entre cepas de *C. albicans* de pacientes com e sem comprometimento do sistema imune.

Penha et al. (2000) avaliaram, em um grupo de pacientes usuários de prótese total removível com e sem estomatite protética, a frequência de espécies de leveduras e os níveis de atividade de proteinase e fosfolipase produzidos por estes microrganismos. Para esse estudo, foram selecionados 69 pacientes da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, sendo o edentulismo maxilar o principal fator de inclusão. Utilizando *swab* estéril, foi coletado material do palato duro e inoculado imediatamente em placas de ágar Sabouraud dextrose com



cloranfenicol. As colônias de *Candida* foram identificadas e submetidas a ensaios de produção enzimática. De posse dos resultados, os autores observaram alta frequência de isolamento de leveduras nos pacientes que apresentavam estomatite protética. Várias espécies de levedura foram identificadas nesses pacientes, sendo *C. albicans* a espécie mais freqüente. Isolamento de leveduras também foi positivo em pacientes edêntulos sem estomatite protética. *C. albicans* apresentou alto nível de produção de proteinase (100%), em contraste ao baixo nível de produção de fosfolipase. *C. albicans* foi identificada mais freqüentemente em usuários de prótese total que apresentavam estomatite protética que naqueles sem estomatite protética.

Há aspectos funcionais (oclusão, dimensão vertical, retenção e estabilidade) e qualitativos (estado de limpeza) das próteses totais que possivelmente se relacionam à estomatite protética. Tentando esclarecer essa relação, Carvalho de Oliveira et al. (2000) examinaram 116 pacientes, de ambos os gêneros, usuários de prótese total superior e inferior, não necessariamente apresentando estomatite protética. Os autores verificaram, na maioria dos participantes do estudo, quadros de estomatite protética. Concluíram que não se pode atribuir a cada um dos fatores, funcionais ou qualitativos isoladamente, a capacidade de levar à estomatite protética, embora cada um deles contribua para o desenvolvimento da lesão.

Ueta et al. (2000) avaliaram o papel da saliva estimulada e não estimulada sobre adesão e crescimento de *C. albicans* em cultura de células humanas. Participaram do experimento noventa indivíduos com idades entre 39 e 94 anos, 25 apresentando candidose bucal (grupo OC), 35 apresentavam, além de candidose bucal, algum tipo de alteração sistêmica (grupo CS) e trinta indivíduos saudáveis (grupo-controle). Nesse experimento, foram avaliados, além do fluxo salivar (saliva estimulada e não estimulada), os componentes salivares IgA secretora (IgAs),

lactoferrina, transferrina e leucócitos polimorfonucleares presentes na saliva. De posse dos resultados, os autores observaram que o fluxo salivar apresentava-se diminuído nos grupos OC e CS em relação ao controle e que havia menor concentração de IgAs nos grupos OC e CS em relação ao controle. A concentração de lactoferrina apresentou-se diminuída apenas no grupo CS em relação ao grupo-controle. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na concentração de transferrina nos três grupos estudados. A saliva dos indivíduos dos grupos OC e CS apresentou eficácia antimicrobiana estatisticamente menor na inibição da aderência às células de revestimento da cavidade bucal em relação à saliva do grupo-controle. A atuação dos leucócitos polimorfonucleares foi mais efetiva na saliva dos indivíduos do grupo-controle do que na saliva dos indivíduos do grupo OC e CS. Os autores observaram que a diminuição do fluxo salivar associado ao envelhecimento e doenças sistêmicas são fatores de risco para o desenvolvimento da candidose bucal.

Kovac-Kavcic e Scaleric (2000) avaliaram a presença de lesões na mucosa bucal em uma população de Ljubljana (Slovenia). Foram estudados 1609 indivíduos. Entre diversas alterações, estomatite protética foi encontrada em 24 indivíduos com idade que variava de 45 a 75 anos. Entre os 163 usuários de prótese total, a prevalência de estomatite protética foi de 14,7%.

Jainkittivong, Aneksuk e Langlais (2002) avaliaram a mucosa bucal de pacientes idosos, correlacionando as alterações encontradas a gênero, idade e uso de próteses. Foram examinados 500 indivíduos com 60 anos de idade ou mais atendidos na Faculdade de Odontologia de Chulalongkorn (Tailândia). O diagnóstico das condições de saúde da mucosa bucal foi estabelecido de acordo com o guia da World Health Organization, (KRAMER et al., 1980) e o Atlas colorido das principais

doenças da boca (LANGLAIS; MILLER, 1992). Os resultados mostraram não haver diferença significativa em relação ao gênero, encontrando diferenças estatisticamente significantes associadas a idade e uso de próteses. Usuários de prótese total e prótese parcial removível (62,7%) apresentaram elevada prevalência de lesões na mucosa bucal em relação a não-usuários. As alterações principais foram: úlcera traumática (22,6%), estomatite protética (14,3%) e queilite angular (4,8%). As alterações da mucosa associadas à prótese manifestaram-se predominantemente em usuários de prótese total (46,3%), seguido de usuários de prótese parcial removível (40,8%).

Kulak-Oskan, Kazazoglu e Arikan (2002) realizaram pesquisa clínica e laboratorial em 70 usuários de prótese total removível para correlacionar higiene bucal, métodos de higienização das próteses, estado de limpeza das próteses, presença ou não de leveduras na mucosa do palato à presença ou não de estomatite protética. Não encontraram correlação estatística entre estomatite protética e métodos de limpeza utilizados, porém houve correlação estatística significativa entre estomatite protética, presença de leveduras na mucosa do palato e estado de limpeza das próteses.

Maza et al. (2002) estudaram a aderência de duas cepas de *C. albicans*, uma padrão (NCPF 3153, Bristol, Reino Unido), germinativa, e outra mutante (NCPF 3153, Roma, Itália), com a deficiência de não formar tubo germinativo a corpos-de-prova de resina composta Herculite®. Também foi estudado o papel da saliva na aderência desses microrganismos. Verificaram maior aderência da cepa que formava o tubo germinativo, coincidindo com o momento de sua formação. A saliva promoveu diminuição estatística significativa na aderência dos microrganismos das duas cepas aos corpos-de-prova.

Pires et al. (2002) avaliaram 77 pacientes edêntulos com média de idade de 61 anos, usuários de prótese total, quanto ao fluxo salivar, contagem de microrganismos do gênero *Candida* e associação desses fatores com a estomatite protética antes e após a confecção de novas próteses. Foi coletada saliva não estimulada durante cinco minutos, quando se mensurou o fluxo salivar e, após semeadura e isolamento, foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro. A identificação dos microrganismos foi feita segundo método proposto por Sandvén (1990). A metodologia foi realizada antes e após a execução das novas próteses e os pacientes orientados a higienizá-las adequadamente. Foi observada estomatite protética em 50,6% dos pacientes antes da confecção das novas próteses e, em 18,2%, após a confecção. O fluxo salivar e a contagem de microrganismos do gênero *Candida* na saliva apresentaram resultados similares antes e após a confecção das novas próteses. Concluíram que a substituição de próteses antigas por novas e melhora nos hábitos de higiene bucal são úteis para a melhora da estomatite protética, sobretudo dos tipos I e II de Newton. A contagem de microrganismos do gênero *Candida* se manteve constante antes e após a instalação das novas próteses.

Barbeau et al. (2003) realizaram estudos utilizando a classificação de Newton modificada (que leva em consideração aspectos clínicos clássicos da inflamação e a extensão da mucosa afetada), o relacionamento de *C. albicans* e a estomatite protética. Foram examinados três aspectos: a) a presença de leveduras na prótese total; b) as espécies do gênero *Candida* presentes; e c) a extensão da cobertura da prótese por biofilme dentário. Foram também considerados fatores de risco para a inflamação, como a desadaptação da prótese, idade da prótese e enfermidades sistêmicas. Os autores concluíram que a presença de leveduras na

prótese total estava significativamente associada à extensão da área da mucosa ocupada pela inflamação. Os autores, embora reconheçam a necessidade de estudos adicionais, sugeriram que a presença de estomatite protética favoreceu a colonização da mucosa por microrganismos do gênero *Candida*.

Dar-Odeh e Shehabi (2003) investigaram a prevalência de infecção por *Candida* em pacientes com e sem estomatite protética e a correlação com deficiência hematológica. Também foi estudada a susceptibilidade dos microrganismos à anfotericina e ao fluconazol. Participaram do estudo 167 pacientes do Hospital Universitário da Jordânia. Os autores observaram que, em 47 pacientes (28%) que apresentavam estomatite protética, havia colonização por microrganismos do gênero *Candida*, sendo *C. albicans* a espécie mais freqüente (72%) e a única espécie capaz de sintetizar proteinases. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre os grupos com e sem estomatite protética e alterações hematológicas apresentadas por alguns pacientes ( $p > 0,05$ ). Quanto aos testes com antifúngicos, a anfotericina B apresentou 100% de eficácia contra todas as espécies de *Candida* isoladas, e o Fluconazol apresentou de 25 a 75% de eficácia.

Espinoza et al. (2003) estudaram a mucosa bucal de 889 pacientes com idade acima de 65 anos. Foram entrevistados e examinados de acordo com o guia da World Health Organization, (KRAMER et al. 1980). Entre outras alterações, estomatite protética foi observada em 198 indivíduos (22,3%). Próteses mal higienizadas e hábito de dormir com as próteses foram associados à maior probabilidade de ocorrer lesão. Pacientes com estomatite protética em grande parte dos casos apresentavam também queilite angular. O uso de próteses foi o maior causador de lesões na mucosa dos pacientes examinados.

Lamfon et al. (2003) avaliaram a aderência de *C. albicans* em esmalte, dentina e resina acrílica com diferentes rugosidades de superfície. Foram confeccionados discos dos três materiais e mantidos em saliva artificial a 37°C na qual foram inoculados microrganismos. O biofilme formado foi coletado da superfície dos materiais em diferentes intervalos, sendo avaliado em seguida. Foi observada maior quantidade de *C. albicans* no biofilme desenvolvido em esmalte que nos dois outros materiais. Nas superfícies rugosas, havia mais leveduras nas seis primeiras horas do experimento, porém, no esmalte rugoso, havia maior quantidade de hifas tanto nas 6 quanto nas 24 horas iniciais do experimento. As hifas de *C. albicans* presentes influenciaram no desenvolvimento do biofilme. Os autores relataram que o tipo de material (esmalte, dentina e resina acrílica) e a rugosidade de superfície exerceram influência tanto na formação inicial quanto no desenvolvimento do biofilme.

Park, Periathamby e Loza (2003) avaliaram a hipótese de que a mudança na composição da resina acrílica para base de prótese total (incorporação de ácido metacrílico) reduziria a aderência de *C. albicans*. Confeccionaram corpos-de-prova divididos nos seguintes grupos: resina pura (grupo-controle) e três grupos com diferentes proporções de ácido metacrílico adicionado à resina: grupo dois (5% de ácido metacrílico), grupo três (10% de ácido metacrílico) e grupo quatro (20% de ácido metacrílico). Houve aderência estatisticamente maior de *C. albicans* no grupo-controle em relação aos grupos teste e diferença estatística significativa entre os grupos-teste, sendo maior a aderência nos grupos com menor quantidade de ácido metacrílico incorporado à resina.

Coelho, Souza e Daré (2004) estudaram a prevalência de lesões na mucosa bucal de pacientes brasileiros usuários de prótese removível para determinar a

freqüência de lesões bucais e sua relação com gênero, idade, tipo de prótese removível (total ou parcial) tempo de uso da prótese e métodos de limpeza. O exame da cavidade bucal foi realizado por três patologistas calibrados, em 305 pacientes com um total de 444 próteses – 302 próteses totais e 142 próteses parciais removíveis. As lesões observadas foram candidose atrófica crônica, candidose hiperplásica crônica, hiperplasia inflamatória crônica induzida por prótese, úlcera traumática e queilite angular. Concluíram que as lesões eram mais freqüentes no gênero masculino, com maior prevalência na sexta e sétima décadas de vida para o gênero feminino e quinta e sexta para o masculino. As próteses podem causar alterações na mucosa bucal, sendo mais freqüentes quanto maior for o seu tempo de uso, sendo necessárias correção de próteses defeituosas e instituição de hábitos de limpeza adequados para a manutenção dos tecidos saudáveis.

Henriques, Azeredo e Oliveira (2004) compararam a capacidade de adesão de *C. albicans* e *C. dubliniensis* à resina acrílica e à hidroxiapatita (HA). *C. albicans* e *C. dubliniensis* foram depositadas sobre a superfície dos corpos-de-prova confeccionados com resina acrílica e HA que apresentavam diferentes rugosidades de superfície. Sobre as amostras, foi depositada uma pequena camada de água ou saliva. Os autores não verificaram diferença estatística significativa na adesão entre o acrílico e a HA para as duas espécies estudadas, porém verificaram que, em presença de saliva artificial, as duas espécies aderiram melhor aos materiais e, em ausência de saliva artificial, a adesão foi maior à HA.

Ramage et al. (2004) avaliaram a contribuição do biofilme, apresentando microrganismos do gênero *Candida*, na etiologia da estomatite protética. Os autores removeram fragmentos de próteses totais de pacientes que desenvolveram estomatite protética e os estudaram por meio de microscopia eletrônica de

varredura. Também foi coletada saliva adjacente aos locais com lesão na mucosa utilizando *swab* e saliva estimulada para o estudo do desenvolvimento do biofilme *in vitro*. De posse dos resultados, os autores concluíram que o biofilme composto por *C. albicans* participa da etiologia da estomatite protética.

Cross et al. (2004) avaliaram a recorrência de estomatite protética e a persistência de microrganismos do gênero *Candida* em pacientes com idade média de 71 anos, usuários de prótese total, submetidos a duas formas de terapia antimicrobiana com itraconazol, por via oral e por meio de bochechos. Os pacientes foram acompanhados por três anos, com uma avaliação intermediária aos seis meses. Foram selecionados 22 indivíduos (cinco homens e 17 mulheres), pesquisados inicialmente quanto a três aspectos: higienização da prótese, aspecto da prótese e presença ou não de estomatite no palato duro. O medicamento foi administrado em dez pacientes por via oral e em doze por meio de enxaguatório bucal. Leveduras do gênero *Candida* foram isoladas, selecionadas e tipificadas por reação em cadeia da polimerase (IR-PCR). Os autores concluíram que, nos pacientes que apresentavam boa higiene bucal, a recidiva de estomatite protética era baixa. O antifúngico itraconazol reduziu a contagem de fungos na saliva dos pacientes, ocorrendo, entretanto, a persistência de microrganismos resistentes. O medicamento não impediu a recolonização.

Lamfon et al. (2005) estudaram a composição do biofilme formado na mucosa bucal e sobre a superfície de próteses totais em pacientes que desenvolveram estomatite protética. Verificaram a presença de microrganismos do gênero *Candida* no biofilme formado sobre a mucosa e sobre as próteses totais, encontrando maior número de leveduras no biofilme formado sobre a mucosa bucal. A susceptibilidade ao fluconazol, miconazol e digluconato de clorexidina, sobre as



leveduras recuperadas, foi então avaliada. Observaram que os agentes antifúngicos usados isoladamente em concentrações terapêuticamente viáveis eram incapazes de impedir o crescimento dos microrganismos do gênero *Candida*, mas a associação do miconazol com a clorexidina reduziu o crescimento dos microrganismos.

Monroy et al. (2005) investigaram a presença de *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus* na superfície de próteses totais mucossuportadas e em regiões da mucosa que apresentavam estomatite atrófica. Os autores correlacionaram a presença desses microrganismos na superfície da mucosa e das próteses com as lesões e associaram com outros fatores clínicos, potenciais contribuintes para o desenvolvimento das lesões. Foi coletado material da superfície mucosa e das próteses de 105 pacientes usuários de próteses totais, sendo 43 do gênero masculino e 62 do feminino, com idade média de 67 anos. O material coletado (saliva) foi semeado em meio de cultura específico e, após o período de crescimento, os microrganismos foram quantificados. Foi realizada mensuração do pH, visto que, segundo os autores, o pH ácido favorece o desenvolvimento de estomatite atrófica. Os autores detectaram alta contagem dos três microrganismos estudados nos pacientes que desenvolveram estomatite atrófica, e o pH estava mais ácido neste grupo de pacientes. Os pacientes do gênero feminino foram mais afetados. Foi evidenciada maior prevalência de estomatite atrófica nos pacientes diabéticos e hipertensos presentes no grupo estudado.

Mosca et al. (2005) avaliaram a presença de *C. albicans* e *C. dubliniensis* na cavidade bucal de adolescentes usuários de próteses ortopédicas que apresentavam estomatite protética. Foi coletado material da mucosa adjacente às próteses e da superfície das próteses de 12 pacientes. Após o crescimento dos microrganismos, foi realizado isolamento e identificação das espécies, seguido pela

diferenciação entre *C. albicans* e *C. dubliniensis* por provas fenotípicas e PCR. *C. albicans* estava presente em 75% dos pacientes, *C. glabrata* em 16,6% e *C. dubliniensis* em 8,3%.

Shulman, Rivera-Hidalgo e Beach (2005) estudaram a prevalência de estomatite protética em uma amostra de 3 450 indivíduos norte-americanos usuários de prótese total removível com idade entre 18 e 91 acima, 57,7% dos indivíduos eram do gênero masculino e 42,3% do gênero feminino. Dos 3 450 indivíduos, 963 (27,9%) apresentavam estomatite protética.

Webb, Thomas e Wittle (2005) estudaram indivíduos institucionalizados, usuários de prótese total e que apresentavam estomatite protética, para testar a eficiência de dois métodos de desinfecção de próteses acrílicas: energia de microondas e imersão em hipoclorito de sódio 1%. Foram escolhidos 60 indivíduos, que se dividiram em três grupos: grupo A – desinfecção com hipoclorito de sódio; grupo B – desinfecção com energia de microondas, e grupo C – não-desinfecção das próteses. Foi coletado material do palato e das próteses totais superior e inferior antes e após o experimento. Os autores verificaram eficácia nos dois métodos de desinfecção instituídos e constataram não haver diferença estatística significativa entre eles.

He et al. (2006) estudaram a adesão de diferentes microrganismos do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. dubliniensis*) a quatro diferentes resinas acrílicas para base de prótese total, duas quimicamente ativadas e duas termo-ativadas. Foram confeccionados corpos-de-prova medindo 5x5 cm, que foram dispostos em meio de cultura para *Candida*, e, após o crescimento dos microrganismos, foram observados em microscópio óptico. Os autores concluíram

que a aderência das espécies de *Candida* foi maior nas resinas quimicamente ativadas.

Ikebe et al. (2006) examinaram a atividade metabólica (produção de ácido) de microrganismos do gênero *Candida* na mucosa palatina de pacientes saudáveis usuários de prótese total, prótese parcial removível e com dentição natural. Participaram deste estudo 351 indivíduos – 189 homens e 162 mulheres. A atividade dos microrganismos foi avaliada de acordo com a mudança do pH do caldo seletivo para *Candida* (Stomatast®). Os resultados sugerem que a intensidade de produção de ácido por microrganismos do gênero *Candida* está associada ao uso de próteses totais e próteses parciais removíveis e que *Candida* de pacientes com dentição natural produz menos ácido.

Perezous et al. (2006) compararam espécies e número de microrganismos do gênero *Candida*, bem como o aspecto clínico da mucosa palatina em pacientes HIV positivos, para os quais foram confeccionadas próteses totais com o palato modificado, em que a metade era em resina acrílica e metade em liga metálica de níquel-cromo-berílio. O aspecto clínico do palato foi avaliado no início e com um, três e cinco meses de uso das próteses. A contagem dos microrganismos e a identificação das espécies foram realizadas nos mesmos períodos. Houve diferença estatística significativa entre o número de microrganismos do gênero *Candida* que cresceram em área de resina e metal no terceiro e quinto mês de avaliação, sendo predominante sobre resina. Não houve diferença estatística significativa entre espécies de leveduras do gênero *Candida* que cresceram em metal e resina. Não foram observadas alterações clínicas da mucosa nas áreas adjacentes ao metal e à resina.

### **3 PROPOSIÇÃO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida* em usuários de prótese parcial removível a grampo, relacionando o número de unidades formadoras de colônias (UFC) com a proporção metal/resina acrílica presente nas próteses.

## **4 MATERIAL E MÉTODO**

### **4.1 Grupo de estudo**

Participaram do estudo oitenta indivíduos provenientes tanto de consultórios particulares quanto do Programa de Saúde da Família (PSF/SUS) da cidade de Vitória da Conquista – BA, distribuídos em dois grupos: grupo-teste, composto de quarenta indivíduos usuários de prótese parcial removível a grampo, com diferentes desenhos; e grupo-controle, constituído de quarenta indivíduos do mesmo gênero e idade do grupo-teste, não usuários de qualquer tipo de prótese removível parcial ou total (Comitê de Ética 0340/06 – Anexo A).

Todos os participantes foram informados de forma verbal e escrita sobre os objetivos e a metodologia da pesquisa e, após consentimento livre e esclarecido (Apêndice A), foi realizada anamnese, avaliada a higiene oral com o auxílio do índice de higiene oral (O' LEARY, 1967) e preenchimento de uma ficha clínica (Apêndice B). Para os indivíduos do grupo-teste, a mucosa bucal, em área de suporte das próteses, foi examinada em busca de lesão (estomatite protética).

Participaram do estudo indivíduos saudáveis que não fizeram uso de antibiótico nos últimos seis meses ou fossem gestantes e/ou diabéticos e não utilizassem aparelho ortodôntico.

### **4.2 Mensuração da área de resina acrílica e liga de cobalto-cromo das próteses**

Para a medida de área, foi utilizada a correlação entre peso e área. Placas de silicone com um milímetro de espessura (Bio-Art<sup>®</sup>, São Carlos, São Paulo, Brasil) foram previamente plastificadas em plastificadora a vácuo (VH<sup>®</sup>, Araraquara, São

Paulo, Brasil) sobre blocos de gesso com um, dois e três centímetros de altura (que simulam as alturas das próteses removíveis na posição horizontal). Após a prensagem, foi realizada a medida da espessura do silicone e se verificou alteração na espessura de um milímetro original para 0,5 milímetro, a mesma alteração verificada nas placas de silicone plastificadas sobre as próteses (Figura 1).



Figura 1 - Medida da espessura do silicone (0,5 mm) na superfície lateral do silicone, depois de plastificado sobre o bloco de gesso, com o uso de um espessímetro

Foram recortados três fragmentos de um centímetro quadrado da superfície lateral de cada um dos blocos, que correspondem. Esses fragmentos foram pesados em balança digital (Mettler Toledo<sup>®</sup>, Columbus, Ohio, EUA) e foi obtida a média do peso (Figura 2).

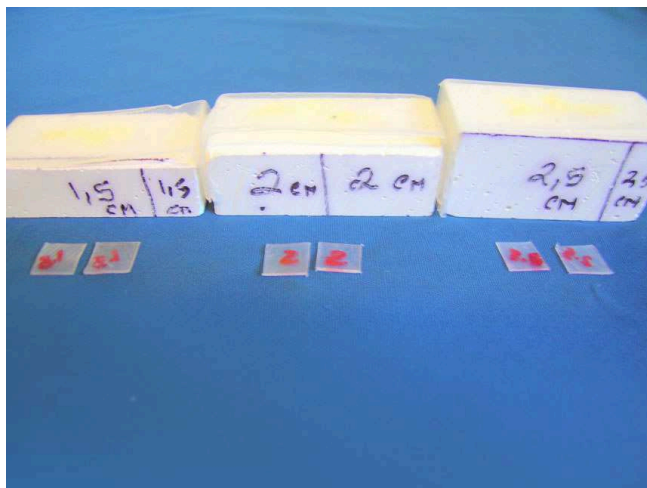


Figura 2- Blocos de gesso ao fundo com as alturas de 1,5 cm, 2,0 cm e 2,5 cm que simulam as alturas das próteses removíveis com o silicone plastificado sobre eles de onde pedaços (à frente) recortados das superfícies laterais que foram removidas (espessura de 0,5mm) foram pesados para obtenção da média do peso

Sobre cada lado das próteses foi plastificada uma placa de silicone e, após remoção dos excessos, separadas no limite acrílico/metal e pesadas (Figura 3). A partir da média do peso de um centímetro quadrado das placas de silicone, por meio de regra de três simples a área das próteses foi calculada.

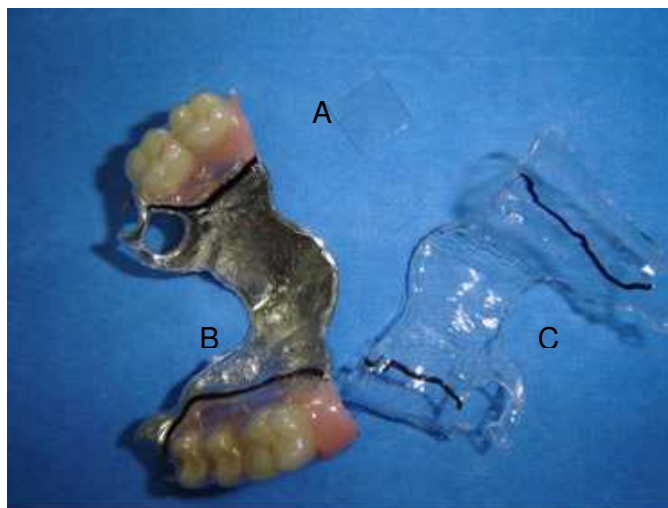


Figura 3 – Em A: fragmento de silicone medindo  $1 \text{ cm}^2$ , em B: prótese removível e em C: prótese parcial removível plastificada, com áreas de metal e resina delimitadas

### 4.3 Coleta e processamento da saliva

Foi coletada saliva, sem estimulação, de todos os participantes do estudo, utilizando-se coletor plástico descartável (Exalab<sup>®</sup>, São Paulo, São Paulo, Brasil). Placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco<sup>®</sup>, Detroit, Michigan, EUA) adicionado de 0,1 mg/ml de cloranfenicol (Quemicetina Succinato/ Carlo Erba<sup>®</sup>, Milano, MI, Itália) foram semeadas em duplicata, com alíquotas de 0,1ml de saliva pura e incubadas a 37°C por 48 horas (Figuras 4 e 5). Os meios que não apresentaram crescimento após 48 horas a 37°C foram incubadas a temperatura ambiente por mais cinco dias. Após o período de incubação, as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) características de leveduras do gênero *Candida* foram contadas e foi calculado o número de UFC por mililitro de saliva (Figura 6).

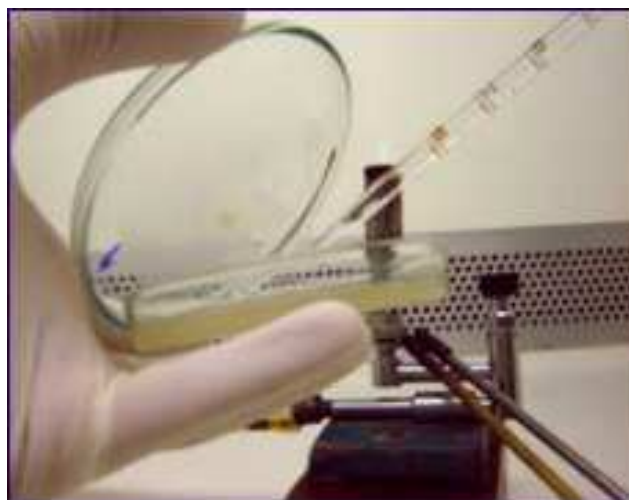


Figura 4 – Saliva pura dispensada sobre ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol



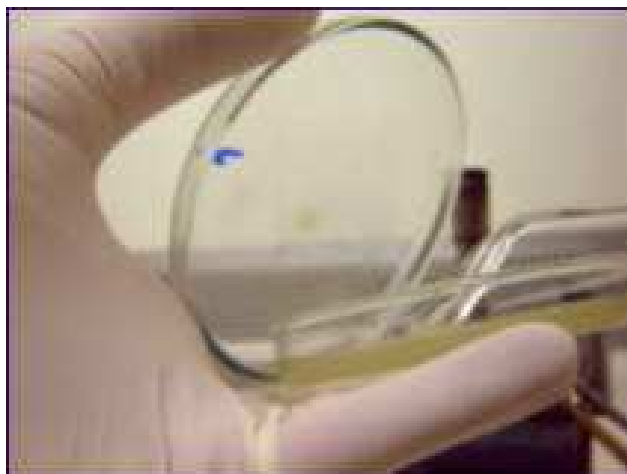


Figura 5 – Semeadura com auxílio de alça de Drigalsky



Figura 6 - Colônias de leveduras após 24 h de incubação

#### **4.4 Identificação de leveduras isoladas da saliva**

Das colônias de microrganismos que cresceram nas placas de ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, foram feitos esfregaços corados pelo método de Gram. Quando observadas células ovaladas, grandes, Gram-positivas, com ou sem brotamento, sugestivas de leveduras, quatro colônias foram repicadas para tubos contendo ágar Sabouraud dextrose para posterior identificação.

Para caracterização das amostras, foram realizadas as seguintes provas, de acordo com Sandvén (1990):

#### 4.4.1 Formação do tubo germinativo

Para observação da formação do tubo germinativo, foi adicionada uma alçada de cultura pura, de 24 horas, em tubo de ensaio contendo 0,5ml de soro estéril de coelho, o qual foi colocado em banho-maria a 37°C, por três horas. A formação de tubo germinativo foi observada em microscopia de luz (40x), colocando-se uma gota de suspensão entre lâmina e lamínula (Figura 7).

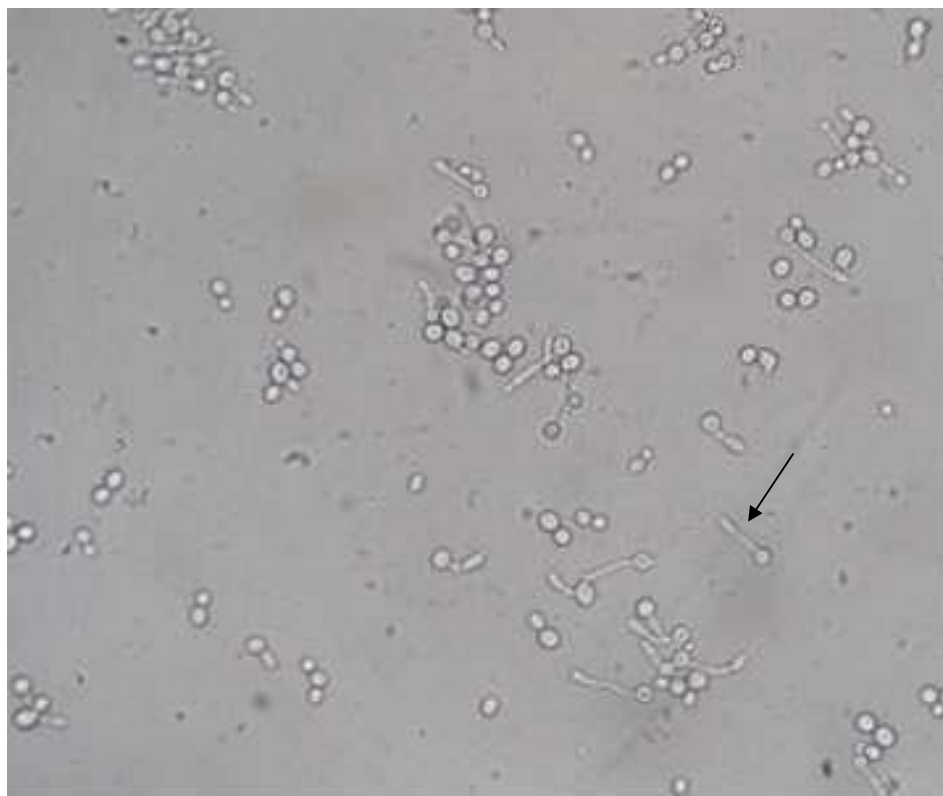


Figura 7 - Formação do tubo germinativo (seta) em soro estéril (aumento de 400X)

#### 4.4.2 Microcultivo

Para verificação da produção de hifas e clamidoconídeos em microcultivo, foi utilizado o meio ágar-fubá *tween* 80 (pH 5,6) com a seguinte composição:

Fubá (Kitano).....	40 g
Ágar (Difco).....	20 g
<i>Tween</i> 80 (Difco).....	10 ml
Água destilada.....	1000 ml

O fubá foi dissolvido em 800 ml de água destilada, aquecido em banho-maria durante uma hora, filtrado em gaze e deixado em repouso para decantação. O ágar foi fundido separadamente em 200 ml de água destilada e adicionado o *tween* 80 e o filtrado de fubá. Após 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 de vidro depositadas sobre bastão de vidro em "U", colocados no interior de placas de Petri esterilizadas. Após solidificação do ágar, cada amostra de levedura foi semeada em estria única na superfície do meio e colocada uma lamínula esterilizada no centro da lâmina. Para evitar ressecamento do meio, foi adicionado um penso de algodão esterilizado, umedecido com água destilada esterilizada, no fundo da placa. Após incubação por 72 horas à temperatura ambiente, a leitura foi feita em microscopia de luz, observando-se presença de clamidoconídeos e filamentação com produção de hifas/pseudohifas (Figuras 8 e 9).

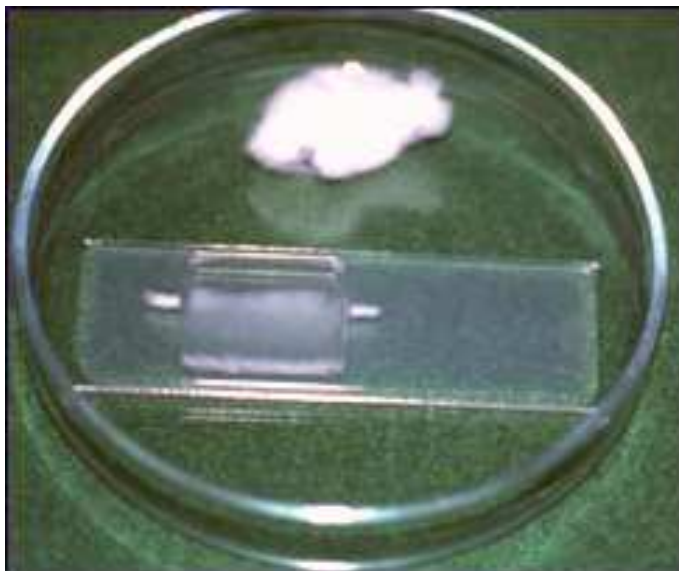


Figura 8 - Microcultivo

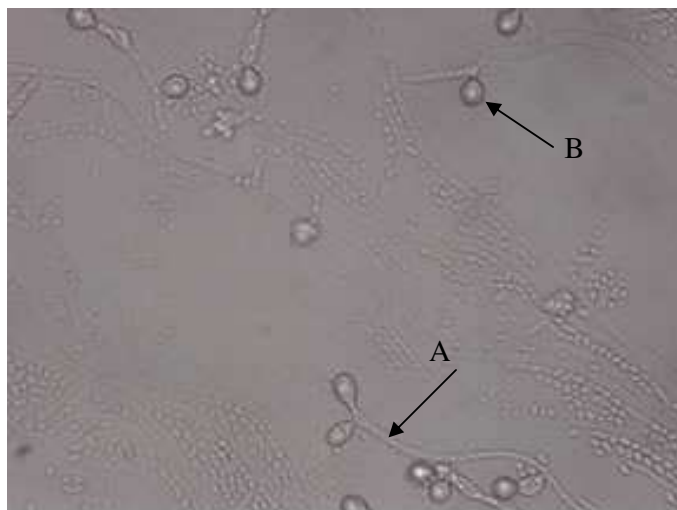


Figura 9 – Em A -Hifas e em B -clamidoconídios (aumento de 400x)

#### 4.4.3 Assimilação de carboidratos

Para a assimilação de carboidratos, foi utilizado o seguinte meio de cultura:

Sulfato de amônia ( $\text{NH}_4$ ) <sub>2</sub> $\text{SO}_4$ - Inlab).....	5,0 g
Fosfato de potássio monobásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ - Reagen)....	1,0 g
Sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4$ - Inlab).....	0,5 g

Ágar (Difco)..... 20,0 g

Água destilada.....1000 ml

Após dissolução em banho-maria, o meio foi distribuído (18-20ml) em tubo de ensaio, autoclavado a 120°C por 15 minutos e armazenado em geladeira. Para a execução da prova, foi preparada uma suspensão da levedura (tubo nº 10 da escala McFarland) em solução fisiológica esterilizada a partir de cultura de 24 horas em ágar Sabouraud dextrose. Desta suspensão, foi colocado 0,1ml em placa de Petri esterilizada.

O meio previamente liquefeito e resfriado (45°C aproximadamente) foi vertido na placa sobre suspensão de levedura e agitado delicadamente. Após solidificação, discos de papel-filtro esterilizados e embebidos em solução dos carboidratos a 10% (glicose, sacarose, maltose, lactose e galactose) foram colocados a intervalos regulares de espaço.

Após incubação por 72 horas, a 37°C, a leitura foi realizada pela observação da formação de um halo de crescimento da amostra de levedura ao redor do açúcar assimilado (Figura 10).

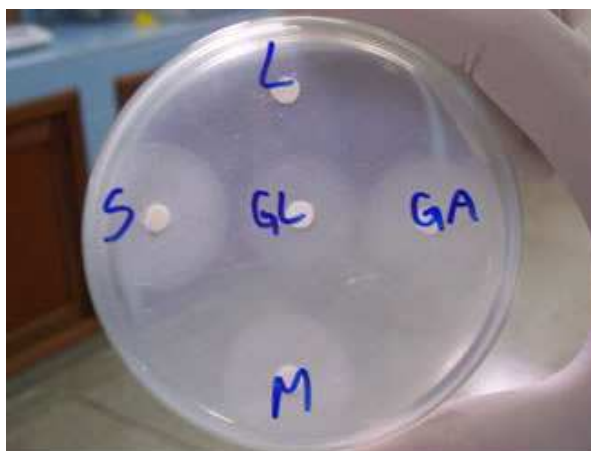


Figura 10 - Assimilação de carboidratos, onde L significa lactose, S - sacarose, GL - glicose, GA - galactose e M - maltose

#### 4.4.4 Fermentação de carboidratos

Na fermentação de carboidratos, foi usado caldo vermelho de fenol (Difco) distribuído em tubos de ensaio, com tubos de Durham em seu interior e autoclavados a 120°C/15 minutos. Suspensão de cada açúcar (glicose, maltose, sacarose, lactose e galactose), esterilizada por filtração (filtro Millipore, 0,22mm, GSWP-02500), foi adicionada de forma a obter concentração de 1%. Os tubos foram semeados a partir de cultura pura de 24 horas da levedura em ágar Sabouraud dextrose; a leitura foi realizada após 48 horas e confirmada após uma semana, observando-se a fermentação de carboidratos e a formação de gás (Figura 11).



Figura 11 - Fermentação de carboidratos

#### 4.4.5 Diferencial de temperatura

Por possuir características fenotípicas comuns com *C. albicans*, como a produção de tubo germinativo e clamidoconídeos, foi utilizado o diferencial de temperatura como método de diagnóstico presuntivo de *C. dubliniensis*. A partir das

cepas identificadas como *C. albicans*, foi realizada uma cultura pura de 24 horas, semeadas em placas de Petri com ágar Sabouraud dextrose e incubada a 42<sup>o</sup>C. O crescimento das colônias características, quando houve, foi visualizado em 24 e 48 horas da incubação. Ao contrário da *C. albicans*, *C. dubliniensis* não cresce, ou cresce pobremente a esta temperatura (PINJON et al., 1998).

#### 4.4.6 Interpretação dos resultados

As amostras de *Candida* isoladas foram identificadas em espécies, de acordo com Samaranayake e MacFarlane (1982) e Sandvén (1990) com modificações, e também de acordo com Sidrim e Moreira (1999).

### 4.5 Análise estatística

Número de UFC/ml, espécies isoladas, área total, área de metal, área de resina, índice de higiene oral (IHO), idade da prótese, remoção noturna da prótese e presença de lesão sob a prótese no grupo-teste, assim como número de UFC/ml, espécies isoladas e IHO no grupo-controle foram avaliados estatisticamente com nível de significância de 5% por meio do software Bioestat para Windows versão 3.0. Para a comparação entre dois grupos, foi utilizado o teste t de *Student* para amostras independentes. Quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann Whitney.

Para testar a associação entre as variáveis, foi utilizado o teste exato de Fischer; o estudo da correlação foi realizado pelo coeficiente de correlação de Pearson.



## 5 RESULTADOS

Os pacientes avaliados (n=80) tinham idade entre trinta e 84 anos com média de 48,12 anos (desvio padrão de 13,29). Vinte e cinco (31,25%) eram do gênero masculino, e 55 (68,75%), do gênero feminino.

Entre os pacientes usuários de prótese (n=40), 32,5% (n=13) eram do gênero masculino, e 67,5% (n=27), do gênero feminino. Destes, 80% (n=32) apresentaram leveduras do gênero *Candida* na saliva, sendo que 81,25% (n=26) apresentaram somente uma espécie; 15,625% (n=5) duas espécies; e 3,125% (n=1) três espécies. A média do log de UFC/ml de saliva para o grupo-teste foi de 2,61 com desvio padrão de 0,77 (Tabela 1).

No grupo controle (n=40), constituído por pacientes não usuários de prótese removível, do mesmo gênero e idade do grupo-teste (amostra pareada), 65% (n=26) apresentaram leveduras do gênero *Candida* na saliva, sendo que 73,07% (n=19) apresentaram somente uma espécie, e 26,93% (n=7), duas espécies. A média do log de UFC/ml de saliva para o grupo-controle foi de 2,15 com desvio padrão de 0,57 (Tabela 2).

A comparação entre o nº de UFC/ml entre os grupos teste e controle (Teste de Mann Whitney) apresentou diferença estatística significativa ( $p=0,04$ ).

Tabela 1 – Espécies de *Candida* isoladas da saliva de pacientes usuários de prótese parcial removível a grampo, número e log de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml)

Paciente	nº UFC/ml	Log UFC/ml	Espécie
1	75	1,88	<i>C. albicans</i> , <i>Candida</i> spp.
4	1540	3,19	<i>C. lusitaniae</i>
6	65	1,81	<i>C. albicans</i>
13	1085	3,04	<i>C. lusitaniae</i>
17	2925	3,47	<i>C. albicans</i> , <i>C. guilliermondii</i>
18	1610	3,21	<i>C. lusitaniae</i>
20	65	1,78	<i>C. lusitaniae</i>
21	10	1,00	<i>C. lusitaniae</i>
22	1060	3,03	<i>C. albicans</i>
24	165	2,22	<i>C. albicans</i>
25	5375	3,73	<i>C. albicans</i>
27	90	1,95	<i>C. albicans</i>
29	70	1,98	<i>Candida</i> spp.
30	7705	3,89	<i>C. albicans</i>
31	40	1,60	<i>C. albicans</i>
32	200	2,30	<i>C. albicans</i>
33	1290	3,11	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. guilliermondii</i>
35	85	1,93	<i>C. albicans</i> , <i>C. lusitaniae</i>
36	455	2,66	<i>C. albicans</i>
37	5250	3,72	<i>C. albicans</i>
38	200	2,00	<i>C. albicans</i>
40	30	1,48	<i>C. albicans</i> , <i>Candida</i> spp.
43	70	1,86	<i>C. albicans</i>
45	1135	3,05	<i>C. albicans</i>
46	2000	3,01	<i>C. albicans</i>
47	1025	3,37	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i>
51	2355	1,78	<i>C. albicans</i>
53	60	2,56	<i>C. lusitaniae</i>
54	360	3,45	<i>C. albicans</i>
55	2850	3,03	<i>C. albicans</i>
57	1070	3,21	<i>C. albicans</i>
58	1635	3,30	<i>C. lusitaniae</i>

Tabela 2 - Espécies de *Candida* isoladas da saliva de pacientes não usuários de prótese removível, número e log de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml)

Paciente	nº UFC/ml	Log UFC/ml	Espécie
1	395	2,60	<i>C. albicans</i> , <i>C. lusitaniae</i>
5	155	2,19	<i>C. albicans</i> , <i>Candida</i> spp.
6	20	1,30	<i>C. guilliermondii</i>
8	880	2,94	<i>C. tropicalis</i>
9	320	2,51	<i>C. pelliculosa</i>
10	110	2,04	<i>C. lusitaniae</i> , <i>C. albicans</i>
12	115	2,06	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i>
16	200	2,30	<i>C. albicans</i>
20	1055	3,02	<i>C. albicans</i>
24	130	2,11	<i>C. albicans</i>
27	10	1,00	<i>Candida</i> spp.
28	60	1,78	<i>Candida</i> spp.
30	30	1,48	<i>C. albicans</i>
37	1360	3,13	<i>C. albicans</i>
40	150	2,18	<i>C. lusitaniae</i>
41	205	2,31	<i>C. albicans</i>
42	50	1,70	<i>C. tropicalis</i>
43	705	2,85	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i>
44	675	2,83	<i>C. albicans</i>
48	455	2,66	<i>C. tropicalis</i> , <i>Candida</i> spp.
50	90	1,95	<i>Candida</i> spp. , <i>C. tropicalis</i>
54	10	1,00	<i>C. albicans</i>
58	110	2,04	<i>C. lusitaniae</i>
60	120	2,08	<i>C. albicans</i> , <i>Candida</i> spp.
62	85	1,93	<i>C. albicans</i>
64	105	2,02	<i>C. albicans</i>

A espécie mais prevalente no grupo-teste foi *C. albicans*, encontrada em 75% (n=32) dos pacientes; seguida de *C. lusitaniae* em 25% (n=8); *Candida* spp. em 9,37% (n=3); *C. guilliermondii* em 6,25% (n=2) e *C. glabrata* em 6,25% (n=2). No grupo-controle, a espécie mais prevalente também foi *C. albicans*, presente na saliva de 57,69% dos pacientes (n=15); seguida de *Candida* spp. em 19,23% (n=5); *C. tropicalis*

em 19,23% (n=5); *C. lusitaniae* em 15,38% (n=4); *C. guilliermondii* em 3,84% (n=1); *C. pelliculosa* em 3,84% (n=1) e *C. parapsilosis* em 3,84% (n=1) (Figura 9).

Entre as cepas de *C. albicans* isoladas (n=40), duas do grupo-teste (8,33%) e uma do grupo-controle (6,25%) foram sugestivas de *C. dubliniensis*.

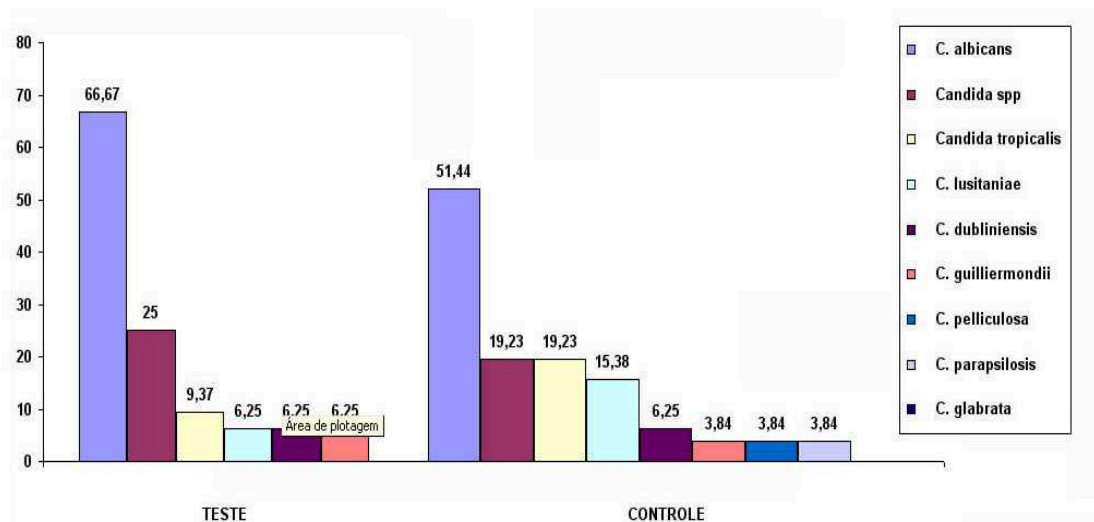


Figura 9 – Quantidade (percentual) de cada espécie encontrada nos grupos teste e controle

A Tabela 3 apresenta a comparação entre o número de indivíduos com casos positivos e negativos para *Candida* nos grupos teste e controle. No grupo-teste, 80% (n=32) dos indivíduos foram positivos para *Candida* na saliva no grupo-controle, 65% (n=26) dos indivíduos foram positivos. A análise estatística mostrou não haver uma relação de dependência entre as variáveis ( $p = 0,21$ ).

Tabela 3\_ Número e porcentagem de indivíduos dos grupos teste e controle com relação à presença de *Candida*

Presença de <i>Candida</i>	Teste		Controle	
	n	%	n	%
Positivo	32	80	26	65
Negativo	8	20	14	35
Total	40	100	40	100

Teste exato de Fischer ( $p = 0,21$ )

A Tabela 4 mostra os resultados do índice de higiene oral (IHO) dos grupos teste e controle. A média dos valores do grupo-teste foi de 46,52% com desvio padrão de 17,41. Os resultados do grupo-controle apresentaram média de 44,08% com desvio padrão de 18,28. Os resultados do IHO entre os grupos teste e controle não apresentaram diferença estatística significativa ( $p=0,45$ ).

Tabela 4 - Índice de higiene oral dos grupos teste e controle (continua...)

<b>Paciente</b>	<b>IHO (teste)</b>	<b>Paciente</b>	<b>IHO (controle)</b>
1	46,73%	1	41,34%
3	45,58%	3	53,40%
4	45,45%	4	44,79%
6	41,66%	5	62,50%
13	41,66%	6	-----**
17	48,80%	8	47,82%
18	35,00%	9	45,45%
20	48,68%	10	33,92%
21	36,11%	12	61,11%
22	72,72%	13	54,00%
24	35,00%	15	50,89%
25	40,00%	16	45,37%
27	31,66%	18	56,66%
29	48,61%	20	40,90%
30	35,93%	21	21,55%
31	54,54%	23	7,14%
32	59,52%	24	50,00%
33	55,00%	26	42,30%
34	25,00%	27	17,85%
35	48,91%	28	61,95%
36	44,23%	29	47,41%
37	56,66%	30	70,45%
38	36,00%	34	7,40%
39	28,84%	37	65,38%
40	33,33%	40	40,90%
41	38,63%	41	46,15%
43	55,68%	42	50,89%
45	73,21%	43	100%
46	97,05%	44	28,40%
47	9,00%	48	-----**

Tabela 4 - Índice de higiene oral dos grupos teste e controle (continuação)

<b>Paciente</b>	<b>IHO (teste)</b>	<b>Paciente</b>	<b>IHO (controle)</b>
48	70,83%	50	61,00%
49	33,92%	51	-----**
51	69,04%	54	54,34%
52	8,92%	55	43,47%
53	65,00%	58	45,00%
54	48,61%	60	20,68%
55	60,52%	62	20,68%
56	25,00%	64	28,00%
57	65,00%	65	30,00%
58	44,73%	67	48,95%

Teste T de Student ( $p = 0,45$ ); \*\* Paciente edêntulo total

A área total, área de metal e área de resina das próteses parciais removíveis a grampo estão apresentadas na Tabela 5. A área total das próteses removíveis apresentou média de  $37,77\text{cm}^2$  com desvio padrão de 17,16; a área de metal das próteses removíveis apresentou média de  $15,07\text{cm}^2$  com desvio padrão de 6,77; e a área de resina apresentou média de  $22,70\text{cm}^2$  e desvio padrão de 13,97.

Tabela 5 - Área total, área de metal e área de resina das próteses removíveis dos pacientes do grupo teste (continua...)

<b>Paciente</b>	<b>Área total</b>	<b>Área de metal</b>	<b>Área de resina</b>
1	$15,73\text{cm}^2$	$10,66\text{cm}^2$	$5,06\text{cm}^2$
3	$57,22\text{cm}^2$	$23,78\text{cm}^2$	$33,44\text{cm}^2$
4	$68,06\text{cm}^2$	$18,23\text{cm}^2$	$49,83\text{cm}^2$
6	$16,96\text{cm}^2$	$1,09\text{cm}^2$	$15,86\text{cm}^2$
13	$64,46\text{cm}^2$	$23,51\text{cm}^2$	$40,95\text{cm}^2$
17	$19,10\text{cm}^2$	$12,63\text{cm}^2$	$6,47\text{cm}^2$
18	$39,56\text{cm}^2$	$11,23\text{cm}^2$	$28,33\text{cm}^2$
20	$35,97\text{cm}^2$	$11,01\text{cm}^2$	$24,96\text{cm}^2$
21	$17,66\text{cm}^2$	$6,20\text{cm}^2$	$11,46\text{cm}^2$
22	$22,41\text{cm}^2$	$4,75\text{cm}^2$	$17,65\text{cm}^2$
24	$53,46\text{cm}^2$	$20,91\text{cm}^2$	$32,55\text{cm}^2$

Tabela 5 - Área total, área de metal e área de resina das próteses removíveis dos pacientes do grupo teste (continuação)

<b>Paciente</b>	<b>Área total</b>	<b>Área de metal</b>	<b>Área de resina</b>
25	47,03cm <sup>2</sup>	23,91cm <sup>2</sup>	23,12cm <sup>2</sup>
27	38,90cm <sup>2</sup>	10,27cm <sup>2</sup>	28,62cm <sup>2</sup>
29	65,29cm <sup>2</sup>	29,02cm <sup>2</sup>	36,26cm <sup>2</sup>
30	45,34cm <sup>2</sup>	1,99cm <sup>2</sup>	43,34cm <sup>2</sup>
31	26,27cm <sup>2</sup>	19,27cm <sup>2</sup>	6,98cm <sup>2</sup>
32	18,91cm <sup>2</sup>	14,34cm <sup>2</sup>	4,56cm <sup>2</sup>
33	22,54cm <sup>2</sup>	9,85cm <sup>2</sup>	12,69cm <sup>2</sup>
34	32,18cm <sup>2</sup>	7,98cm <sup>2</sup>	24,19cm <sup>2</sup>
35	27,80cm <sup>2</sup>	13,11cm <sup>2</sup>	14,74cm <sup>2</sup>
36	67,10cm <sup>2</sup>	12,97cm <sup>2</sup>	54,22cm <sup>2</sup>
37	53,69cm <sup>2</sup>	28,05cm <sup>2</sup>	25,64cm <sup>2</sup>
38	25,64cm <sup>2</sup>	12,58cm <sup>2</sup>	13,05cm <sup>2</sup>
39	21,12cm <sup>2</sup>	12,27cm <sup>2</sup>	8,84cm <sup>2</sup>
40	36,28cm <sup>2</sup>	16,75cm <sup>2</sup>	19,52cm <sup>2</sup>
41	36,26cm <sup>2</sup>	24,08cm <sup>2</sup>	12,17cm <sup>2</sup>
43	55,22cm <sup>2</sup>	22,81cm <sup>2</sup>	32,41cm <sup>2</sup>
45	19,39cm <sup>2</sup>	10,02cm <sup>2</sup>	9,36cm <sup>2</sup>
46	36,56cm <sup>2</sup>	16,83cm <sup>2</sup>	19,73cm <sup>2</sup>
47	41,93cm <sup>2</sup>	22,02cm <sup>2</sup>	19,91cm <sup>2</sup>
48	53,82cm <sup>2</sup>	13,01cm <sup>2</sup>	40,81cm <sup>2</sup>
49	36,78cm <sup>2</sup>	14,28cm <sup>2</sup>	22,49cm <sup>2</sup>
51	32,14cm <sup>2</sup>	18,0cm <sup>2</sup>	14,13cm <sup>2</sup>
52	82,78cm <sup>2</sup>	25,70cm <sup>2</sup>	57,07cm <sup>2</sup>
53	26,31cm <sup>2</sup>	16,21cm <sup>2</sup>	10,10cm <sup>2</sup>
54	31,94cm <sup>2</sup>	11,31cm <sup>2</sup>	20,62cm <sup>2</sup>
55	20,75cm <sup>2</sup>	15,00cm <sup>2</sup>	5,75cm <sup>2</sup>
56	17,58cm <sup>2</sup>	12,08cm <sup>2</sup>	5,49cm <sup>2</sup>
57	31,39cm <sup>2</sup>	9,04cm <sup>2</sup>	22,34cm <sup>2</sup>
58	49,64cm <sup>2</sup>	16,31cm <sup>2</sup>	33,33cm <sup>2</sup>

A Tabela 6 mostra o resultado da análise de correlação entre o n° de UFC/ml e o índice de higiene oral, área de metal e área de resina do grupo-teste. Os resultados da correlação mostraram que quanto maior o n° de UFCs mais baixo o percentual do IHO (baixa correlação negativa) e que, quanto maior a área de metal e

a área de resina, maior o nº de UFC, (baixa correlação positiva), todas elas sem significância estatística ( $p > 0,05$ ).

Tabela 6 - Correlação das variáveis nº UFC/ml, IHO, área metal e área resina do grupo teste

Variáveis	Coefficiente de correlação	p-valor
nº UFC/ml x IHO	-0,1374	0,45
nºUFC/ml x área metal	0,0220	0,90
nº UFC/ml x área resina	0,2543	0,16
área metal x área resina	0,2245	0,22

Coefficiente de correlação de Pearson

A Tabela 7 apresenta os indivíduos do grupo-teste, separados em usuários de prótese com até cinco anos e usuários de prótese com mais de cinco anos. A análise estatística mostrou haver uma relação de dependência entre as variáveis ( $p=0,01$ ). A Figura 10 apresenta os resultados em percentual por meio de gráfico.

Tabela 7 – Número de indivíduos com casos positivos e negativos com relação à idade da prótese

Presença de <i>Candida</i>	Idade da prótese			
	Até 5 anos		Acima de 5 anos	
	n	%	n	%
Positivo	15	37,5	17	42,5
Negativo	8	20	0	0
Total	23	57,5	17	42,5

Teste exato de Fischer ( $p = 0,01$ )



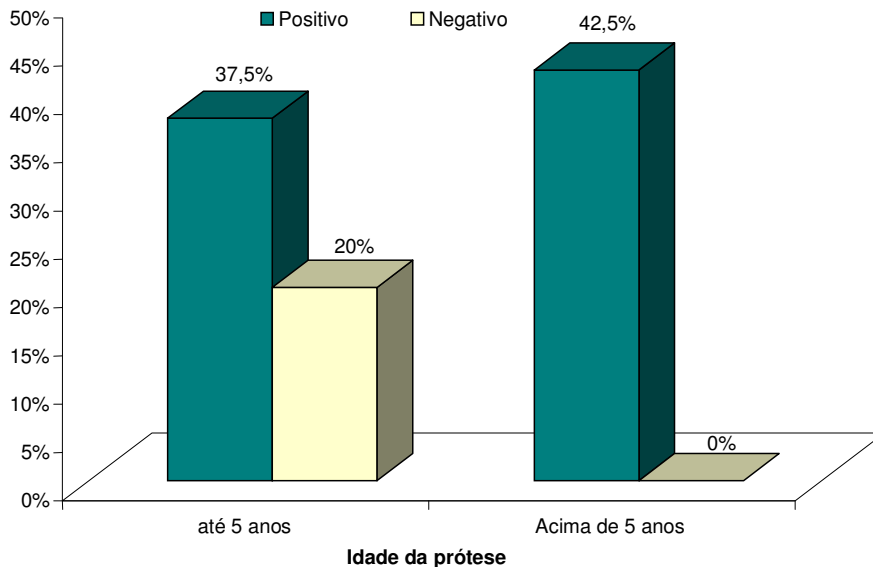


Figura 10 – Porcentagens de indivíduos que apresentaram casos positivos e negativos com relação à idade da prótese

A Tabela 8 mostra o resultado da presença de *Candida* em relação à remoção noturna da prótese. Sete pacientes (17,5%) do grupo-teste responderam remover a prótese à noite; destes, seis (15%) eram positivos para *Candida*, e um (2,55), negativo. Dos 32 (82,5%) que afirmaram não remover a prótese à noite, 26 (65%) apresentaram leveduras do gênero *Candida* na saliva, e sete (17,5%), não. A análise estatística mostrou não haver uma relação de dependência entre as variáveis ( $p = 1,0$ ). A Figura 11 apresenta os resultados em percentual por meio de gráfico.

Tabela 8 – Número de indivíduos com casos positivos e negativos com relação à remoção noturna da prótese

Presença de <i>Candida</i>	Remoção noturna da prótese			
	Sim		Não	
	n	%	n	%
<b>Positivo</b>	6	15	26	65
<b>Negativo</b>	1	2,5	7	17,5
<b>Total</b>	7	17,5	33	82,5

Teste Exato de Fisher ( $p = 1,0$ )

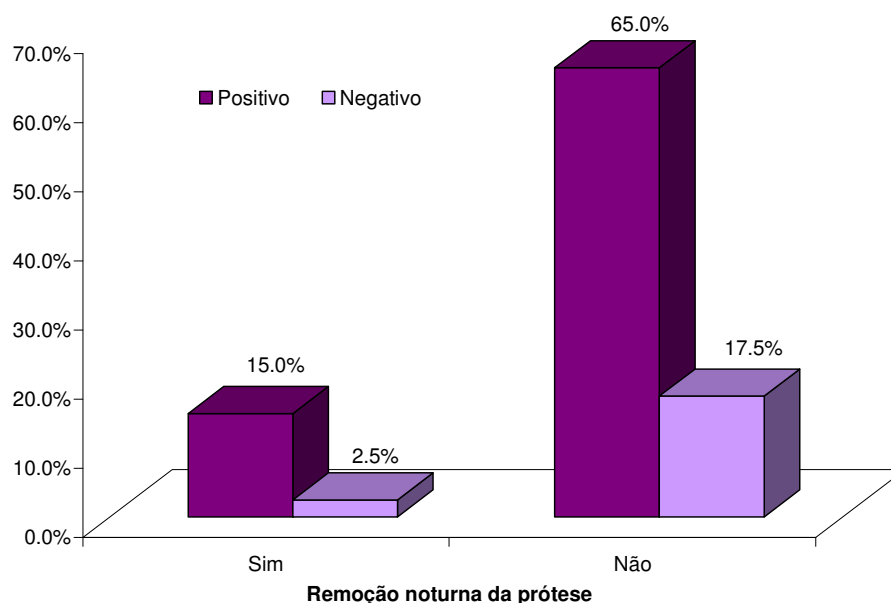


Figura 11 – Porcentagens de indivíduos que apresentaram casos positivos e negativos com relação à remoção noturna da prótese

A Tabela 9 apresenta o resultado da presença de lesão sob a prótese. Dos vinte e três indivíduos que apresentavam lesão sob a prótese, 21 eram positivos para *Candida*, e dois, negativos. Entre os indivíduos que não apresentavam lesão sob a prótese, 11 eram positivos, e seis negativos para *Candida*. A Figura 12 expõe graficamente os resultados. A análise estatística mostrou não haver relação de dependência entre as variáveis ( $p = 0,053$ ).

Tabela 9 – Número de indivíduos com casos positivos e negativos com relação à lesão sob a prótese

Presença de <i>Candida</i>	Lesão sob a prótese			
	Sim		Não	
	n	%	n	%
<b>Positivo</b>	21	52,5	11	27,5
<b>Negativo</b>	2	5	6	15
<b>Total</b>	23	57,5	17	42,5

Teste exato de Fischer ( $p = 0,053$ )

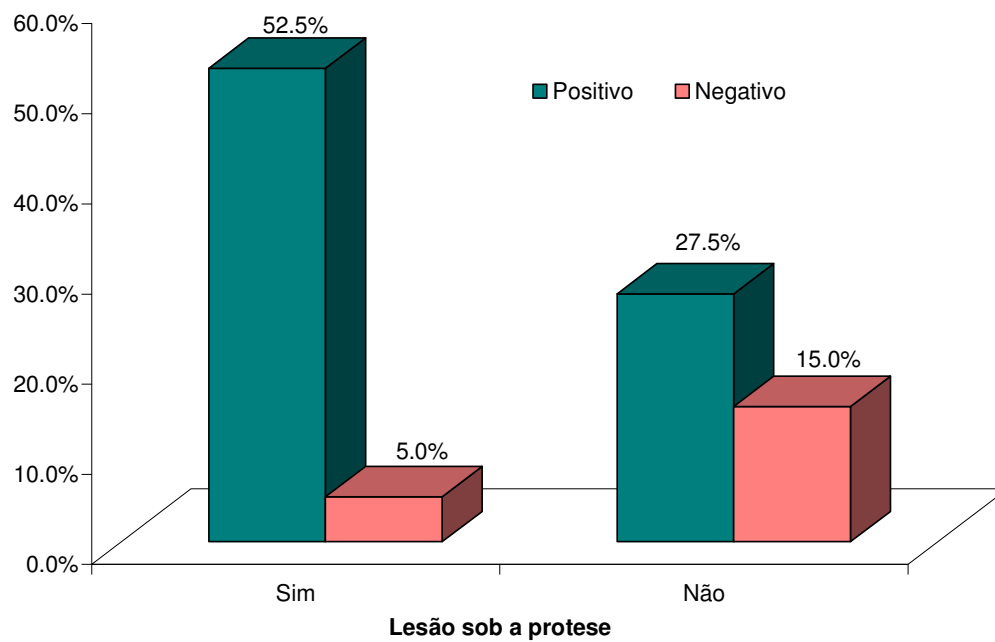


Figura 12 – Porcentagens de indivíduos que apresentaram casos positivos e negativos com relação à lesão sob a prótese

## 6 DISCUSSÃO

Pesquisas *in vitro* demonstraram que leveduras do gênero *Candida* aderem à resina acrílica termopolimerizável, utilizada para a confecção de próteses totais e parciais removíveis, o que é essencial para o início do processo de agressão à mucosa adjacente de suporte e desenvolvimento da estomatite protética (HE et al., 2006; HENRIQUES; AZEREDO; OLIVEIRA, 2003; LAMFON et al., 2003; PARK; PERIATHAMBY; LOZA, 2003; MCCOURTIE; DOUGLAS, 1981; RADFORD et al., 1998; TAYLOR; MARRIAN; VERRAN, 1998; WILLIAMS et al., 1998). A aderência de leveduras à liga cobalto-cromo, utilizada para a confecção das Próteses Parciais Removíveis a Grampo (PPR), foi demonstrada por Taylor, Marrian e Verran, (1998).

O estudo da relação entre microrganismos e PPR se torna mais complexo do que o realizado com próteses totais convencionais, em razão da presença de materiais distintos (resina acrílica associada a liga metálica de cobalto-cromo). O questionamento sobre como se comportam as leveduras do gênero *Candida* com relação às próteses parciais removíveis a grampo, associado ao fato de quase não haver publicações a este respeito, foi o que motivou o desenvolvimento desta pesquisa.

A elevada prevalência de pacientes positivos para *Candida* (80%), no grupo teste deste trabalho, é superior à encontrada por Jorge et al. (1997), em usuários de prótese parcial removível (68%). No mesmo trabalho, no total de 50 pacientes, foram identificadas, na saliva, as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. kefir*, coincidindo com este trabalho apenas a espécie *C. albicans*, que também foi a espécie mais prevalente. Monroy et al. (2005), estudando a relação entre *C. albicans* e pacientes usuários de prótese total, encontraram *C. albicans* colonizando a mucosa bucal de 51,4% dos pacientes participantes do estudo. Berdicevsky et al.

(1980) verificaram maior presença de *Candida* em usuários de prótese total (88,0%) em relação a indivíduos-controle

A metodologia desenvolvida para a medida da área de resina e metal, por meio do uso de placas de silicone, foi de fácil execução, baixo custo e tornou possível a medida de áreas com muita irregularidade como, por exemplo, a superfície de grampos, o que seria difícil por meio de softwares de leitura de imagens. Além disso, mostrou-se confiável pela padronização realizada por plastificações sobre a superfície lateral de blocos de gesso, com alturas compatíveis com a das próteses parciais removíveis, a fim de garantir que a espessura do pedaço de 1 cm<sup>2</sup> de silicone pesado teria a mesma espessura do silicone após plastificação sobre a prótese.

Foram avaliados, neste trabalho: a presença e o número de leveduras do gênero *Candida* na saliva sem estimulação de usuários de próteses parciais removíveis a grampo, procurando relacionar a presença e a contagem de leveduras do gênero *Candida* com área de metal e resina; índice de higiene oral (IHO); presença de lesão na mucosa adjacente às próteses; idade da prótese e hábito de remoção noturna. O estudo desses fatores associados propicia uma compreensão mais ampla da associação entre leveduras do gênero *Candida* e o uso de PPR.

O número de UFC de *Candida* por mililitro de saliva foi estatisticamente superior para os indivíduos usuários de PPR, quando comparado à amostra pareada de não-usuários de PPR, o que está de acordo com o trabalho de Jorge et al. (1997), que avaliaram a saliva de pacientes com fatores predisponentes para o desenvolvimento de leveduras do gênero *Candida*, entre eles o uso de PPR, em comparação com a saliva de pacientes sem fatores predisponentes.

A análise dos resultados do presente trabalho demonstrou não haver diferença estatística significativa no percentual do IHO, que foi predominantemente elevado, entre os grupos teste e controle nos casos negativos e positivos. Não foram encontrados trabalhos sobre a associação entre PPR e IHO que possibilitassem a comparação com os resultados do presente estudo. No estudo de Jeganathan, Payne e Thean (1997) foram avaliados, em pacientes usuários de prótese total, além de outros aspectos, hábito de higiene oral, que foi medido por meio da evidência de biofilme bacteriano sobre a superfície de próteses totais, havendo relação estatística significativa entre os casos positivos para estomatite protética e hábitos precários de higiene oral. Oliveira et al. (2000) estudaram pacientes usuários de prótese total que apresentavam estomatite protética e não encontraram relação estatística significativa entre a condição de limpeza das próteses, avaliada pela presença ou não de biofilme bacteriano na prótese, e estomatite protética. Os elevados índices de higiene oral encontrados no presente trabalho, tanto para o grupo-teste quanto para o grupo-controle, estão de acordo com os resultados encontrados por Lopes, Rios e Fernandez (1996), que, segundo os autores, podem estar relacionados à condição socioeconômica e baixo índice de escolaridade da população estudada. A maior parte dos participantes da presente pesquisa pertence a uma comunidade periférica com baixa condição socioeconômica.

Embora a análise de correlação entre área de metal e resina com número de UFC de *Candida* por ml na saliva não tenha apresentado diferença estatística significativa, o teste estatístico mostrou uma baixa correlação positiva entre as variáveis. Isto significa que o aumento, tanto da área de metal como da área de resina, favorece o aumento do número de leveduras do gênero *Candida* na saliva de usuários de prótese parcial removível a grampo. Desta forma, os dois materiais

podem participar do processo de colonização por leveduras do gênero *Candida*. O presente estudo mostra uma correlação positiva maior entre resina e número de UFC de *Candida* por ml na saliva que entre metal e número de microrganismos. Há trabalhos que mostram vantagem das ligas metálicas em relação à resina acrílica quanto à colonização por leveduras do gênero *Candida*. Por exemplo, no estudo realizado por Perezous et al. (2006), que levou em conta o crescimento de leveduras do gênero *Candida* sobre dois materiais constituintes de próteses, resina acrílica e uma liga metálica constituída por níquel-cromo-berílio, observou-se predominância de aderência dos microrganismos sobre resina.

Embora tenha sido maior o número de pacientes positivos para *Candida* no grupo-teste do presente estudo, chama atenção a elevada prevalência de pacientes positivos para leveduras do gênero *Candida* no grupo-controle (65%), resultado superior ao encontrado nos estudos de Arendorf e Walker (1980): 29,60%; Berdicevsky et al. (1980): 52,00%; Jorge et al. (1997): 37,38% e Wray et al. (1990): 37,00%;

No presente trabalho, indivíduos com próteses com mais de cinco anos de uso foram positivos na sua totalidade para a presença de *Candida* na saliva; entre os que possuíam próteses com até cinco anos de uso, 65,22% eram positivos, o que está de acordo com os trabalhos desenvolvidos por Taylor, Marian e Verran, (1998) e Henriques, Azeredo e Oliveira (2004), nos quais ficou demonstrado o papel da rugosidade no aumento da aderência de leveduras do gênero *Candida* a superfícies acrílicas. O envelhecimento da resina acrílica leva a um processo de deterioração que se caracteriza por aumento da porosidade, tornando a superfície progressivamente mais rugosa, o que favorece a colonização por microrganismos.

A estomatite protética é causada principalmente por leveduras do gênero *Candida* que aderem à resina acrílica de próteses totais e PPRs e agridem a mucosa bucal de suporte (DAR-ODEH; SHEHABI, 2003; KULAK; ARIKAN; KAZAZOGLU, 1997). No presente estudo, a maioria dos pacientes que afirmou não remover a prótese foi positiva para leveduras do gênero *Candida*. De acordo com os estudos de Jeganathan, Paine e Tean (1997), Jorge Junior et al. (1991) e Espinosa et al. (2003), há relação estatística entre o uso contínuo da prótese e estomatite protética, o que indica a necessidade de trabalhos educativos entre os usuários de prótese removível na localidade onde a pesquisa foi desenvolvida.

Estudos realizados com pacientes usuários de próteses mucossuportadas revelaram um elevado percentual de pacientes com lesão (estomatite protética) em área de suporte da mucosa (BARBEAU et al., 2003; ESPINOZA et al., 2003; JEGANATHAN; PAYNE; TEAN, 1997; JORGE JUNIOR et al., 1991; PIRES et al., 2002; SHULMAN; RIVERA-HIDALGO; BEACH, 2005). Assim, as próteses mucossuportadas podem ser consideradas como facilitadoras em potencial da estomatite protética (OLIVEIRA et al., 2000). Pouco mais da metade dos usuários de prótese parcial removível a grampo avaliados no presente estudo, positivos para presença de levedura do gênero *Candida*, apresentaram lesão sob a prótese em área de metal, área de resina ou em ambas. Apesar disso, o resultado deste estudo mostrou que o uso de prótese parcial removível a grampo não causou alterações clinicamente detectáveis em mucosa de forma significativa na população estudada. Das espécies de leveduras encontradas no presente estudo, *C. albicans* foi a espécie mais prevalente, nos grupos teste e controle, resultado semelhante ao encontrado por Arendorf e Walker (1979); Jorge et al. (1997); Monroy et al. (2004); Samaranayake e Holmstrup (1989); Penha et al. (2000); Pires et al. (2002);



Stenderup (1990). Para as outras espécies de leveduras do gênero *Candida*, identificadas segundo Stenderup (1990), o esperado seria a ocorrência de *C. tropicalis* seguida por *C. lusitaniae*. Este resultado pode ser observado no grupo-controle do presente trabalho; já no grupo-teste, houve uma maior recuperação de *C. lusitaniae* e *C. tropicalis* não foi identificada em nenhuma amostra. Foi identificada em uma amostra *C. pelliculosa*, que apesar de raramente recuperada da saliva (SWOBODA-KOPEC, 2001), é um microrganismo capaz de causar fungemia (NEUMEISTER, ROCKEMANN, MARRE, 1998), ventriculite cerebral em neonatos, endocardite em usuários de drogas injetáveis e infecção do trato urinário em pacientes transplantados renais (MURPHY et al., 1986; NOHINEK et al., 1987; QADRI et al., 1988; SALESA et al., 1991).

O resultado do diferencial de temperatura para *C. dubliniensis* encontrado neste trabalho foi semelhante ao encontrado por Mesa et al. (2004) e Mosca et al. (2005). Embora não tenhamos encontrado trabalhos relacionando a presença de *C. dubliniensis* na cavidade bucal de usuários de próteses parciais removíveis a grampo, Mosca et al. (2005) isolaram e identificaram *C. dubliniensis* na saliva de pacientes usuários de Próteses Ortopédicas Orais.

O planejamento da PPR é versátil, permitindo a concepção de próteses com diferentes proporções entre liga metálica e resina acrílica para o mesmo caso clínico, portanto diante do que foi discutido parece lícito supor que próteses com menor quantidade de resina sejam mais adequadas do ponto de vista de colonização microbiana.

## 7 CONCLUSOES

À luz dos resultados do presente estudo, foi possível concluir que

- a) Usuários de Prótese Parcial Removível a Grampo (PPR) apresentaram elevada prevalência de leveduras do gênero *Candida* na saliva (80%), cuja espécie mais freqüente foi *C. albicans*.
- b) O número de unidades formadoras de colônias de *Candida*, por mililitro (UFC/ml) de saliva não estimulada de pacientes usuários de prótese parcial removível a grampo, foi estatisticamente superior ao encontrado na saliva de pacientes não-usuários de prótese.
- c) Existe baixa correlação positiva entre a área de metal e área de resina e o nº de UFC/ml de saliva em usuários de próteses parciais removíveis a grampo, sendo esta correlação mais expressiva para a área de resina.

## REFERÊNCIAS

- AMBJORNSEN, E. et al. Assesment of an additive index for plaque accumulation on complete maxillary dentures. **Acta. Odontol. Scand.** Oslo, v. 40, n. 4, p. 203-208. Apr. 1982.
- ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M. Oral candidal population in health and disease. **Brit. Dent. J.**, Wales, v. 147, n. 10, p. 267-272, Oct. 1979.
- ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M. *Candida albicans*: its association with dentures, plaque and the oral mucosa. **J. Dent. Assoc. South Africa**, South Africa, v. 35, p. 563-569, 1980.
- ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M. Denture stomatitis: a review. **Journal of oral rehabilitation.** Wales, v. 14, n. 3, p. 217-227, Mar. 1987.
- AZEVEDO, R. V. P. et al. *Candida spp.* in the oral cavity with and without lesions: maximal inhibitory dilution of propolis and periogard. **Revista de Microbiologia.** São Paulo, v. 30, p. 335-34, 1999.
- BARBEAU, J. et al. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. **Oral Surg. Oral Méd .Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 95, n. 1, p. 51-59, Jan. 2003.
- BATISTA, J. M.; BIRMAN, E. G.; CURY, A. E. Susceptibilidade a antifúngicos de cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes com estomatite protética. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 13, n. 4, p. 343-348, out./ dez. 1999.
- BERDICEVSKY, I. et al. Oral *Candida* in assintomatic denture wearers. **Int. J. Oral Surg.**, v. 9, n. 2, p. 113-115, Apr. 1980.
- BUTZ-JORGENSEN, E. Clinical aspects of *Candida* infection in denture wearers. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 96, n. 3, p. 474-479, Mar. 1978.
- CANDIDO, R. C.; AZEVEDO, R. V. P.; KOMESU, M. C. Enzimotipagem de espécies do gênero *Candida* isoladas da cavidade bucal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 33, n. 5, p. 437-442, set./out., 2000.
- COELHO, C. M. P.; SOUZA, Y. T. C. S.; DARÉ, A. M. Z. Denture-related oral mucosal lesions in brasilian school of dentistry. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 135-139, Feb. 2004.
- CROSS, L. J. et al. Evaluation of the recurrence of denture stomatitis and *Candida* colonization in a small group of patients who received itraconazole. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 97, n. 3, p. 351-358, Mar, 2004.

DAR-ODEH, N. S.; SHEHABI, A. A. Oral candidosis in patients with removable dentures. **Mycoses**, Berlin, v. 46, n. 5-6, p. 187-191, June 2003.

EDGERTON, M. et al. Human submandibular-sublingual saliva promotes adhesion of *Candida albicans* to Polymethylmethacrylate. **Infection and Immunity**, Washington, v. 61, n. 6, p. 2644-2652, June 1993.

ELLEPOLA, A. N. B.; SAMARANAYAKE. Adhesion of oral *Candida albicans* isolates to acrylic following limited exposure to antifungal agents. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v. 43, n. 12, p. 999-1007, Dec. 1998.

ESPINOZA, I. et al. Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. **J. Oral Pathol. Med.**, Santiago, v. 32, n. 10, p. 571-575, Nov. 2003.

HANULLA, J. et al. Comparisson of virulence factors of oral *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* isolates in healthy people and patients with cronic candidosis. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 238-244, Aug. 2000.

HE, X. Y. et al. In vitro adhesion of *Candida* especies to denture base materials. **Mycoses**, Berlin, v. 49, n. 2, p. 80-84, Mar. 2006.

HENRIQUES, M.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Adesion of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to acrilic and hidroxiapatite. **Colloids and Surfaces: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 33, p. 235-41, 2004.

IACOPINO, A. M.; WATEN, W. F. Oral *candidal* infection and denture stomatitis. A comprehensive review. **JADA**, Chicago, v. 123, n. 1, p. 46-51, Jan. 1992.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares, POF-2002-2003**. Disponível em: <[www.IBGE.gov.br](http://www.IBGE.gov.br)> Acesso em: [www.IBGE.gov.br](http://www.IBGE.gov.br)

IKEBE, K. et al. Association of candidal activitiy with denture use and salivary flow in sintom-free adults over 60 years. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 36-42, Jan. 2006.

JAINKITTIVONG, A.; ANEKSUK, V.; LANGLAIS, R. P. Oral mucosal conditions in elderly dental patients. **Oral diseases**, Bangkok, v. 8, n. 4, p. 218-223, July 2002.

JEGANATHAN, S.; PAYNE, J. A.; THEAN, H. P. Y. Denture stomatitis in an elderly edentulous Asian population. **Journal of Oral Rehabilitation**, Singapore, v. 24, n. 6, p. 468-472, june 1997.

JORGE, A. O. C. 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**, São Paulo, v. 11, n 4, p. 279-285, out./dez. 1997.

JORGE JUNIOR. et al. Oral mucosal health and disease in institutionalized elderly in Brazil. **Community Dent. Oral. Epidemiol.**, Copenhagen, v. 19, n. 3, p. 173-175, June 1991.

KOVAC-KAVCIC, M.; SCALERIC, U. The prevalence of oral mucosal lesions in a population in Ljubljana, Slovenia. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 29, n. 7, p. 331-335, Aug. 2000.

KRAMER, I. R. H. et al. Guide to epidemiology and diagnosis of oral mucosal diseases and conditions. World Health Organization. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, Copenhagen, v. 8, n. 1, p. 1-26, Feb. 1980.

KULAK, Y.; ARIKAN, A.; KAZAZOGLU, E. Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford, v. 24, n. 10, p. 788-790, Oct. 1997.

KULAK-OZKAN, Y.; KAZAZOGLU, E.; ARIKAN, A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of oral yeasts and stomatitis in elderly people. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford. v. 29, n. 3, p. 300-304, Mar. 2002.

LAMFON, H. et al. Formation of *Candida albicans* biofilms on non- shedding oral surfaces. **Eur. Oral Sci.**, Copenhagen, v. 111, n. 6, p. 465-471, Dec. 2003.

LAMFON, H. et al. Composition of in vitro denture plaque biofilms and susceptibility to antifungals. **FEMS Microbiology letters**, Amsterdam, v. 242, n. 2, p. 345-351, Jan. 2005.

LANGLAIS, R. P.; MILLER, C. S. **Color atlas of common oral diseases**. Philadelphia: Lea & Febiger. 1992.

LOPES, N. J.; RIOS, V.; FERNANDEZ, O. Periodontal conditions in 15-19-years-old Chileans. **Int. Dent. J.**, London, v. 46, n. 3, p. 161-164, June. 1996.

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.**, London, v. 35, n. 8, p. 888-891, Aug. 1982.

MAZA, J. L. et al. *Candida albicans* adherence to resin-composite restorative dental material: influence of whole human saliva. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 94, n. 5, p. 589-592, Nov. 2002.

MCCOURTIE, J.; DOUGLAS, J. Relationship between cell surface composition of *Candida albicans* and adherence to acrylic after growth on different carbon sources. **Infection and Immunity**, Washington, v. 32, n. 3, p. 1234-1241, July 1981.

MCMULLAN- VOGEL, C. G. et al. Serotype distribution and secretory acid proteinase activity of *Candida albicans* isolated from the oral mucosa of patients with denture stomatitis. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 14, n. 3, p. 183-189, June 1999.

MESA, L. M. et al. Evaluación de los caracteres fenotípicos para diferenciar *Candida albicans* de *Candida dubliniensis*. **Rev. Iberoam. Micol.**, Barcelona, v. 21, n. 3, p. 135-138, 2004.

MONROY, T. B. et al. *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* in patients wearing dental protheses. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, Valencia, v.1, n. 10, p. 27- 39, Apr. 2005.

MOSCA, C.O. et al. Aislamiento de *Candida dubliniensis* en un adolescente con estomatite protésica. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, Valencia, v. 10, n. 1, p. 25-31, 2005.

MURPHY, N. et al. Infection and colonisation of neonates by *Hansenula anomala*. **Lancet**, London, v. 8, n. 1, p. 291–293, Feb. 1986.

NEUMESTER, B.; ROCKEMAN, M.; MARRE,R. Fungaemia due to *Candida pelliculosa* in a case of acute pancreatitis. **Mycoses**, Berlin, v. 35, n. 11-12, p. 309-310, Nov-Dec. 1992.

NEVALAINEN, M. J.; NARHI, T. O.; AINANO, A. Oral mucosal lesions and oral hygiene habits in the home-living elderly. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 332-337, May 1997.

NEWTON, A. V. Denture sore mouth. A possible etiology. **Br. Dent. J.**, London, v. 112, p. 357- 360, 1962.

NIKAWA, H.; HAMADA, T.; YAMAMOTO, T. Denture palque- past and recent concerns. **J. Dent.**, Guildford, v. 26, n. 4, p. 299-304, May 1998.

NOHINEK, B. et al. Infective endocarditis of a bicuspid aortic valve caused by *Hansenula anomala*. **Am J Med**, Nova York, v.82, n. 1, p. 165–168, . 1987.

O' LEARY, T. J. The periodontal screening examination. **Jounal of Periodontology**, Indianápolis, v. 38, n. 6, p. 617-624, Nov./Dec. 1967.

OLIVEIRA, T. R. C. de et al. Avaliação da estomatite protética em portadores de próteses totais. **Pesqui. Odont. Bras.**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 219-224, jul./set. 2000.

OLSEN, I. Denture stomatitis. Ocorrence and distribution of fungi. **Acta Odont. Scand.**, Oslo, v. 32, n. 5, p. 329-333, May 1974.

PANAGODA, G. J.; SAMARANAYAKE, L. P. A new semi-automated technique for quantification of *Candida* adherence to denture acrylic surfaces. **Mycoses**, Berlin, v. 42, n. 4, p. 265-267, Apr. 1999.

PARK, S. E.; PERIATHAMBY, A. R.; LOZA, J. C. Effect of surface charged poly (methyl Metacrilate) on the adhesion of *Candida albicans*. **J. Prosthodont.**, Philadelphia, v. 12, n. 4, p. 249-254, Dec. 2003.

PENHA, S. S. et al. Frequency and enzymatic activity (proteinase and fosfolipase) of *Candida albicans* from edentulous patients, with and without denture stomatitis. **Pesqui. Odont. Bras.**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 119-22, abr/jun. 2000.

PEREZOUS, L. F. et al. Effect of complete denture with a metal palate on *Candida* espécies growth in HIV-infected patients. **J. Prosthodont.**, Philadelphia, v. 15, n. 5, p. 306-315, Sept/Oct. 2006.

PINJON, E. et al. Simple, inexpensive, reliable methods for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 36, n. 7, p. 2093-2095, July 1998.

PIRES, F. R. et al. Denture stomatitis and salivary *Candida* in brasilian edentulous patientes. **Journal of Oral Rehabilitation**, Oxford, v. 29, n. 11, p. 1115-1119. Nov. 2002.

QADRI, S. M. et al . Urinary tract infection caused by *Hansenula anomala*. **Mycopathologia**, The Hague, v. 104, n.2, p. 99–101, nov. 1988

RADFORD, D. R. et al. Adherence of *Candida albicans* to denture- base materials with different surface finishes. **J. Dent.**, Guildford, v. 26, n. 7, p. 577-83. Nov. 1998.

RAMAGE, G. et al. Denture stomatitis : A role for *Candida* biofilms. **Oral Surg. Oral Med. Oral Patol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 98, n. 1, p. 53-9, July 2004.

RISE, J. An approach to epidemiologic assessment of complete denture. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 37, n. 1, p. 57-63. Jan. 1979.

SALESA, R. et al. Transient fungaemia due to *Candida pelliculosa* in a patient with AIDS. **Mycoses**, v. 34, n. 7-8, p. 327-329, jul-aug. 1991.

SAMARANAYAKE, L. P.; HOLMSTRUP, P. Oral candidiasis and human immunodeficiency vírus infection. **J. Oral Patol. Med.**, Copenhagen, v. 18, n.10, p. 554-564, Dec. 1989.

SAMARANAYAKE, L. P.; MACFARLANE, T. W. The effect of dietary carbohydrates on the in-vitro adhesion of *Candida albicans* to epithelial cells. **J. Med. Microbiol.**, Edinburg, v. 15, n.4, p. 511-517, Nov. 1982

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

SHULMAN, J. D.; RIVERA-HIDALGO, F.; BEACH, M.M. Risk factors associated with denture stomatitis in the United States. **J. Oral. Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 34, n. 6, p. 340-346. July 2005.

SIDRIN, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 285 p.

STENDERUP, A. Oral mycology. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 48, n.1, p. 3-10, Feb. 1990.

SWOBODA-KOPEC, E. et al. Etiologic agents of fungemia in hospitalized patients. **Med Dosw Mikrobiol**, Warszawa , v. 53, n. 3, p. 291-295, 2001.

TAYLOR, R.; MARIAN, C.; VERRAN, J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. **J. Prosthet. dent.**, St. Louis, v. 80, n. 5, p. 592- 597, Nov. 1998.

TODESCAN, R.; SILVA, E. E. B.; SILVA, O. J. **Atlas de Prótese Parcial Removível**. São Paulo: Livraria Santos Editora, 1996. 345 p

UETA, E. et al. Regulation of *Candida albicans* growth and adesion by saliva. **J. Lab. Clin Med.**, St. Louis, v. 136, n. 1, p. 66-73, Oct. 2000.

VIGILD, M. Denture status and need for prosthodontic treatment among institutionalized elderly in Denmark. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 128-133. June 1987.

WEBB, B. C. THOMAS, W. C. WHITTLE, T. A 2-year study of *Candida*- associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. **Gerodontology**, Mount Desert, v. 22, n. 3, p. 168-176, Sept. 2005.

WILLIAMS, D. W. et al. A novel technique for assessment of adherence of *Candida albicans* to solid surfaces. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 51, n. 5, p 390-391, May 1998.

WRAY, D. et al. Alteration of humoral responses to *Candida* in HIV infection. **Br. Dent. J.**, London, v. 168, n. 8, p. 326-329, Apr. 1990.

ZANETTI, R. V. et al. Estudo de 60 pacientes portadores de prótese parcial removível: avaliação clínica das lesões nas áreas de suporte da mucosa bucal. **RPG**, São Paulo, v. 3, n. 3, p. 175-184, jul./ago./set. 1996.



ZANGUellini, G.; RHEINBERGER, V.; ARENDS, J. Quantification of deposits formed in the oral cavity on various materials after a 1-year period. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 70, n. 5, p. 414-420, Nov. 1996.

**APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido****UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ/SP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título: Prevalência de *Candida spp.* na saliva de usuários de prótese parcial removível a grampo.

Pesquisadores:

JOÃO MILTON ROCHA GUSMÃO

SILVANA SÓLEO FERREIRA DOS SANTOS

Faculdade de Odontologia, Universidade de Taubaté

1. **Introdução:** As informações a seguir descreverão esta pesquisa e o papel que você terá como participante. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo responderão a todas as perguntas que você possa ter. Por favor, leia este termo cuidadosamente e não tenha dúvida em perguntar qualquer coisa sobre as informações abaixo.

2. **Propósito:** Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica cujo objetivo é determinar a prevalência do micróbio chamado *Candida* em pessoas que usam prótese parcial removível a grampo.

3. **Descrição do estudo:** Serão selecionadas pessoas usuárias de prótese parcial removível. Também serão selecionadas pessoas que não usam qualquer tipo de prótese removível

4. **Desconforto, riscos e benefícios esperados:** Você está sendo convidado a cuspir em um frasco e a responder a algumas perguntas. Estes procedimentos não provocarão qualquer risco ou custo e você será informado dos resultados do exame.

5. **Compensação:** Não existem danos imediatos ou futuros previsíveis decorrentes da pesquisa, portanto a mesma não inclui a possibilidade de indenização.

6. **Confidencialidade dos registros:** Concordando em participar desta pesquisa, você permite acesso aos dados obtidos durante o estudo, aos pesquisadores nele envolvidos, aos membros do Comitê de Ética responsáveis pela análise deste projeto. Os resultados deste projeto de pesquisa poderão ser apresentados em congressos ou em publicações, porém sua identidade não será revelada.

7. **Direito de participar, recusar ou sair:** Ao participar você concorda em cooperar com os procedimentos que serão executados e que foram descritos acima, não abrindo mão de seus direitos legais ao assinar o termo de consentimento informado. Sua participação neste estudo é voluntária e você poderá recusar-se a participar ou poderá interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda dos benefícios aos quais de outra forma tenha direito.

8. **Contatos:** Se ainda houver qualquer dúvida sobre o estudo, ou se você sentir algum tipo de problema após realizados os exames você poderá receber mais esclarecimentos falando com:

C.D. João Milton Rocha Gusmão Prof. Dra. Silvana Soléo Ferreira dos Santos  
Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté Telefone: (12)3625- 4150 e  
em Vitória da Conquista pelo telefone: (77) 3421 5622.

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ SP- FACULDADE DE ODONTOLOGIA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Fui esclarecido sobre a finalidade da pesquisa, quanto aos procedimentos a serem realizados, através de uma descrição suscinta e acessível a minha compreensão.

Estou ciente de que será mantido sigilo sobre os dados individuais coletados na pesquisa.

**AUTORIZAÇÃO**

Após ter sido informado sobre as características da pesquisa "**Prevalência de microrganismos do gênero *Candida* na saliva de usuários de prótese parcial removível a grampo**", autorizo a realização do procedimento.

Nome do paciente: \_\_\_\_\_

R.G.nº. \_\_\_\_\_

---

Assinatura



**ANEXO - Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa**

**Universidade de Taubaté**  
Autarquia Municipal de Regime Especial  
Reconhecida pelo Dec. Fed. Nº 78.624/76  
Recredenciada pela portaria CEE/IGP nº 30/03  
CNPJ 45.176.153/0001-22

**Reitoria**  
Rua 4 de Março, 432 Centro Taubaté-SP 12020-270  
tel.: (12) 225-4100 fax: (12) 232.7860 www.unitau.br reitoria@unitau.br

**PRPPG - Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação**  
**Comitê de Ética em Pesquisa**  
Rua Visconde do Rio Branco, 210 Centro Taubaté-SP 12020-040  
tel.: (12)225.4217 225-4143 fax: (12)232.2947 edvigies@unitau.br

**DECLARAÇÃO Nº 547/06**

**Protocolo CEP/UNITAU nº 340/06** (Esse número de registro deverá ser citado pelo pesquisador nas correspondências referentes a este projeto)

**Projeto de Pesquisa:** *Prevalência de microrganismos do gênero Candida na saliva de usuários de prótese parcial removível a grampo*

**Pesquisador(a) Responsável:** João Milton Rocha Gusmão

**Apresentar relatório final ao término da pesquisa:** 31/12/2006

O Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião de **15/09/2006** e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 196/96, considerou o Projeto acima **aprovado**.

Taubaté, 15 de setembro de 2006

**Prof. Robison Baroni**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté

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

João Milton Rocha Gusmão

Taubaté, Fevereiro de 2007.