

ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE

PRESENÇA DE *Candida* E DE ANTICORPOS ANTI-
Candida NA CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES COM
PERIODONTITE CRÔNICA DO ADULTO

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia,
Campus de São José dos Campos, Universidade
Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como
parte dos requisitos para concurso de LIVRE
DOCÊNCIA da Disciplina de Microbiologia e
Imunologia, do Departamento de Patologia.



São José dos Campos

1995

ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE

PRESENÇA DE *Candida* E DE ANTICORPOS ANTI-
Candida NA CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES COM
PERIODONTITE CRÔNICA DO ADULTO

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia,
Câmpus de São José dos Campos, Universidade
Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como
parte dos requisitos para concurso de LIVRE
DOCÊNCIA da Disciplina de Microbiologia e
Imunologia, do Departamento de Patologia.



São José dos Campos

1995

Indicação: Corpo Docente - FOSJC
Proc. 013/95 - CSJC
RB 10,00

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

RIBEIRO, J.F. et al. *Roteiro para redação de monografias, trabalhos de cursos, dissertações e teses*. São José dos Campos, 1994.

12.12
1998

12.12.1998

JORGE, A.O.C. *Presença de Candida e de anticorpos anti-Candida na cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica do adulto*. São José dos Campos, 1995. 210p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, na pessoa de seu Diretor Prof.Dr. Rogério Lacaz Netto, pelo incentivo e oportunidade na realização deste concurso.

Ao Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, na pessoa de seu Chefe de Departamento, Profa. Dra. Yasmin Rodarte Carvalho.

Aos Professores da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, Prof.Dr. Mário Tsunezi Shimizu, Profa.Dra. Carmelinda Schmidt Unterkircher e Profa.Dra. Vera Fantinato, pelo incentivo e inúmeras sugestões.

À Profa.Dra. Neide Querido Almeida, pelo apoio e confiança decisivos desde o início de nossa carreira.

Ao Prof.Dr. Oslei Paes de Almeida, Professor Titular de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, pela orientação objetiva e criteriosa no início de nossa formação científica.

Aos Professores da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Nelson Luis de Macedo e Fernando Renó de Lima, que nos ajudaram na seleção dos pacientes para coleta das amostras e nos diagnósticos clínicos.

Ao Prof.Dr. Ary José Dias Mendes, da Disciplina de Bioestatística da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, na análise estatística dos resultados.

À Professora Leila Novaes, Diretora Técnica de Serviço da Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos/UNESP, pela colaboração imprescindível nas referências bibliográficas e montagem deste trabalho.

À Sra. Clélia Aparecida de Paiva Martins, pelos inestimáveis serviços técnicos prestados, sem os quais não poderíamos realizar este trabalho.

Ao Enfermeiro Ivan Carlos Vanzella e a Técnica em Enfermagem Maria Salete Faria da Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos, pela coleta das amostras de sangue.

À Sra. Terezinha Sant'Ana de Oliveira Costa, Secretária da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, pela atenção e prestezo dispensados durante a realização deste trabalho.

Aos pacientes da Clínica de Periodontia e aos alunos da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, que cederam as amostras para realização deste trabalho.

Este trabalho foi realizado com auxílio pesquisa concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo 92/3392-9.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO DA LITERATURA	9
2.1 Gênero <i>Candida</i>	9
2.2 Presença de <i>Candida albicans</i> na boca	13
2.3 Candidose bucal	15
2.4 Patogenicidade do gênero <i>Candida</i>	22
2.5 Parede celular e estrutura antigênica do gênero <i>Candida</i>	29
2.5.1 Parede celular	29
2.5.2 Antígenos da parede celular	32
2.5.3 Antígenos de filtrados de culturas	33
2.5.4 Antígenos citoplasmáticos	33
2.6 Aspectos imunológicas do gênero <i>Candida</i>	35
2.6.1 Mecanismos da imunidade não-específica à <i>Candida</i>	36
2.6.2 Mecanismos da imunidade específica à <i>Candida</i>	39
2.6.2.1 Anticorpos séricos	40
2.6.2.2 Anticorpos salivares	42
2.6.2.3 Imunidade celular	45
2.7 Periodontite crônica do adulto	49
3 PROPOSIÇÃO	57
4 MATERIAL E MÉTODOS	58
4.1 Pacientes	58
4.2 Coleta das amostras	59
4.2.1 Fluido gengival	59
4.2.2 Saliva	60
4.2.3 Soro	60
4.3 Isolamento e identificação das amostras de <i>Candida</i>	61

4.3.1	Formação de tubo germinativo	61
4.3.2	Produção de pseudohifas e clamidósporos	62
4.3.3	Fermentação de açúcares	63
4.3.4	Assimilação de açúcares.....	63
4.3.5	Interpretação	64
4.4	Pesquisa de enzimas pelas amostras de <i>Candida</i> isoladas	66
4.4.1	Produção de hialuronidase	66
4.4.2	Produção de condroitin-sulfatase	67
4.4.3	Produção de proteinase	67
4.4.4	Produção de fosfolipase	69
4.4.5	Medidas das atividades enzimáticas	70
4.5	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Candida</i>	71
4.5.1	Preparo do antígeno de <i>Candida</i>	71
4.5.2	Preparo das amostras	72
4.5.3	Técnica ELISA	72
4.6	Análise estatística	73
5	RESULTADOS	74
6	DISCUSSÃO	98
7	CONCLUSÕES	119
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
	ANEXOS	183
	RESUMO	207
	ABSTRACT	209

1 INTRODUÇÃO

As leveduras do gênero *Candida* estão amplamente distribuídas na natureza, podendo algumas espécies viver como saprófitas ou parasitas no homem e em animais. Das leveduras que comumente podem ocorrer na cavidade bucal de indivíduos com saúde, a *C.albicans* é a mais encontrada, representando 60 a 70% dos isolamentos 450, 3.

As secreções que banham as superfícies mucosas da boca são ricas em anticorpos IgA e a imunização local com uma variedade de antígenos, seletivamente induz à sua síntese. Anticorpos anti-*Candida* já foram demonstrados na saliva de pacientes saudáveis e com candidose 85,188,234,474,475. Produção local de anticorpos na doença periodontal são confirmados pela presença de quantidades maiores de anticorpos específicos para microrganismos bucais no fluido gengival, em relação ao plasma 114,115,242,320,489. A classe predominante de anticorpo no fluido gengival parece ser IgG, mas IgM e IgA também podem ser encontradas 260,311,320. Entretanto são raras citações demonstrando anticorpos anti-*Candida* no sulco gengival de pacientes com doença periodontal crônica.

Espécies de *Candida* tem sido isoladas na microbiota subgengival ou nos tecidos gengivais de pacientes com abscesso periodontal 101,346,441, em periodontite avançada em pacientes com AIDS 309,323,



em pacientes com periodontite juvenil localizada ¹⁴⁸ e em pacientes com periodontite crônica tratados com antibióticos ¹⁷⁰. *Sedgley & Samaranayake* ⁴¹⁸ (1994) coletaram amostras de lavados bucais de 300 pacientes com periodontite crônica do adulto e observaram leveduras em 72 pacientes (24%) sendo a *C.albicans* o espécie mais isolada.

A *C.albicans* possui capacidade de invadir o epitélio sulcular e o tecido conjuntivo gengival ^{101,148}, inibir funções dos polimorfonucleares ¹⁷³, lisar monócitos ⁹⁹ e degradar gamaglobulina ^{166,382}. *Shimizu* ⁴³³ (1990) demonstrou a produção das enzimas hialuronidase, condroitinsulfatase, proteases e fosfolipase, em diferentes quantidades, de acordo com a amostra de *C.albicans*. Posteriormente, *Almeida* ¹³ (1991) verificou que outras espécies de *Candida* também produzem enzimas. Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar a presença de leveduras do gênero *Candida* e de anticorpos anti-*Candida* em indivíduos com periodonto saudável e pacientes com periodontite crônica do adulto. Também se investigou a produção de enzimas histolíticas pelas amostras de *Candida* isoladas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Gênero *Candida*

O gênero *Candida* compreende aproximadamente 150 espécies de leveduras não produtoras de endosporos. Devido a incapacidade do gênero em apresentar formas sexuadas, são classificados como fungos imperfeitos da classe Deuteromycetes. As espécies *C.albicans*, *C.tropicalis* e *C.glabrata* são as mais frequentemente isoladas de candidoses (mais de 80%). *C.parapsilosis*, *C.stellatoidea*, *C.guilliermondii*, *C.krusei* e *C.kelfy* são também isoladas de diferentes patologias médicas ⁴²⁷. *C.stellatoidea* é diferenciada da *C.albicans* por não assimilar a sacarose. Devido a identidade entre as bases de DNA destas duas espécies, *C.stellatoidea* tem sido considerada atualmente como uma variante sacarose-negativa de *C.albicans* ²⁹².

As espécies de *Candida* são distinguidas entre os demais Deuteromycetes pela habilidade em formar pseudohifas, sendo a *C.glabrata* a única exceção ⁴¹¹. As demais espécies do gênero podem ser identificadas através de morfologia colonial e pela capacidade de assimilação e fermentação de carboidratos ⁴²⁷.

As leveduras do gênero *Candida*, acham-se amplamente espalhadas na natureza, sendo que algumas espécies vivem como saprófitas ou parasitas no homem e em outras espécies animais. A *C.albicans*, associada obrigatoriamente a seres humanos ou outros

animais homotermos ^{55,429}, vive normalmente na orofaringe, na boca, nas dobras da pele, na secreção brônquica, na vagina, urina e fezes de humanos. Sua ocorrência na água e no solo é relativamente rara e está ligada à contaminação por fezes humanas ou de animais ²²⁷.

C.albicans é um fungo dimórfico que na forma de levedura apresenta-se como células globosas, Gram-positivos, ovaladas ou alongadas, medindo em média 3 a 7 μm de largura por 3 a 14 μm de comprimento ²⁹². Quando na forma de micélio, apresenta-se como pseudohifas ou hifas verdadeiras, que se alongam a partir das leveduras ³²⁵.

Em meio de cultivo líquido, *C.albicans* forma sedimento; em meio sólido, a colônia apresenta coloração branca ou branco-amarelada, 4 a 8 mm de diâmetro, eventualmente com filamentos nas bordas. Em microcultivo, a formação de pseudohifas é abundante, podendo-se detectar hifas verdadeiras. Em soro a 37°C, *C.albicans* produz tubo germinativo, enquanto que cultivada em ágar-fubá, apresenta estruturas esféricas características, os clamidósporos. Fermenta a glicose e maltose, não ocorrendo o mesmo com a lactose; geralmente não fermenta a sacarose e a fermentação da galactose é variável. Como fontes de carbono assimila dextrose, galactose, maltose, trealose, xilose, sacarose e manitol; eventualmente arabinose, ribose e glucitol ²⁹².

C.albicans é aeróbica, no entanto, é capaz de crescer em anaerobiose ³²⁵. A formação de micélio *in vitro* é acentuada em condições de anaerobiose ⁹⁴, e a presença de microfilamentos no citoplasma, parece ser essencial para sua filamentação ⁵⁰⁹. É

classificada em sorotipos A e B ¹⁶⁴, porém o grau de virulência das amostras de *C.albicans* para camudongos não está relacionada com os mesmos ¹⁶³. Nas candidoses e na estomatite por prótese total predomina o sorotipo A ²⁷¹.

C.glabrata, segunda espécie do gênero mais recuperada da cavidade bucal de humanos, representa 7% das espécies isoladas da boca ³²⁶. Denominada anteriormente de *Torulopsis glabrata*, esta espécie não produz pseudohifas ou hifas verdadeiras em microcultivo. Endocardite e fungemias sistêmicas por *C.glabrata* já foram relatadas por alguns autores ^{2,219,250,381}.

C.glabrata é isolada frequentemente de pacientes portadores de prótese total, inclusive naqueles com estomatite. *Vandenbussche & Swinne* ⁴⁸² (1984) isolaram *C.glabrata* em 48% dos pacientes usuários de prótese total enquanto *C.albicans* foi isolada em 84% dos mesmos. A associação entre as duas espécies foi encontrada em 41% dos pacientes.

C.tropicalis demonstra células em brotamento, esféricas, ovais ou alongadas, medindo 2,5 μm de largura por 3 a 14 μm de comprimento, podendo apresentar-se em cachos ou cadeias, quando de observações em microscopia de luz. Cresce bem a 25 e 37°C em ágar Sabouraud dextrose, em aerobiose, produzindo colônias lisas e brancas. Forma película em caldo. No microcultivo *C.tropicalis* forma pseudohifa, mas não clamidósporo ²⁹². Embora algumas amostras possam formar tubos germinativos atípicos, a maioria não os produz ^{136, 270,272}. Assimila glicose, maltose, sacarose, galactose, celobiose,

xilose e trealose e fermenta glicose, maltose, sacarose, galactose e trealose ¹³⁶.

C.tropicalis é implicada em candidoses invasivas e hospitalares ^{162,164,215,219,269,310,502}, com infecções indistinguíveis das produzidas por *C.albicans*. É encontrada no ambiente e culturas de rotina do nariz, garganta, pele, vagina e trato gastrointestinal de indivíduos saudáveis ^{2,374}. *C.tropicalis* é mais isolada e parece ser mais patogênica do que a *C.albicans* em pacientes com neutropenias graves ^{219,242}.

Em esfregaços corados pelo Gram, *C.parapsilosis* apresenta células ovóides, curtas ou alongadas, medindo 2.5 a 4 µm de largura por 2,5 a 9 µm de comprimento, podendo ocorrer pseudomicélio longo ²⁹². As colônias são normalmente rugosas sobre ágar Sabouraud e delicado crescimento ramificado é produzido em ágar-fubá. Em caldo forma sedimento. É capaz de assimilar glicose, maltose, sacarose e galactose. Fermenta glicose e eventualmente galactose ⁴¹¹.

C.parapsilosis é considerada saprófita da pele e cavidade bucal ²; entretanto apresenta potencial patogênico, podendo causar infecções em lactentes ²⁹¹, endocardites e estar presente em complicações de doenças debilitantes. Casos de fungemia por esta espécie foram associados com nutrição parenteral, uso de drenos e catéteres, antibióticos de largo espectro e diabetes ^{162, 204,218,219,220,339,348,381,426,491,494}.

C.guilliermondii apresenta células curtas, ovóides ou cilíndricas, medindo cerca de 2 a 4,5 µm de largura por 2,5 a 7 µm de comprimento. As colônias têm coloração creme, são brilhantes e lisas ou opacas e rugosas. Forma pseudomicélio. Fermenta glicose.

exibindo fraca reação para galactose e sacarose. Assimila glicose, galactose, sacarose e maltose ⁴¹¹. *C.guilliermondii* pode ser recuperada normalmente da cavidade bucal ⁴⁵⁰ e tem sido citada como agente etiológico em endocardites ², fungemias hospitalares ^{30,250} e outras doenças ^{153,283}.

C.krusei apresenta células ovóides e predominantemente cilíndricas. Pode formar pseudomicélio. O tamanho das células é variável, medindo aproximadamente 3 a 5 µm de largura por 6 a 20 µm de comprimento. Em ógar Sabouroud apresenta colônias amareladas, com aspecto semi-opaco, e superfície lisa ou rugosa. Cultivando-se em meio líquido, uma fina película que se estende contra as paredes do tubo é formada na maioria das amostras. Fermenta e assimila apenas glicose ⁴¹¹.

C.krusei é isolada da cavidade bucal de indivíduos saudáveis ^{95, 450}, tendo sido descrita em infecções oculares ⁴²¹, candidoses vaginais ¹⁸², artrites ^{67,318}, e fungemias hospitalares ^{30,152,282,408}.

C.kefyr, denominada anteriormente como *C.pseudotropicalis*, apresenta blastóporos alongados ou cilíndricos em esfregaços corados pelo Gram. No microcultivo, o pseudomicélio é abundante em algumas amostras, porém escasso em outras. É a única espécie de importância médica que fermenta e assimila a lactose ²⁹². Sua presença tem sido associada com estomatite por prótese total ^{62,332}.

2.2 Presença de *Candida* na cavidade bucal

As leveduras são os únicos fungos pertencentes à microbiota normal do homem, ocorrendo comumente na cavidade bucal de indivíduos saudáveis. *C.albicans* é a espécie prevalente, constituindo de 60 a 70% do total dos fungos isolados ⁴⁵⁰.

C.albicans é isolada da boca de 5 a 7% das crianças nas primeiras 24 horas após o nascimento, estando presente em 14,21% após 1 semana ^{232,386}. *Berdicevsky* et al. ⁴¹, (1984) relataram presença de *Candida* em 49% das crianças de 3 a 5,5 anos e em 65% nas de 6 a 12 anos.

Arendorf & Walker ²⁰ (1980b) isolaram *C.albicans* em 44,4% das culturas de material de boca de adultos com dentes, enquanto *Berdicevsky* et al. ⁴⁰, (1980), encontraram percentual de 88% de *Candida* em portadores de prótese totais sem candidose e 52% em pacientes dentados.

A *C.albicans* não está distribuída uniformemente na boca; o dorso da língua parece ser o reservatório primário do fungo, a partir do qual o restante da mucosa, superfícies dos dentes, placa bacteriana e saliva tornam-se colonizados secundariamente ¹⁷.

Ainda não está claro porque alguns pacientes são portadores de *C.albicans* e outros não, entretanto fatores nutricionais, interações com a microbiota bacteriana e presença de anticorpos específicos na saliva parecem ser relevantes ⁴⁵⁰. O estado de portador ocorre em maior número em indivíduos do tipo sanguíneo O ⁶⁴ e em não secretores de antígenos dos grupos sanguíneos na saliva ^{230,231,316}.

Em pacientes saudáveis, apesar da variabilidade, as contagens de leveduras geralmente apresentam números baixos 64.119.497.498. Para Olsen & Stenderup⁴⁵⁰ (1990), as contagens de *C.albicans* geralmente são inferiores a 400 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml).

A superfície acrílica da prótese total predispõem ao aumento no número de *C.albicans*, visto que o fungo cresce e coloniza mais intensamente a superfície da prótese que a mucosa palatina⁴⁰⁰. Outros tipos de prótese e aparelhos ortodônticos também facilitam o desenvolvimento de *C.albicans* na boca 16.62.141.196.199.297.356.

Os sorotipos A e B de *C.albicans* estão igualmente distribuídos na boca de pacientes saudáveis, porém nos pacientes imunodeprimidos, como na síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), a predominância é do sorotipo B⁴⁹. Nas estomatites por prótese total, o sorotipo A tem sido mais isolado²⁷¹.

Pacientes hospitalizados apresentam taxas mais altas de isolamento do gênero *Candida* na cavidade bucal, com valores acima de 80% para *C.albicans*^{219.325.450.496}. Em pacientes aidéticos, Franker et al.¹³³ (1990) descreveram leveduras na mucosa bucal em 78% dos casos sendo *C.albicans* o agente mais isolado. Em diabéticos, a quantidade de *C.albicans* é maior, principalmente quando associada ao uso de prótese total⁴⁶³.

Pacientes que receberam radioterapia na cabeça e pescoço também apresentam aumento na quantidade de *C.albicans*. Rossie et al.³⁸⁰ (1987) relataram aumento no número de *C.albicans* (UFC/ml de

saliva), assim como culturas positivas para a levedura em 47% dos pacientes que apresentaram culturas negativas antes da radiação.

Em condições normais, o organismo mantém as amostras de *Candida* como comensais, entretanto, alterações locais ou sistêmicas favorecem o desenvolvimento da sua ação patogênica, causando a candidose, micose superficial de maior frequência na boca ^{14,55,56,209}.

2.3 Candidose bucal

Candidose é definida como uma infecção micótica oportunista, causada por fungos do gênero *Candida*, principalmente *C.albicans* ^{55,56,134,253,390,429,450}. Os termos "candidose" e "candidíase" são sinônimos, entretanto candidose é usado preferencialmente, já que o sufixo "osis" é consistentemente utilizado para a maioria das infecções fúngicas, enquanto a terminação "fase" é mais usada nas parasitoses ³⁹⁰.

Múltiplos fatores predisponentes são citados na literatura, sendo rara a ocorrência de candidose sem a presença de um ou mais destes fatores ^{7,16,55,138,331,389}. Entre eles incluem-se fatores locais e sistêmicos, a seguir:

Fatores Locais:

- Xerostomia;
- Uso de antibióticos e corticosteróides;
- Dieta rica em carboidratos;
- Câncer bucal;
- Uso de próteses e aparelhos ortodônticos;
- Associação com outras doenças bucais como glossite rombóide mediana, leucoplasia e líquen plano;
- Hábito de fumar.

Fatores sistêmicos:

- Fisiológicos;
- Desordens endócrinas: diabetes e hipertireoidismo;
- Deficiências nutricionais;
- Comprometimento do sistema imunológico.

Tapper-Jones et al.⁴⁶² (1980) revelaram prevalência estatisticamente significativa de *C.albicans* em pacientes com síndrome de Sjögren em comparação com indivíduos saudáveis e uma relação inversa entre a quantidade de *Candida* e o fluxo salivar. Efeitos da xerostomia produzida por radiação em pacientes, induzem aumento pronunciado no número de *Candida* na boca⁵⁰.

O uso de antibióticos de amplo espectro é um fator importante no estabelecimento de candidoses bucais, pela supressão da população bacteriana³³¹. Em candidose experimental de palato em macacos, o uso de tetraciclina por períodos prolongados, resultou em proliferação contínua de *C.albicans* e inflamação mais intensa do que àquela causada apenas pela levedura⁵¹.

Dieta rica em carboidratos pode predispor à candidose bucal. Esta hipótese é suportada por estudos *in vitro*, que demonstraram crescimento elevado de *Candida* na saliva com glicose, mesmo na presença de bactérias²¹⁶. Espécies de *Candida* produzem ácido a partir da saliva suplementada com glicose, o que possivelmente deve contribuir para a patogênese das candidoses bucais³⁹⁸. *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.glabrata* e *C.krusei* apresentam acentuado crescimento em saliva humana suplementada com glicose, produzindo redução do pH de 7,5 para 3.3 em 72 horas⁴⁰⁶.

Candida é frequentemente isolada de pacientes com câncer, existindo consideráveis evidências sugerindo que espécies de *Candida* apresentam importante papel na carcinogênese bucal¹²⁸. Kiehn et al.²⁰⁷ (1980) isolaram *C.albicans* (68,5%), *C.tropicalis* (12,9%), *C.parapsilosis* (3,7%), *C.krusei* (1,5%) e *C.guilliermondii* (0,4%), durante período de 15 meses em pacientes com câncer. Paula et al.³⁴² (1990) observaram leveduras em 50 pacientes com câncer bucal, antes e durante tratamento com radiação. *Calbicans* foi a espécie mais isolada antes da radioterapia (30%), seguida por *C.tropicalis* (12%), *C.glabrata* e *C.Krusei* (4%), *C.parapsilosis* (2%) e *Candida* sp (2%). Durante a radioterapia, as leveduras mais isoladas foram *C.albicans* (36%), *C.tropicalis* (16%), *C.krusei* (4%), *C.parapsilosis* e *C.glabrata* (2%).

γ O uso de próteses e aparelhos ortodônticos favorece a permanência de *Candida* na boca 16,17,18,19,62,196,199,297,356,400,497. A estomatite por prótese afeta cerca de 65% de seus usuários (Iacopino & Wathen, 1992), sendo o trauma e a infecção por *Candida* os principais fatores implicados na doença 59,98,106,313.

Outras lesões como queilite angular, glossite rombóide mediana, leucoplasia e líquen plano, demonstram freqüente isolamento do gênero *Candida* 18,98,176,253,258,334,470,496. O tabaco associado à prótese também parece influenciar colonização por espécies de *Candida* 17,19,21,22.

Knight & Fletner²¹⁶ (1971) verificaram que pacientes diabéticos possuem concentrações elevadas de glicose na saliva, o que sugere forte associação com aumento de crescimento de *Candida*. Fisher

et al.¹²⁹ (1987) verificaram a presença de *Candida* em 210 (51%) dos 412 pacientes diabéticos examinados. Darwazeh et al.⁹⁶ demonstraram maior quantidade de *Candida* na cavidade bucal de pacientes diabéticos em relação aos controles, porém sem diferença estatística. Quirino et al.³⁵⁹ (1994) verificaram a presença de fungos na cavidade bucal de diabéticos controlados e não-controlados, encontrando resultados semelhantes nos grupos estudados. *C.albicans* foi encontrada em 57,1% dos diabéticos controlados e em 62,5% dos não controlados.

Fatores nutricionais incluindo deficiência de ferro e vitaminas têm sido implicados na patogênese de infecções bucais por *Candida* 130,190,391. Hipovitaminose A foi detectada por Montes et al.²⁹⁹ (1973) em 7 de 12 pacientes com candidose mucocutânea e Lundström et al.²⁵² (1984) verificaram aumento do número de *Candida* em pacientes com decréscimo nos níveis de ácido fólico e vitamina B₁₂ no soro.

As infecções por fungos têm se destacado nos últimos anos em pacientes imunocomprometidos 168,325,389. *C.tropicalis* é considerada como a segunda espécie de *Candida* que mais produz doença nesses pacientes 136,310,325,488,502.

Candidoses bucais são manifestações freqüentes associadas à AIDS 56,117,251,298,323,360,395,404,415,456,508, ocorrendo em 1/3 à metade dos indivíduos adultos soropositivos e em mais que 90% dos pacientes com AIDS, podendo aumentar sua freqüência com o avanço progressivo da infecção 133,276,392,472.

As candidoses bucais são muito comuns: cerca de 5% das crianças apresentam esta micose na boca nas primeiras semanas de vida ⁶⁵. Por outro lado infecções profundas por *C.albicans* são raras e restritas a pacientes com doenças graves ³²⁵. A candidose bucal pode se manifestar clinicamente em diversas formas, e *Holmstrup & Axéll* ¹⁷⁶ (1990) propuseram a seguinte classificação:

Aguda:

- Pseudomembranosa
- Eritematosa

Crônica:

- Pseudomembranosa
- Eritematosa
- Tipo "placa"
- Nodular

Lesões associadas à *Candida*

- Queilite angular
- Estomatite por prótese
- Glossite rombóide mediana

A forma pseudomembranosa aguda, aparece com frequência em recém-nascidos e adultos debilitados. As lesões geralmente assumem aspecto de placas brancas e cremosas, que podem se estender por toda a mucosa, com localização preferencial na língua, palato e bochechas, atingindo eventualmente gengiva e assoalho da boca ⁴²². Histologicamente, a forma pseudomembranosa constitui-se de tecido necrótico, restos alimentares, leucócitos e bactérias emaranhados e ancorados ao epitélio bucal por leveduras e pseudohifas de *Candida*, que invadem a superfície queratinizada do epitélio. Usualmente o *Candida* não atinge as camadas profundas do epitélio, que entretando

mostram acantose, edema e microabscessos. O conjuntivo apresenta reação inflamatória, com presença de polimorfonucleares, linfócitos e macrófagos ⁵⁵. Alterações semelhantes são observadas em animais com candidose bucal induzidas experimentalmente ^{54,57,195,200}.

A candidose eritematosa é particularmente visível no dorso da língua e está geralmente relacionada ao uso de antibióticos, caracterizando-se por áreas avermelhadas, com bordos mal definidos ¹⁷⁶. É dolorosa, podendo estender-se às comissuras labiais e à faringe ²³⁵. No exame histopatológico é semelhante à forma pseudomembranosa, entretanto com menor quantidade de hifas e infiltrado inflamatório mais intenso no conjuntivo ⁵⁶.

Formas crônicas de candidoses (pseudomembranosa e eritematosa) ocorrem frequentemente em pacientes imunodeprimidos ou que utilizam corticosteróides inaláveis. Candidose tipo "placa" e nodular apresentam-se apenas na forma crônica. As lesões em "placa" são caracterizadas pela presença de placas brancas, geralmente firmes e persistentes, envolvidas por eritema, localizando-se preferencialmente no lábio, língua e bochechas. A lesão nodular caracteriza-se pela formação de pápulas ou nódulos ¹⁷⁶. Histologicamente, as formas crônicas caracterizam-se pela presença de pseudohifas na superfície do epitélio ⁵⁶.

A queilite angular, estomatite por prótese e glossite rombóide mediana são lesões onde a *C.albicans*, e outras espécies de *Candida*, são frequentemente isoladas ^{15,17,18,19,51,52,53,59,60,61,98,177,254,258,328,332,334,470,493,496}. Estas três lesões estão geralmente relacionadas à outras entidades clínicas, possuem etiologia discutível, podendo ser

decorrentes da associação entre bactérias e fungos 55,63,72,159,198,221, 328,431.

A estomatite por prótese, é relatada em 11 a 67% dos usuários de prótese total, sendo mais comum na mucosa do palato 18. Histologicamente a lesão caracteriza-se por reação inflamatória severa, atrofia e hiperplasia do epitélio 55, frequentemente não demonstrando invasão dos tecidos pela *Candida* 59.

A hipótese de que a *C. albicans* é o fator etiológico da estomatite por prótese total é suportada pela produção de lesões no palato de macacos^{52,54,336} e de ratos, após adaptação de placas acrílicas e inoculações da levedura 335,423,424,425. Entretanto, como não foram utilizados animais gnotobióticos nestes modelos, não se pode descartar o envolvimento da microbiota bacteriana.

Outro quadro clínico importante é a candidose mucocutânea crônica, termo dado a um grupo de desordens heterogêneas raras, que são caracterizadas por infecção superficial por *Candida* na boca, pele e unhas. Apresentam caráter crônico e recidivante. De difícil tratamento estão associadas a deficiências imunológicas, endócrinas e metabólicas 24, 201,213,238,253.

A candidose mucocutânea crônica inicia-se geralmente com lesões pseudomembranosas, podendo entretanto apresentar características hiperplásicas, com a língua podendo tornar-se alargada, fissurada, e com nódulos hiperplásicos nas bordas laterais. A candidose bucal é notada em mais de 90% dos casos, com características histopatológicas semelhantes às candidoses bucais

crônicas ⁷³. Ocasionalmente, a candidose mucocutânea crônica pode estender-se para faringe, laringe e esôfago, entretanto o comprometimento visceral é raro ²⁰¹.

2.4 Patogenicidade do gênero *Candida*

Os mecanismos pelos quais *C.albicans* causa doença são pouco conhecidos, entretanto vários fatores tem sido sugeridos: capacidade de aderência à mucosa e hidrofobicidade, habilidade em formar pseudohifas, presença de substâncias semelhantes à endotoxinas, secreção de enzimas histolíticas e supressão da imunidade específica ^{88,107,138,325}.

A *C.albicans* possui capacidade de aderência às células epiteliais bucais e vaginais *in vitro* ^{97,108,140,209,212,397,398,399}, a qual é mais intensa na *C.albicans*, *C.guilliermondii* e *C.stellatoidea*, espécies consideradas mais patogênicas para camundongos, do que *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.kefyr* e *C.tropicalis* ²⁶¹. Por outro lado, *Kearns et al.* ²⁰³ (1983) não observaram diferenças de adesão em duas amostras patogênicas e duas não patogênicas de *C.albicans* para camundongos.

A *C.albicans* adere-se às células esfoliativas bucais e vaginais em maior número do que *C.tropicalis*, que normalmente é menos patogênica ¹⁰⁷. Em coágulo de fibrina *C.albicans* apresenta acentuada adesão, enquanto que *C.krusei*, *C.guilliermondii* e *C.glabrata* aderem-se menos ⁴⁰¹. A *C.albicans* possui também capacidade de aderência às superfícies acrílicas *in vitro* ^{48,278,279,280,396,400,420}.

A adesão de leveduras aos tecidos bucais ocorre, provavelmente, pela interação entre adesinas do microrganismo e receptores das células epiteliais da boca. Na *C.albicans*, monoproteínas, glucano, quitina, proteínas da parede celular, glicoproteínas e lipídeos são possíveis adesinas ³³³. Os receptores teciduais ainda não foram bem caracterizados, entretanto moléculas como fibronectina, fucose, lipídeos, manose, N-acetil-glicosamina, mucinas, lamininas e colágenos são considerados por alguns autores ^{107,108,142,205}.

Existe correlação entre germinação e aumento de aderência de *C.albicans* nas células epiteliais da boca, visto que a inibição parcial da germinação com cisteína, resulta em diminuição da aderência ²¹⁰. A relação entre a produção de hifas e patogenicidade, apesar de baseada em dados experimentais, parece aumentar a capacidade invasiva sobre as células do hospedeiro e permitir maior resistência à fagocitose nas formas filamentosas ³²⁵. Por outro lado, tanto na forma de levedura como hifas, *Candida* causa infecção, e apesar da forma micelial ser comumente encontrada nos tecidos com lesão, existem poucas evidências de que esta forma é significativamente mais patogênica que as leveduras ²⁷.

A produção do tubo germinativo pela *C.albicans* propicia retenção adicional desta espécie às células epiteliais bucais, ao acrílico ^{210,444,469} e à pele ³⁶⁷, enquanto que sua inibição pelo uso de drogas, diminui a aderência ¹⁴⁰.

Garadiner et al. ¹³⁵ (1982) relataram a presença de fimbrias na camada mais externa da parede celular de *C.albicans*, o que também poderia interferir nos mecanismos de adesão.

Toxinas de *Candida* também são consideradas importantes na patogenicidade ^{90,185}. São letais para camundongos quando injetadas endovenosamente ³⁰⁵ e produzem eritema em pele de coelhos e cobaias ⁵⁰³. Extrato solúvel liofilizado de *C.albicans* livre de células, é capaz de provocar dermatite experimental em animais, semelhante às doenças dermatológicas no homem ²⁶². Sobrenadante de culturas de *C.albicans* livre de células, aumenta a atividade mitótica do epitélio bucal de ratos ³⁶⁸.

A toxina melhor caracterizada até o momento é a canditoxina descrita por *Iwata* ¹⁸⁷ em 1975. Tem natureza protéica, alto peso molecular e localiza-se no citoplasma da célula. A ação principal da canditoxina parece ser a de liberar histamina dos mastócitos.

As espécies de *Candida* produzem outras substâncias protéicas, que podem agir como fatores de virulência, denominadas fatores *killer*. São secretadas *in vitro* por várias amostras de *Candida* e possuem efeito antibiótico, semelhante às bacteriocinas, para outros fungos e várias bactérias ³⁴⁹.

As enzimas representam outro mecanismo de patogenicidade de *C.albicans*, possivelmente por facilitar sua penetração nos tecidos. Vários autores relataram a produção de fosfolipase ^{36,37,354, 355,357,402}, proteinase ^{45,46,58,71,139,315,367,383,384}, hialuronidase e condroitin sulfatase ⁴³² pela *C.albicans*. *Shimizu* ⁴³² (1990) e *Almeida* ¹³ (1991), sugeriram a relação destas enzimas com a patogenicidade de *C.albicans*.

Fosfolipase é uma enzima que degrada fosfolipídeos, comuns em todas as formas de vida e frequentemente encontradas em associações

com membranas celulares ³⁵⁴. Em 1975, *Pugh & Cowson* ³⁵⁷ demonstraram a presença de lisofosfolipase e fosfolipase A₁ em blastóporos, hifas, membranas e parede celular de *C.albicans*, através de métodos citoquímicos.

Amostras de *C.albicans* demonstram maior atividade fosfolipásica ao mesmo tempo em que aderem-se em maior número às células bucais e apresentam maior patogenicidade para camundongos ³⁷.

Shimizu ⁴³³ (1990) relatou produção de fosfolipase em 83,4% das amostras de *C.albicans*. Por outro lado, *Almeida* ¹³ (1991) demonstrou produção desta enzima em 20% das amostras de *C.guilliermondii* estudadas, enquanto as espécies *C.krusei*, *C.parapsilosis* e *C.tropicalis* não as produziram.

Outra enzima considerada como importante fator de virulência é a proteinase, detectada por *Remold* ³⁷⁰ et al. (1968) em amostras de *C.albicans*. Estudos realizados por vários autores tem demonstrado que a maioria das amostras de *C.albicans* são produtoras de proteinase ^{71,74,139,383,384}.

Ghannoum & Elteen ¹³⁹ (1986) correlacionaram a produção de proteinase com aderência e patogenicidade de amostras de *C.albicans* às células epiteliais bucais de camundongos. Utilizaram 53 amostras e verificaram que todas produziam a enzima e apresentavam capacidade de aderência às células epiteliais bucais. As amostras com maior capacidade de adesão, produziam maior quantidade de proteinase e eram mais patogênicas para camundongos quando inoculadas endovenosamente.

Cassone et al.⁷¹ (1987) isolaram amostras de *C.albicans* de pacientes com candidose vulvovaginal e de pacientes sadias. Os autores verificaram que praticamente todas as amostras de *C.albicans* eram produtoras de proteinase, mas as isoladas de pacientes com vaginite produziam mais a enzima do que as isoladas de portadoras sadias.

O papel da proteinase na patogênese das infecções por *Candida* foi investigado por Shimizu et al.⁴³⁰ (1987) inoculando amostras de *C.albicans*, com diferentes atividades de proteinase, em membrana corio-alantóide de ovos embrionados. Seis amostras eram produtoras de proteinase e 2 não produtoras. As produtoras puderam invadir os tecidos nos quais a proteinase secretada foi detectada, por métodos imunocitoquímicos, na periferia das células invasoras. As amostras não produtoras permaneceram sobre a superfície da membrana corio-alantóide. A taxa de mortalidade dos embriões entretanto, não apresentou correlação com o grau de produção de proteinase destas amostras.

Ray & Paine³⁶⁷ (1988) estudaram a participação da proteinase na adesão de *C.albicans* em pele de camundongos, utilizando microscopia eletrônica. Os autores verificaram que a adesão das leveduras à epiderme era o início da colonização e que as amostras patogênicas aderiam mais rapidamente que as não patogênicas. Após adesão, as leveduras transformam-se em hifas, invadem o estrato córneo, formam cavitações na superfície e invadem os tecidos. Utilizando peptastina, um inibidor de proteinase, os autores não observaram diferenças na aderência, mas ocorreu inibição da formação

de cavitação ao redor da levedura aderida, sugerindo que a proteinase pode facilitar a adesão/invasão de *Candida* na pele.

Borg & Ruchel ⁴⁶ (1988) infectaram células epiteliais bucais cultivadas *in vitro* com amostras de *C.albicans* proteolíticas. Os autores observaram que a maioria das leveduras que penetravam no epitélio apresentavam proteinase na sua superfície.

Proteinase com capacidade de degradar colágeno foi detectada por Kaminishi et al. ²⁰² (1988) quando *C.albicans* foi cultivada em meio contendo colágeno como fonte de nitrogênio. A atividade colagenolítica da proteinase foi demonstrada pela liberação de hidroxiprolina do colágeno e pelas alterações morfológicas do mesmo. Os autores acreditam que a proteinase de *C.albicans* possa auxiliá-la a invadir e destruir tecidos susceptíveis, pela degradação do colágeno.

Ray & Paine ³⁶⁶ (1990) demonstraram a atividade de proteases isoladas de culturas de *C.albicans* em degradar hemoglobina, albumina, caseína, colágeno e queratina. Os autores encontraram correlação entre a produção de protease e patogenicidade de seis espécies de *Candida* (*C.albicans*, *C.stellatoidea*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii* e *C.krusei*) em candidose cutânea experimental em camundongos.

Shimizu ⁴³³ (1990) relatou produção de proteinase em 87% das 54 amostras de *C.albicans*, observando que as amostras, que não produziam esta enzima eram menos virulentas. O autor verificou que amostras que não produziam proteinase e fosfolipase não eram patogênicas para camundongos.

Almeida ¹³ (1991) verificou produção de proteinase em 7 das 8 amostras estudadas de *C.albicans* e em todas as 10 amostras de *C.tropicalis*. Das 10 amostras estudadas de *C.parapsilosis*, *C.krusei* e *C.guilliermondii* o autor encontrou proteinase em 7, 6 e 9 amostras respectivamente. Borg-Von Zepelin & Grønness ⁴⁷ (1993) também relataram produção de proteinase pela *C.tropicalis*.

A proteinase de *C.albicans* é capaz de degradar IgA secretória e sérica presente na saliva. Os possíveis efeitos protetores destes anticorpos ficariam diminuídos na presença de amostra do microrganismo capaz de produzir proteinase ³⁶⁹.

A primeira tentativa de demonstrar a presença de hialuronidase e condroitin sulfatase em leveduras do gênero *Candida*, foi feita por Chattaway et al. ⁷⁶ (1971), que entretanto não encontraram essas enzimas. Por outro lado, Shimizu ⁴³² (1988), detectou a produção destas enzimas em todas as 25 amostras de *C.albicans* estudadas. O mesmo autor ⁴³³ (1990) comprovou presença destas duas enzimas em 98,15% das amostras de *C.albicans* estudadas.

Almeida ¹³ (1991) observou produção de hialuronidase em 50% das amostras de *C.tropicalis* e *C.guilliermondii*, em 44,4% de *C.parapsilosis* e em 16,6% de *C.krusei*. Para a enzima condroitin sulfatase, o autor relata 50, 50, 71 e 100% para *C.tropicalis*, *C.guilliermondii*, *C.parapsilosis* e *C.krusei* respectivamente.

Shimizu ⁴³² (1988) demonstrou a produção de lecitinase, enzima capaz de hidrolisar a lecitina das membranas celulares e causar lise de células teciduais, eritrócitos e leucócitos, por amostras de *C.parapsilosis*. O autor relatou ainda a produção de gelatinase por *C.parapsilosis* e

C.krusei, enzima que revela a atividade proteolítica dos microrganismos bucais. *C.albicans* entretanto, não produziu lecitinase e gelatinase.

Há evidências de que alguns biotipos de *C.albicans* produzem nitrosamina endógena, substância comprovadamente cancerígena para células dos tecidos bucais ²²⁴.

Embora os mecanismos patogênicos não estejam determinados, os dados da literatura indicam que são variados, dependendo da espécie e da amostra do microrganismo e do modelo experimental utilizados ^{4,8,9,174,284}.

2.5 Parede celular e estrutura antigênica do gênero *Candida*

2.5.1 Parede celular

Estudos sobre composição, arquitetura e organização da parede celular de *Candida* tem recebido considerável atenção por diversos autores, visto seu envolvimento nos mecanismos de adesão e colonização das leveduras, pela importância no conhecimento dos componentes antigênicos da parede celular e pela produção de substâncias como hidrolases e toxinas ^{107,205,427,428}.

A parede celular de *C.albicans* é uma estrutura complexa de aproximadamente 100 a 300 nm de espessura, constituída de pelo menos 5 a 8 camadas distintas ^{69,70,102,124,180,205,352,353,428}. O principal componente é carboidrato (80-90% peso seco), apresentando também proteínas (3 a 6%) e lipídeos (2%) ⁴²⁷.

Análises bioquímicas da parede celular de *C.albicans* tem demonstrado que seu principal constituinte é a manana, representando

35 a 40% do peso seco total da parede. As mananas são polissacarídeos altamente ramificados, constituídos por um arcabouço de resíduos de manose unidos principalmente por ligações α -1,6, apresentando ligações cruzadas α - 1,2 e raramente α - 1,3 ^{451,454}. Altas proporções de moléculas de fosfato ligadas por pontes fosfodiéster são observadas ¹¹⁶.

Existem diferenças entre a estrutura das mananas dos sorotipos A e B de *C.albicans*. As cadeias são maiores no sorotipo A e possuem maior quantidade de ligações α - 1,2 entre os carbonos das manoses ¹⁶³.

Outro polímero fundamental na estrutura fibrilar da parede celular de *Candida* é o glucano ^{43,149,150,453}. Caracteriza-se por dois tipos de polissacarídeos altamente ramificados constituídos por resíduos de glicose unidos através de ligações β -1,3 e β -1,6 ^{149,150}. O β - glucano é o elemento estrutural primário da parede celular da *C.albicans* ⁴²⁷, sendo responsável pela integridade da mesma ^{149,150}.

Glicoproteínas, manoproteínas e glicomanoproteínas complexas estão presentes na parede celular de *C.albicans*, associadas entre si ou com as mananas e glucanos, podendo atuar como ligações entre as cadeias ²¹⁷. Resíduos de N-acetilglicosamina e quitina também estão presentes, podendo estar associados às mananas e glucanos, fornecendo a estrutura secundária à parede celular das leveduras ^{81,325,353,407,453}. Todas estas moléculas são antigênicas ^{351,353,407,442} e algumas, por exemplo, as manoproteínas ^{277,409} e a quitina ⁴¹⁹ podem atuar como adesinas.

Análises na composição química da parede celular de *Candida* na forma de micélio e leveduras tem demonstrado principalmente diferenças quantitativas e não qualitativas ^{116,205}. Por outro lado, diferenças qualitativas são citadas em relação à presença de enzimas hidrolíticas e glicolíticas entre as formas de blastóporos e micélio ⁴¹⁷.

Estudos em microscopia eletrônica de transmissão tem demonstrado que cada camada distinta da parede celular da *C.albicans* apresenta dominância de determinado carboidrato. Dependendo das condições ambientais de cultivo, idade da célula, tipo morfológico e técnicas citoquímicas usadas para o estudo das estruturas, ocorrem variações na arquitetura, composição e presença ou ausência de algumas camadas ^{205,277,427}.

A camada mais externa da parede celular de *Candida*, é constituída principalmente por manoproteína, a qual encontra-se também distribuída nas demais camadas ^{107,205,427,428}. Em adição à camada mais externa, a levedura pode apresentar camada fibrilar, a qual é mais evidente durante a formação de tubo germinativo ¹⁸¹ e que em determinadas situações encontra-se revestida e envolvida por camada flocular. A presença deste revestimento flocular parece ser importante na virulência do microrganismo, pois afeta aderência e fagocitose ¹⁰⁷. Demonstrou-se através de estudos citoquímicos e de aglutinação usando concanavalina-A, que o principal constituinte deste revestimento flocular é também manoproteína ⁴⁶⁹.

2.5.2 Antígenos da parede celular

Os principais determinantes antigênicos encontrados na parede celular de *Candida* são os polissacarídeos. Mananas, glicanos, manoproteínas, glicoproteínas e glicomanoproteínas quando extraídos da parede, são capazes de reagir com anticorpos formados contra células inteiras de *Candida* ¹⁸⁸.

O principal constituinte antigênico da parede celular da *C.albicans* é a manoproteína ^{242,427}. As diferenças existentes nas cadeias laterais das manoproteínas, permitem diferenciar a *C.albicans* em dois sorotipos: A e B ^{163,427}. O sorotipo A, antigenicamente mais completo, possui antígenos comuns ao sorotipo B. A atividade aglutinante do anti-soro para o sorotipo B é removida após a absorção com células do sorotipo A. Por outro lado, o anti-soro obtido com células do sorotipo A, quando absorvido com células do sorotipo B, ainda retém atividade aglutinante para A ¹⁶⁴.

A manana da parede celular de *C.albicans* tem capacidade mitogênica, podendo ativar linfócitos B. Assim a produção de anticorpos anti-*Candida* ocorre independentemente, não necessitando de linfócitos T ²⁶⁸. Outro importante fator observado na superfície celular de *C.albicans* é a presença de receptor para o fragmento C3b inativado (iC3b), originário da proteína C3 do complemento. Ligação não covalente de iC3b à parede celular de fagócitos pode interferir na patogenicidade de *C.albicans*, e reduzir a fagocitose das leveduras ¹⁴⁴.

2.5.3 Antígenos de filtrados de culturas

Tran Van Ky et al. ⁴⁶⁸ (1963) detectaram 7 antígenos diferentes em sobrenadantes de cultura de *C.albicans* através de imunodifusão. Segundo *Jeganathan & Chan* ¹⁸⁸ (1992), estes antígenos são provavelmente derivados da parede celular da *C.albicans*.

2.5.4 Antígenos citoplasmáticos

A presença de anticorpos anti-*Candida* dirigidos para antígenos citoplasmáticos parece ser mais indicativo de infecção invasiva pelas leveduras do que anticorpos anti-manana, desde que os antígenos citoplasmáticos entrem em contato com sistema imune do hospedeiro somente durante a invasão dos tecidos ²⁴².

Quando leveduras são rompidas mecanicamente e os resíduos insolúveis, como a parede celular e mitocôndrias são removidos por centrifugação, o sobrenadante é chamado antígeno citoplasmático. Este extrato frequentemente contém componentes que são indistinguíveis antigenicamente das glicoproteínas presentes nos antígenos obtidos de filtrados de cultura ou de extratos de parede celular. Alguns destes componentes presentes nos extratos citoplasmáticos são provavelmente derivados da parede celular, como resultados das fortes forças usadas para rompimento da mesma ¹⁸⁸.

Os extratos citoplasmáticos contêm grande número de componentes reativos imunologicamente. Já foram isolados mais de 78 proteínas antigênicas de material citoplasmático ^{29,104}.

Greenfield & Jones ¹⁵⁴ (1981) purificaram e caracterizaram o principal antígeno citoplasmático de *C.albicans*. Segundo os autores,

este antígeno é constituído de cadeia polipeptídica única, contendo 435 aminoácidos, com peso molecular de 54 kDa. *Strockbine et al.* ¹⁵² (1984) encontraram níveis mais elevados de anticorpos para a fração de 54 kDa em pacientes com candidose disseminada, do que em pacientes com formas não invasivas e/ou com outras infecções fúngicas.

Análises da especificidade de anticorpos séricos para antígenos citoplasmáticos de *C.albicans*, através de "imunoblot", demonstraram significativa quantidade de anticorpos que reagiram com antígeno de 65 kDa no soro de pacientes com candidose bucal e vulvovaginal, em relação a pacientes com mucosas clinicamente saudáveis. Além disso, soro de pacientes com candidose superficial reagiram mais que soros controles com antígenos citoplasmáticos de 65, 38, 32 e 29 kDa ⁴⁹⁵.

Ishiguro et al. ¹⁸⁶ (1992) relatam que os principais antígenos de *C.albicans* que reagem com IgG e IgA em soros de pacientes com candidose vaginal e controles foram componentes de 67, 62, 29 e 25 Kda. Para a IgM, os autores relatam reatividade principalmente com os componentes de 67, 62 e 25 Kda, e, não observaram reatividade para IgE. Por outro lado, os autores relatam presença maior de IgG anti-proteinase extracelular produzida por *C.albicans* no soro dos pacientes com candidose vaginal em relação aos controles.

Sundstron ⁴⁵⁵ (1994) demonstraram resposta imune específica a proteína enolase presente em extratos de *C.albicans*. Os autores observaram que enolases presentes em extratos brutos de *C.albicans* induzem resposta imune humoral e celular.

2.6 Aspectos imunológicos do gênero *Candida*

Considerando-se que leveduras do gênero *Candida* estão presentes como comensais na cavidade bucal em aproximadamente 40% dos indivíduos saudáveis ^{20,450}, pode-se inferir que em pacientes sadios imunocompetentes os mecanismos locais de defesa do hospedeiro são suficientes para prevenir infecções por *Candida* ⁷⁵. Por outro lado, quando as defesas locais ou sistêmicas estão diminuídas, *Candida* tem a capacidade de invadir os tecidos e causar doença, sendo portanto sua virulência determinada mais pelo hospedeiro do que pelo fungo ³²⁴.

Infecção por *C.albicans* caracteriza-se no principal achado em pacientes com imunodeficiência combinada severa, não sendo entretanto de importância em pacientes que apresentam deficiências apenas de linfócitos B ⁷⁵. Pacientes com AIDS apresentam acentuada ocorrência de candidose ^{117,133,251,298,319,323,360,415,456,508}.

Assim, teoricamente, em indivíduos imunocompetentes e na ausência de fatores predisponentes, pode-se esperar que a presença de imunoglobulina A secretória (IgA-S) e da imunidade celular, sejam suficientes para impedir ocorrência de candidose ⁷⁵. Pacientes com deficiências de IgA-S apresentam prevalência aumentada de candidose, assim como pacientes com candidose mucocutânea crônica revelam quantidade reduzida de anticorpos IgA-S na saliva ²³⁷.

2.6.1 Mecanismos de imunidade não-específica à *Candida*

A saliva apresenta importantes mecanismos inespecíficos de defesa às mucosas da boca, através de sua capacidade tampão, do fluxo salivar e da presença de fatores antimicrobianos 75,171,264,265. Pacientes com xerostomia devido a síndrome de Sjögren, terapia citotóxica e irradiação de glândulas salivares apresentam maior susceptibilidade à candidose 28,75,118,257,259,393,405,462.

Em animais, os efeitos da xerostomia na presença e patogenicidade de *C.albicans* também tem sido estudados. Jones & Adans¹⁹³ (1970) não observaram alterações na freqüência de infecção por *C.albicans* em ratos com decréscimo do fluxo salivar. Por outro lado, Olsen & Haanaes³³⁶ (1977) verificaram que macacos com diminuição do fluxo salivar apresentaram candidose mais intensa e de regressão mais lenta em relação aos animais normais. Meitner et al.²⁹⁰ (1990) obtiveram maior quantidade de *C.albicans* na boca e esôfago de ratos xerostômicos. Jorge et al.^{197,200} (1993) recuperaram maior número de *Calbicans* da boca de ratos sialoadenectomizados e relataram maior incidência de candidose nestes animais. Totti⁴⁶⁷ (1994) também relata maior permanência da *C.albicans* na boca de ratos xerostômicos. Entretanto, para *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.guilliermondii* e *C.krusei* a sialoadenectomia não interferiu, segundo o autor, na recuperação destas espécies da boca de ratos.

Por outro lado, quando voluntários saudáveis foram inoculados oralmente com suspensão contendo *C.albicans*, a levedura não conseguiu se estabelecer, sendo rapidamente eliminada⁴⁹².

Outro mecanismo inespecífico de defesa é a presença da microbiota bucal estabelecida nas superfícies bucais ^{26,406}. As bactérias residentes inibem a colonização de espécies de *Candida*, enquanto sua supressão pelo uso prolongado de antibióticos pode aumentar seu número na boca e a susceptibilidade às candidoses, o que tem sido demonstrado em humanos e animais experimentais ^{8,9,10,11,174,331,371,385}. Com o uso de antibióticos, os receptores encontrados nas células tornam-se livres de bactérias, e assim, podem ser ocupados pelas adesinas de *Candida*. Experimentos com animais assépticos tem demonstrado que *C.albicans* coloniza prontamente e com maior intensidade esses animais em relação aos convencionais ^{34,35}.

Segundo MacFarlane ²⁵⁶ (1990), a microbiota comensal pode regular o número de leveduras através dos seguintes mecanismos: a) inibição da aderência de leveduras às superfícies bucais; b) competição entre bactérias e leveduras pelos nutrientes; e, c) produção de fatores anti-fúngicos pelos membros da microbiota.

Importante mecanismo de controle e eliminação de *C.albicans* do organismo é representado pela fagocitose. A habilidade intrínseca anti-*Candida* de granulócitos e macrófagos é entretanto limitada e a expressão total de sua função efetora é dependente do estímulo dado pela síntese de citocinas ou indução pelas células T ²⁷.

Challacombe ⁷⁵ (1990) salienta que neutrófilos e macrófagos podem fagocitar e destruir *Candida* mesmo na ausência de anticorpos opsonizantes, entretanto a atividade destes fagócitos é grandemente aumentada na presença dos mesmos. Alguns autores relatam entretanto, que os neutrófilos fazem a fagocitose porém nem sempre

são capazes de destruir *Candida* intracelularmente, o que tem sido demonstrado *in vitro* em estudos com neutrófilos humanos e de animais 27,183,236,239,240,249,484.

Segundo Leijh et al. ²⁴⁰ (1977) a habilidade dos fagócitos em destruir *Candida* intracelularmente apresenta variações de 18,5 a 58% das leveduras ingeridas. O sistema peróxido de hidrogênio-mieloperoxidase parece ser o mais ativo na destruição intracelular de *Candida*. Os neutrófilos que não destroem as leveduras possivelmente apresentam deficiências neste sistema, e as leveduras germinam no interior dos mesmos ²⁷.

Evidências de que neutrófilos são importantes para a defesa nas candidoses, ocorrem nas disfunções em número ou função destas células. Pesquisas em humanos e camundongos com síndrome de Chediak-Higashi tem demonstrado maior susceptibilidade à candidose nestas situações ⁷⁵. Djeu & Blanchard ¹⁰³ (1987) relataram produção de fator ativador de neutrófilos por linfócitos ativados quando estimulados por *C.albicans*.

Baghian & Lee ³² (1988) demonstraram que macrófagos de camundongos ativados por vacina BCG são capazes de controlar infecções por *Candida* nestes animais, quando da ausência de neutrófilos. A habilidade dos macrófagos em destruir tanto leveduras como hifas de *C.albicans*, sugerem que estas células são importantes elementos na defesa do hospedeiro às candidoses ¹⁶⁵. Eversole et al. ¹²³ (1994) não observaram diferenças na atividade de macrófagos humanos cultivados *in vitro* e inoculados com HIV na fagocitose de *C.pseudotropicalis* em relação a macrófagos não infectados.

Importante salientar, entre mecanismos inespecíficos de defesa, a possível ação de células NK (natural killer). Vecchiarelli et al.⁴⁸³ (1985) demonstraram que células NK de camundongos inibiram algumas espécies de leveduras do gênero *Candida*. Wodjani & Ghoneum⁵⁰⁵ (1987) também demonstraram aumento de atividade de células NK de camundongos em presença de *C.albicans*.

Heidenreich & Dierich¹⁶⁷ (1985) demonstraram que *C.albicans* e *C.stellatoidea*, mas não outras espécies menos patogênicas, podem ligar iC3b e C3d à sua superfície. Estes dados sugerem a participação do complemento como fator inespecífico de defesa nas candidoses. Por outro lado Jones¹⁹⁴ (1989) afirma existir forte evidência de que mananas da parede celular de *Candida* possam ativar complemento pela via alternativa.

2.6.2 Mecanismos da imunidade específica à *Candida*

O epitélio bucal contém todos os elementos necessários para desencadear e manter uma efetiva resposta imune. Apresentação de antígeno pode ocorrer via células de Langerhans do epitélio¹³², ou então, quando os antígenos penetram no tecido conjuntivo, células da linhagem macrofágica são encontradas em abundância. Células com receptores CD1 são encontrados na camada basal do epitélio e no estrato córneo. Linfócitos intraepiteliais podem ser encontrados na mucosa bucal normal, geralmente próximos às células basais. Tanto células CD4 como CD8 positivas estão presentes em quantidades semelhantes. Assim parece possível que a apresentação dos antígenos para os linfócitos possam ocorrer dentro do epitélio. Este

fato parece ser particularmente relevante nas candidoses hiperplásicas crônicas onde invasão por hifas ocorrem na camada basal do epitélio ⁷⁵.

2.6.2.1 Anticorpos séricos

A presença de anticorpos séricos reativos com células inteiras ou antígenos de *Candida* estão presentes no soro da maioria dos indivíduos ^{188,237,377,504}.

Segundo *Challacombe* ⁷⁵ (1994) a presença de anticorpos séricos anti-*Candida* demonstra não que *Candida* está presente como comensal na boca e outras superfícies mucosas (principalmente mucosa vaginal) de grande número de indivíduos, mas também que os antígenos de *Candida* são capazes de estimular resposta imune humoral específica. A quantificação de anticorpos séricos à *C.albicans* tem sido usado como imunodiagnóstico nas candidoses bucais e sistêmicas ^{42,175,188} assim como teste para verificação de pacientes com imunodeficiências atingindo células B ³⁴⁷.

A diferenciação entre pacientes com candidose e saudáveis, por meio da quantificação de anticorpos séricos, foram realizadas utilizando-se reações de aglutinação ^{84,308,504} e precipitação ^{80,344}, podendo desta forma ser usado como diagnóstico. Estas técnicas entretanto não permitiam a identificação dos isotipos dos anticorpos.

A detecção de anticorpos das classes IgG, IgM, IgA e IgE tornaram-se possíveis com técnicas de imunofluorescência indireta ^{104,234,237} e reação ELISA ⁴⁹⁰. Estas reações possibilitaram verificar níveis mais elevados de anticorpos em pacientes com estomatite por

prótese total e outras formas de candidose em relação a indivíduos normais ¹⁰⁴.

Lehner ²³⁴ (1966) utilizando imunofluorescência, determinou a quantidade de anticorpos séricos dirigidos para células inteiras de *C.albicans*, em 4 tipos de candidose bucal. Todos os pacientes com candidose eritematosa crônica (incluindo estomatite por prótese total) demonstraram anticorpos IgG e IgM no soro, enquanto apenas 66% dos pacientes com candidose aguda pseudomembranosa demonstraram tais anticorpos. O menor título de anticorpos foi encontrado nos pacientes com candidose eritematosa aguda. Os títulos de anticorpos na candidose nodular por outro lado, não foram tão elevados quanto no grupo com candidose eritematosa crônica.

Lehner et al. ²³⁸ (1972) demonstraram que os níveis séricos de IgG, IgA e IgM estavam aumentados em pacientes com candidose mucocutânea crônica e em pacientes com endocardite por *Candida* em relação aos normais. Os autores não encontraram entretanto diferença entre os níveis de anticorpos, assim como entre as classes, nos pacientes com candidose, salientando que os anticorpos eram possivelmente dirigidos contra manana da parede celular do fungo.

Neale et al. ³¹⁴ (1987) salientam que os anticorpos anti-*Candida* são formados contra antígenos que variam em 18 a 100 kDa. Antígeno de 47 kDa parece ter particular importância, desde que anticorpos contra o mesmo são importante fator preditivo nas candidoses sistêmicas ^{274,275,314}.

Aceita-se que a ação de anticorpos e complemento na ausência de células não é suficiente para destruir *Candida* ⁷⁵. O principal modo

de ação dos anticorpos séricos parece ser opsonização para polimorfonucleares neutrófilos e macrófagos, ativando estas células e produzindo quimiotaxia. Na fixação do complemento pelos anticorpos, são liberados os componentes C3a e C5a que são quimiotáticos. Neutrófilos e macrófagos humanos possuem receptores para fatores do complemento; já foram também identificados receptores para componentes do complemento na parede celular de *Candida*, podendo desta forma ocorrer imunoaderência ⁷⁵. Por outro lado, *Faux et al.*, ¹²⁶ (1992) demonstraram que 76% dos adultos normais produzem anticorpos anti-manana, enquanto pacientes com imunodeficiência humoral primária para IgG, são incapazes de produzir anticorpos para este antígeno de parede celular de *C.albicans*, sendo portanto a verificação da presença de IgG anti-manana importante exame para a verificação de imunodeficiência humoral nestes pacientes.

2.6.2.2 Anticorpos salivares

A mucosa bucal, gengiva e dentes são banhados continuamente pela saliva. Considerando-se uma quantidade média de secreção de 1,9 ml de saliva por hora, com aumento de secreção durante mastigação e diminuição nos períodos de sono, a secreção diária é de aproximadamente 500 ml. A saliva contém em torno de 19 mg de anticorpo IgA em cada 100 ml, sendo portanto secretados cerca de 100 mg de IgA diariamente na boca. Por outro lado, somente cerca de 1,4 mg de IgG e 0,2 mg de IgM são encontrados em 100 ml de saliva, sendo o fluido gengival sua principal fonte destes anticorpos na saliva total ³⁷⁹.

A IgA representa 20% do total de imunoglobulinas séricas, sendo o principal anticorpo encontrado nas secreções exócrinas: saliva, secreção traqueal, brônquica e genitourinária, lágrimas, suor, leite e colostro. A IgA é quantitativamente a mais importante imunoglobulina secretada na saliva, demonstrando relação para IgG de cerca de 400 vezes maior que a taxa correspondente no soro ³⁷⁹.

A imunoglobulina A secretora (IgA-S) apresenta peso molecular de cerca de 390 kDa, sendo constituída de 3 componentes: dois monômeros de moléculas de IgA (160 kDa), idênticas à do soro, ligadas de forma a produzir um dímero; uma cadeia polipeptídica de 26 kDa, a cadeia J; e, o componente secretor, sintetizado pelas células epiteliais, de cerca de 64 kDa. O componente secretor é adicionado por ligação covalente, através de pontes dissulfeto à IgA dimérica durante seu transporte pelas células epiteliais, conferindo à IgA-S proteção à clivagem por proteases salivares ⁶⁶.

Lehner ²³⁴ (1966) demonstrou através de imunofluorescência, títulos elevados de anticorpos anti-*Candida* na saliva de pacientes com candidose em relação aos controles. Estes estudos foram confirmados por *Epstein et al.* ¹²⁰ (1982) e *Jeganathan et al.* ¹⁸⁹ (1987) que demonstraram maior quantidade de IgA e IgG salivares em pacientes com candidose em relação aos controles, usando também imunofluorescência.

IgA-S anti-*Candida* parece exercer inibição na aderência de *Candida* as células epiteliais bucais ¹²⁰. *Vudhichamnong et al.* ⁴⁸⁵ (1982) demonstraram que IgA-S isolada de leite humano é capaz de inibir aderência de *C.albicans* às células epiteliais bucais. Por outro

lado, amostras de *C.albicans* e *C.glabrata* isoladas da cavidade bucal são capazes de produzir proteinases com habilidade em degradar IgA-S, provavelmente clivando as pontes dissulfeto entre as cadeias alfa 369,382. Parece desta forma, ser possível que amostras altamente produtoras de proteinase possam apresentar-se mais patogênicas às mucosas bucais do que as que não produzem 75.

A saliva representa uma forma alternativa de pesquisar presença de anticorpos anti-*Candida* em pacientes com candidose, pois não necessita de técnica invasiva para sua coleta. Apesar disso, o estudo de anticorpos salivares anti-*Candida* não tem sido amplamente utilizado, provavelmente porque as imunoglobulinas estão presentes na saliva em concentrações muito menores que no soro. Atualmente, com o desenvolvimento de técnicas imunológicas muito sensíveis, como a reação ELISA, o uso da saliva para pesquisa de anticorpos tornou-se possível 188.

Jeganathan et al. 189 (1987) utilizando reação ELISA, relataram aumento significativo de IgA anti-*Candida* na saliva de pacientes com candidose bucal. Os autores demonstraram decréscimo significativo no nível de IgA anti-*Candida* após terapia antifúngica nos pacientes.

Polonelli et al. 350 (1991) demonstraram através de imunofluorescência, que nos pacientes com sinais clínicos de candidose, as células de *Candida* estavam recobertas por IgA, em contraste com a maioria dos pacientes assintomáticos. Os autores encontraram correlação entre sinais clínicos, persistência da infecção, resposta à terapia anti-fúngica e resultados de cultivos microbiológicos com a

presença de IgA recobrando as células de *Candida* presente nas mucosas dos pacientes.

A determinação dos níveis séricos e salivares de anticorpos produzidos para antígenos citoplasmáticos de *Candida*, são considerados como métodos de laboratório importantes no diagnóstico da candidose bucal. A monitorização do nível destes anticorpos pode ser usado como controle do sucesso das terapias antifúngicas ¹⁸⁸. A quantidade de anticorpos IgA anti-*Candida* está correlacionado com o número de UFC de *Candida* na saliva ⁸⁵.

Pacientes com AIDS demonstram maior quantidade de IgA anti-*Candida* na saliva, em relação a pacientes HIV positivos e ambos os grupos apresentam maior quantidade de anticorpos na saliva do que indivíduos sadios ⁸⁵.

2.6.2.3 Imunidade celular

Imunidade mediada por células para *Calbicans* tem sido demonstrada em animais ^{105,327} e seres humanos saudáveis, pela ocorrência de reações de hipersensibilidade retardada na pele, frente ao desafio com antígenos de *Candida*, ou através de testes *in vitro* de inibição de migração de leucócitos e estimulação de transformação de linfócitos ^{56,75,377,379}.

Positividade dos testes de hipersensibilidade para *Candida* em indivíduos saudáveis, apesar das variações pela metodologia de preparo do antígeno e com a população estudada, oscila entre 46 a 94% dos indivíduos ³⁷⁹. Assim testes de hipersensibilidade positivos

não são indicativos de infecção por *Candida* e não são elucidativos para diagnóstico.

Evidências favoráveis na significativa proteção da imunidade celular às candidoses crônicas são demonstradas no estudo de pacientes com defeitos genéticos na função de linfócitos-T secundários à disfunções tímicas. Tais pacientes geralmente apresentam candidose mucocutânea crônica desde o nascimento, sendo incapazes de eliminar *C. albicans* das superfícies mucosas ³⁷⁹. Correlação tem sido notado entre candidose mucocutânea crônica e várias doenças que produzem imunodeficiência celular em seres humanos e animais experimentais ³⁷⁶. Por outro lado, pacientes com deficiências somente de linfócitos-B não são tão susceptíveis às candidoses, como pacientes com imunodeficiências combinadas (B e T) ³⁷⁹.

Budtz-Jorgensen ⁵⁷ (1973) utilizando testes de migração de leucócitos *in vitro*, demonstrou diminuição da resposta imune celular à *C.albicans* em pacientes com estomatite por prótese total. O mesmo autor ⁵⁶ (1990) acrescenta que a imunidade mediada por células é restaurada, quando da cura da infecção, com o tratamento com drogas antimicóticas. O autor sugere que candidose bucal crônica pode levar a supressão da resposta imune celular *in vitro* contra *C.albicans*.

Infiltração de linfócitos-T foram demonstrados em queilite angular infectada por *Candida* e em estomatite por prótese total, indicando envolvimento de imunidade celular nestes tipos de lesão ^{191,329}.

Em pacientes com AIDS, as células-T estão com sua função acentuadamente diminuída, e a candidose bucal é a complicação mais frequentemente observada ^{133,155,251,298,319,323,360,415,456,508,.}

Proliferação de linfócitos *in vitro* pode ser utilizada para distinguir clinicamente indivíduos infectados pelo HIV de pacientes com AIDS. Linfócitos de pacientes HIV positivos respondem normalmente à *Candida* e ao toxóide tetânico, entretanto, em pacientes com AIDS a linfoproliferação é negativa ¹⁴⁵.

Por outro lado, estudos experimentais com animais tem enfatizado o papel da imunidade celular em infecções crônicas por *Candida* ⁶. Budtz-Jorgensen ⁵⁷ (1973) produziu candidose severa e prolongada no palato de macacos *rhesus* após administração de um agente imuno-supressor (azathioprine).

O papel da imunidade mediada por células nas infecções por *Candida* foi sugerida pelas observações de Sinha et al. ⁴³⁷ (1987) em camundongos com deficiências de células T. Os autores observaram correlação entre hipersensibilidade retardada e proteção nestes animais. Entretanto, outros relatos sugerem que a imunidade celular não apresenta papel primário na proteção contra *Candida*, já que camundongos atímicos (*nude*) parecem ser mais resistentes à inoculação intravenosa de *Candida* do que camundongos normais ou camundongos *nude* submetidos a transplante de timo ^{87,89,378}.

Em adição, camundongos timectomizados irradiados e com medula óssea reconstituída não são mais susceptíveis à infecções por *Candida* que os controles normais ¹⁴³.

Balish et al. ³³ (1990) produziram infecção por *C.albicans* em camundongos *nude* (nu/nu) e com disfunção tímica parcial (nu/+). Os autores observaram que a imunidade mediada por células T não apresentava papel importante na resistência adquirida às candidoses

Os resultados dos trabalhos experimentais sobre imunidade à *Candida* permanecem ainda contraditórios. De acordo com Challacombe⁷⁵ (1990) as razões para estas discrepâncias incluem as diferentes metodologias utilizadas, os diferentes modelos animais e as diferenças entre amostras de *Candida* utilizadas. Segundo este autor, a interpretação dos estudos experimentais permitem hipotetizar que os mecanismos celulares são responsáveis pela defesa primária nas infecções mucocutâneas, enquanto os fatores humorais desempenham papel principal na prevenção e disseminação das infecções por *Candida*.

2.7 Periodontite do adulto

Periodontite caracteriza-se por infecção dos tecidos do periodonto, produzindo perda do tecido conjuntivo de suporte do dente ³⁶⁵. A periodontite ocorre pela extensão da inflamação para estruturas profundas do periodonto, resultando em formação de bolsa periodontal, reabsorção óssea, e usualmente mobilidade clínica do dente ³²¹.

A periodontite do adulto, a mais prevalente das periodontites, apresenta-se clinicamente significativa após 30 anos de idade. Sua expressão não depende de distúrbios sistêmicos e na maioria das vezes sua progressão é lenta ³⁶⁴.

Doença periodontal é o resultado clínico da complexa interação entre o hospedeiro e a placa bacteriana ⁹¹. A causa primária da periodontite são as bactérias ³²¹. A resposta imune do hospedeiro está aumentada para determinados microrganismos da placa bacteriana, quando do agravamento da doença periodontal ¹¹³.

A interação entre a placa bacteriana e hospedeiro, em determinado momento pode exceder o limiar da integridade dos tecidos, resultando em doença periodontal. Assim, a doença periodontal pode ser considerada como uma infecção polimicrobiana, predominantemente anaeróbica ⁹¹, no qual alguns microrganismos ocorrem mais frequentemente e estão mais relacionados aos processos destrutivos, sendo chamados de "espécies essenciais".

O conceito de que determinados microrganismos são responsáveis pela gravidade e ocorrência da doença periodontal levou

ao desenvolvimento da teoria da "placa específica" e ainda de "sítio específico" ³¹⁷. Desta forma não bastaria a presença da placa bacteriana em contato com o periodonto, mas seriam necessárias bactérias periodontopatogênicas nesta placa para que ocorra a doença.

Segundo *Socransky et al.* ⁴⁴¹ (1991) existem na natureza mais de um milhão de espécies bacterianas. Cerca de 300 a 400 espécies habitam o periodonto, das quais 10 a 20 possuem potencial de causar doença. Apesar da extensa literatura sobre os possíveis microrganismos essenciais para que ocorra doença periodontal, existe ainda pouco consenso entre os autores sobre os microrganismos periodontopatogênicos. *Haffajee & Socransky* ¹⁶¹ (1994) enumeram as seguintes fatores a serem levados em consideração quando do estudo e interpretação dos achados sobre etiologia da doença periodontal:

- mais de 300 espécies bacterianas podem ser cultivadas de bolsas periodontais de diferentes indivíduos, e de 30 a 100 espécies podem ser recuperadas de um único sítio;
- muitas das espécies encontradas na bolsa periodontal são difíceis de coletar ou impossíveis de cultivar e identificar;
- os sítios da doença não se encontram sempre ativos, portanto a ocasião da coleta torna-se importante no entendimento da patogênese da doença;
- em diferentes sítios da doença pode-se encontrar diferentes patógenos e o mesmo sítio pode apresentar determinado patógeno em uma coleta e outros em coletas subsequentes;
- espécies oportunistas podem crescer mais como resultado da doença do que como sua causa;

- a maioria das infecções que ocorrem na bolsa periodontal são infecções mistas, o que dificulta a avaliação do papel de cada um dos microrganismos envolvidos;
- muitos dos microrganismos patogênicos são encontrados em bocas livres de doença periodontal;
- espécies consideradas patogênicas apresentam diferenças de virulência, as quais nem sempre podem ser distinguidas;
- muitas amostras virulentas do periodonto, podem apresentar bacteriófagos ou plasmídeos que podem lhes conferir propriedades de virulência.

Atualmente os seguintes fatores são observados para se considerar um microrganismo como envolvido na doença periodontal 91.223,321,338,446,448:

- o microrganismo deve ser encontrado em números elevados na doença, e ausente ou infrequentemente isolado do periodonto saudável;
- a eliminação ou supressão do microrganismo pelo tratamento deve levar à resolução da doença, ou pelo menos, produzir influência positiva;
- deve ocorrer resposta imune (humoral e celular) do hospedeiro para o referido microrganismo;
- fatores de virulência do microrganismo devem ser identificados;
- a patogenicidade deve ser reproduzida experimentalmente em animais (especialmente em animais assépticos).

Os principais microrganismos envolvidos com a periodontite do adulto, considerados por vários autores, encontram-se no Quadro 1 a

seguir. Neste quadro estão correlacionados os microrganismos, sua associação com a doença periodontal, os efeitos de sua eliminação, a resposta do hospedeiro, a produção de fatores de virulência e estudos experimentais em animais.

QUADRO 1 - Principais microrganismos envolvidos com periodontite crônica do adulto. São citados os números das referências dos autores que demonstraram a associação do microrganismo com a doença, os efeitos produzidos por sua eliminação, a resposta do hospedeiro ao mesmo, os fatores de virulência e experimentos com animais que comprovam tal associação.

MICROORGANISMO	REFERÊNCIAS DOS AUTORES
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	
-Associação com a doença	1,115,208,248,438,439,476,448,481,506
-Eliminação	5,82,86,306,307,372,373,412,478,479,
-Resposta do hospedeiro	86,112,158,320,387,388,464,489,499,510
-Fatores de virulência	25,26,44,156,169,226,287,288,289,449
-Estudos com animais	77,184,507
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	
-Associação com a doença	3,83,93,285,302,303,341,466,476,486,506
-Eliminação	5,79,192,225,285,286,343,478,486
-Resposta do hospedeiro	88,109,192,211,247,300,340,489,500,501
-Fatores de virulência	109,137,233,287,293,304,312,410,414,501
-Estudos com animais	112,122,121,127,179,206,214,222,281,322

MICROORGANISMO	REFERÊNCIAS DOS AUTORES
----------------	-------------------------

Prevotella intermedia

-Associação com a doença	110,266,303,343,372,466,486,487,506
-Eliminação	5,160,225,245,476,487
-Resposta do hospedeiro	160,489,510,511
-Fatores de virulência	131,157,241,345,480
-Estudos com animais	12,294,296,477

Fusobacterium nucleatum

-Associação com a doença	111,160,243,267,303,487,506
-Eliminação	160,225
-Resposta do hospedeiro	125,158,160
-Fatores de virulência	137,330,471
-Estudos com animais	38,365

Bacteroides forsythus

-Associação com a doença	83,111,146,160,228
-Eliminação	100,160,445
-Resposta do hospedeiro	464

Campylobacter rectus

-Associação com a doença	3,110,111,160,229,243,267,303,362
-Eliminação	160,460
-Resposta do hospedeiro	114
-Fatores de virulência	23

Eikenella corrodens

-Associação com a doença	78,111,267,461,506
-Eliminação	461
-Resposta do hospedeiro	114
-Fatores de virulência	288
-Estudos com animais	39

MICROORGANISMO	REFERÊNCIAS DOS AUTORES
<i>Peptostreptococcus micros</i>	
-Associação com a doença	111,303,363
-Eliminação	160
-Fatores de virulência	68
-Estudos com animais	345
<i>Eubacterium sp</i>	
-Associação com a doença	303,473
-Resposta do hospedeiro	158,273,465
-Fatores de virulência	345
<i>Treponema sp</i>	
-Associação com a doença	301,303,375,487
-Eliminação	225,245,246,285,436,486
-Fatores de virulência	151,345,413
-Estudos com animais	263,295,296

Obviamente nem todos os patógenos periodontais foram ainda identificados. Interesse crescente tem ocorrido naqueles grupos de espécies não encontrados comumente na placa subgengival, mas que podem iniciar ou contribuir com a patogênese da doença periodontal, particularmente em pacientes que respondem pobremente à terapia. Ênfase tem sido dada para enterobactérias, espécies de estafilococos e algumas leveduras 91,161,170,224,418,440,441.

González et al.¹⁴⁸ (1987) demonstraram presença de leveduras invadindo o tecido conjuntivo gengival em periodontite juvenil com o uso de microscópio eletrônico de varredura. Os autores demonstraram ainda que nos pacientes tratados com antibióticos o número de leveduras está aumentado.

Slots et al.⁴⁴¹ (1988) observaram 500 adultos com periodontite refratária, isolando leveduras em 84 (16,8%) e enterobactérias e/ou pseudomonas em 51 (10,2%) pacientes. Das leveduras isoladas, 75 pacientes apresentaram *C.albicans* (85,3%), 8 *C.parapsilosis*, 5 *C.tropicalis* e 2 *C.lipolytica* respectivamente. As *Enterobacteriaceae* representaram 21 a 39% da microbiota cultivável, sendo *Enterobacter cloacal*, *E.agglomerans*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* e *K.oxytoca* as espécies mais frequentes.

Rams et al.³⁶¹ (1990) estudaram presença de enterobactérias, leveduras e estafilococos no sulco gengival de 21 pacientes com periodontite do adulto após tratamento com tetraciclina. Os autores encontraram *Enterobacter aerogenes* em 2, *Escherichia coli* em 1, *C.albicans* em 2 e estafilococos em 11 pacientes respectivamente.

Helovu et al.¹⁷⁰ (1993) isolaram enterobactérias, estafilococos e leveduras de pacientes com periodontite do adulto submetidos a tratamento com penicilina e eritromicina. As espécies mais encontradas foram *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *E.cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *C.parapsilosis*.

Sedglei & Samaranyake⁴¹⁸ (1994) coletaram amostras de lavados bucais de 300 pacientes e observaram presença de *Enterobacteriaceae* em 96 (32%), sendo isolado principalmente *Enterobacter* e *Klebsiella*. Leveduras foram isoladas de 72 pacientes (24%) sendo a *C.albicans* a espécie mais isolada.

A existência de sinergismo entre *Candida sp* e *Enterobacteriaceae* é relatada em pacientes com síndrome da boca ardente⁴⁰⁵ e em pacientes infectados com HIV-1⁴¹⁶. Em estudos

experimentais "in vitro", *Bagg & Silverwood*³¹ (1986) demonstraram aglutinação de *C.albicans* com *E.coli*, e, que a pré-incubação de células epiteliais humanas com amostras fimbriadas de *E.coli* e *K.pneumoniae* aumentam a adesão de *C.albicans* a estas células. Os autores admitem que a *E.coli* pode mediar a adesão entre a *C.albicans* e o epitélio, através de suas fimbrias.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi correlacionar a presença de leveduras do gênero *Candida*, a produção de enzimas pelas amostras isoladas e a quantidade de anticorpos anti-*Candida* em pacientes com periodontite crônica do adulto e indivíduos com periodonto saudável, observando-se:

- a presença de leveduras do gênero *Candida* no sulco gengival e na saliva de pacientes com periodontite crônica do adulto e de indivíduos com periodonto saudável;
- a identificação das amostras de *Candida* isoladas;
- a produção de hialuronidase, condroitin sulfatase, proteinase e fosfolipase pelas amostras de *Candida* isoladas do sulco gengival e da saliva de pacientes com periodontite crônica do adulto e de indivíduos com periodonto saudável;
- a presença de anticorpos anti-*Candida* das classes IgG, IgA, IgM e IgE no soro e saliva de pacientes com periodontite crônica do adulto e de indivíduos com periodonto saudável;
- a presença de anticorpos anti-*Candida* das classes IgG, IgA e IgM no fluido da bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica do adulto e no fluido do sulco gengival de pacientes com periodonto saudável.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Pacientes

Foram utilizados 30 pacientes com periodontite crônica do adulto, com idades de 25 a 50 anos (média $40,1 \pm 8,4$ anos), selecionados na Clínica da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos/UNESP. Todos os pacientes apresentavam pelo menos 3 sítios com bolsa periodontal de profundidade entre 5 e 10 mm e evidência radiográfica de reabsorção óssea, e não haviam utilizado antibióticos pelo período mínimo de 6 meses. O diagnóstico clínico e radiológico foi sempre confirmado por docente da Disciplina de Periodontia. Foram selecionados 2 sítios de bolsa periodontal na arcada superior (Sítio 1 e 2) e um na arcada inferior (Sítio 3).

Para controle, foram utilizados 25 alunos do Curso de Graduação da Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos/UNESP, que não apresentavam evidências clínicas e radiográficas de doença periodontal, com idades entre 18 a 23 anos (média $19,6 \pm 1,35$ anos). Todos os alunos apresentavam boa saúde geral e higiene bucal satisfatória. Não apresentavam lesões nas mucosas da boca ou cárie dentária clinicamente visível; não apresentavam história recente de candidose, não usavam próteses totais ou parciais removíveis e não haviam utilizado antibióticos pelo

período mínimo de 6 meses. Para os controles, o fluido gengival foi coletado no sulco gengival vestibular da região de molares e pré-molares. O sítio 1 e 2 correspondem à arcada superior, enquanto o sítio 3 corresponde à arcada inferior.

Para cada paciente foi preenchida uma ficha (Anexo 1) e as amostras coletadas e numeradas de acordo com o número correspondente do paciente na mesma, precedido da letra "C" quando controle e "DP" quando paciente com doença periodontal. Seguindo-se ao número do paciente, foram colocadas letras minúsculas para as amostras de saliva (a), sítio 1 (b), sítio 2 (c) e sítio 3 (d). Assim, a amostra DP27b significa que foi procedente de paciente com doença periodontal de número 27, coletada do sítio 1 do sulco gengival.

Todos os pacientes foram conscientizados da pesquisa e assinaram autorização, permitindo a coleta das amostras (Anexo 2).

4.2 Coleta das amostras

4.2.1 Fluido gengival

As amostras de material do sulco gengival foram coletadas com cones de papel absorvente esterilizado (nº 50, Dentsply), cortados numa altura de 15 mm, de forma que cada cone absorvia aproximadamente 2 µl do fluido gengival. Após prévia remoção da placa bacteriana supra-gengival com cureta esterilizada e *swab* também esterilizado, os cones de papel foram colocados no interior do sulco (bolsa) gengival com auxílio de pinça clínica esterilizada sendo mantidos em posição durante 2 minutos. Em cada paciente foi coletado

material de 3 sítios de doença periodontal, sendo coletados 7 cones de cada sítio. Dois cones foram colocados em tubos de ensaio contendo 1 ml de solução fisiológica esterilizada e levados ao laboratório para verificação de presença de *Candida*. Cinco cones foram colocados em tubos tipo *ependorf*, congelados imediatamente após a coleta (-20°C) e armazenados.

4.2.2 Saliva

As amostras de saliva foram coletadas em tubos de ensaio esterilizados, fazendo com que o paciente vertesse aproximadamente 5 ml de saliva sobre um funil colocado na boca do tubo de ensaio. As amostras de saliva, foram imediatamente levadas para o laboratório e submetidas aos seguintes procedimentos:

- 1 ml da amostra foi diluída em solução salina esterilizada até 10^{-2} e semeada em duplicata em meios de cultura para verificar presença de *Candida*;
- o restante foi centrifugado a 2000 rotações por minuto (r.p.m.) durante 10 minutos, para separação de material particulado. A seguir adicionou-se EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid - Sigma) 10 mM, PMSF (Phenylmethanesulfonyl fluoride - Sigma) 5 mM e azida sódica 0,02% em cada amostra, as quais foram conservadas a -20°C.

4.2.3 Soro

As amostras de sangue (10 ml) foram coletadas dos mesmos pacientes, utilizando-se de seringas e agulhas descartáveis. A seguir o sangue era transferido para tubo de ensaio e incubado a 37°C durante

1 hora. Após este período, o coágulo era deslocado e retirado e o soro mantido por 12 horas a 4°C, centrifugado a 2000 r.p.m./10 minutos, acondicionados em frascos próprios e armazenados a -20°C.

4.3 Isolamento e identificação das amostras de *Candida*

As amostras de sulco gengival foram agitadas durante 1 minuto em agitador de tubos (Vortex), e 0,1 ml de cada amostra foi semeada em ágar Sabouraud dextrose (Difco) com cloranfenicol (0,1 mg de Quernicetina Succinato/Carlo Erba, por ml de meio), em duplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas e naquelas que cresceram colônias características, foram feitos esfregaços corados pelo método de Gram, e todas as colônias sugestivas de leveduras foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose.

As amostras de saliva foram diluídas e cada diluição semeada em 2 placas de ágar Sabouraud dextrose. Após incubação a 37°C por 48 horas, as unidades formadoras de colônias (UFC/ml) foram calculadas e obtidas culturas puras de 5 colônias por amostra, como descrito acima.

As culturas obtidas foram identificadas, baseando-se em *Sandvén*⁴¹¹ (1990), através das seguintes provas:

4.3.1 Formação de tubo germinativo

Em tubo de ensaio (13x17 mm) contendo 0,5 ml de soro estéril de coelho foi adicionado uma alçada da cultura de 24 horas da levedura, que foi colocada em banho-maria a 37°C, por até 3 horas. A formação de tubo germinativo foi observada em microscopia de luz,

colocando-se uma gota da suspensão entre lâmina e lamínula, no período de 2 até 3 horas da incubação.

4.3.2 Produção de pseudohifas e clamidósporos

Para se verificar a produção de clamidósporo, foi utilizado o meio ágar fubá tween 80, com a seguinte constituição:

Fubá	40g
Ágar (Difco)	20g
Tween 80	10ml
Água destilada	1000ml
pH 5.6	

O fubá foi dissolvido em 800 ml de água destilada, aquecido em banho-maria durante 1 hora, filtrado 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. O meio foi distribuído em Erlenmeyer de 50 ml, autoclavado a 120°C por 15 minutos e armazenado em geladeira.

Para execução da prova, o ágar-fubá previamente fundido, foi distribuído em lâminas depositadas sobre bastão de vidro em "U", colocadas no interior de placas de Petri esterilizadas. Assim que houve a solidificação do ágar, cada amostra de levedura a ser testada foi semeada em estria única na superfície do meio e foi colocada uma lamínula no centro da lâmina. Para evitar uma possível dessecação foi adicionado no fundo da placa um pedaço de papel filtro esterilizado e umedecido em água esterilizada. Este preparado foi incubado por 48 a 72 horas em temperatura ambiente, quando então foi feita a leitura em

microscopia de luz, observando-se a presença de pseudohifas e clamidósporos.

4.3.3 Fermentação de açúcares (Zimograma):

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

4.3.4 Assimilação de açúcares (Auxonograma):

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

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

O meio foi distribuído em tubos de ensaio (20 ml) e autoclavado a 120°C por 15 minutos. Para cada amostra a ser testada, foi feita uma suspensão da levedura com turvação equivalente ao tubo número 10 da escala de MacFarlane, a qual foi semeada em *pour plate*. A seguir foi colocado um disco de papel de filtro embebido numa solução a 1% dos

seguintes açúcares: glicose, galactose, lactose, maltose e sacarose; na superfície do meio. O crescimento da amostra nas proximidades do açúcar, significou que o microrganismo assimilou aquele açúcar como fonte de carbono.

4.3.5 Interpretação:

As amostras foram caracterizadas em espécies de acordo com as características de produção de tubo germinativo em soro estéril de coelho, produção de pseudohifas e clamidósporos em ágar fubá-tween 80, fermentação e assimilação de carboidratos, baseando-se em Sandvén⁴¹¹, 1990.

QUADRO 2 - Características culturais, assimilação e fermentação de carboidratos pelas amostras de *Candida* isoladas da cavidade bucal dos pacientes com periodontite crônica do adulto e controles.

Características	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. guillier-mondii</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. para-psilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>
Tubo germinativo	+	-	-	-	-	-
Hifas/Pseudohifas	+	-	+	+	+	+
Clamidósporos	+	-	-	-	-	-
FERMENTAÇÃO						
Glicose	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G
Maltose	A/G	-/-	-/-	-/-	-/-	A/G
Sacarose	A/-	-/-	A/G	-/-	-/-	A/G
Lactose	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Galactose	A/G	-/-	A/G	-/-	A/G	A/G
ASSIMILAÇÃO						
Glicose	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	-	+	-	+	+
Sacarose	+	-	+	-	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-
Galactose	+	-	+	-	+	+

(+) Prova positiva; (-) Prova negativa; (A) Produção de ácido; (G) Produção de gás. Baseado em Sandvén⁴¹¹ (1990) e Silverman Jr. et al.⁴³⁵, 1990.

4.4 Pesquisa de enzimas pelas amostras de *Candida* isoladas

4.4.1 Produção de hialuronidase

Empregou-se o método descrito por *Smith & Willet* ⁴⁴³(1968) substituindo-se o meio de cultura pelo empregado por *Shimizu* ⁴³³(1990) cuja fórmula é a seguinte:

Neopeptona (Difco)	10 g
Bacto-Dextrose (Difco)	40 g
Agar Noble (Difco)	15 g
Água destilada	1000 ml
pH 5.6	

Após aquecimento para dissolução dos ingredientes, o meio foi esterilizado em autoclave a 120°C por 15 minutos. A seguir foi resfriado a 46°C e foram adicionadas os seguintes constituintes, previamente esterilizados por filtração (filtro Millipore GSWP 02500):

- Albumina bovina fração V (Sigma), na concentração final de 1%;
- Ácido hialurônico (Sigma), na concentração final de 400 mg/ml de meio.

O meio foi vertido em placas de Petri que, após solidificação, foram mantidas em geladeira a 4°C, para formar uma superfície firme. A seguir as placas foram semeadas em duplicata com as amostras de *Candida*, cultivadas em ágar Sabouraud dextrose a 37°C por 24 horas. Cada placa foi semeada em pontos equidistantes, com 5 das amostras isoladas e com amostra padrão de *C.albicans* (F-72) produtora de hialuronidase (controle positivo) no centro da placa. Após 48 horas de incubação a 37°C, as placas foram banhadas com solução reveladora

de ácido acético 2N para precipitação do substrato. A atividade enzimática foi evidenciada por uma zona hialina nas proximidades da colônia, resultante da hidrólise do substrato.

4.4.2 Produção de condroitin-sulfatase

Empregou-se o método descrito por *Smith & Willet* ⁴⁴³ (1968), substituindo-se o ácido hialurônico pelo sulfato de condroitin (Sigma), na concentração final de 400 mg/ml de meio. A atividade enzimática foi lida pela mesma técnica descrita para hialuronidase.

4.4.3 Produção de proteinase

Para a pesquisa dessa enzima, utilizou-se a técnica descrita por *Ruchel et al.* ³⁸⁴ (1982), utilizando-se meio base constituído por:

Dextrose (Difco)	20 g
Fosfato de potássio monobásico (Labsynth)	1 g
Sulfato de magnésio (Reagen)	0,5 g
Ágar Noble (Difco)	15 g
Água destilada	1000 ml

Após aquecimento para dissolução dos ingredientes, o meio foi autoclavado a 120°C por 15 minutos. Após resfriamento a 46°C, foram adicionadas soluções aquosas esterilizadas por filtração contendo os seguintes constituintes:

- Albumina bovina fração V (Sigma), na concentração final de 2%;
- Riboflavina (Sigma) na concentração final de 0,2 mg/ml de meio

de cultura

- Ácido nicotínico (Sigma) e hidrocloreto de tiamina (Sigma) na concentração final de 0,4 mg/ml de meio de cultura.

O meio foi, então, vertido em placas de Petri que, após solidificação, foram mantidas por 30 minutos na geladeira a 4°C para formar uma superfície sólida. Foram semeadas 5 amostras de *Candida* e a amostra *C.albicans* F-72 (controle positivo) no centro, a partir de cultivo a 37°C/24 horas em ágar Sabouraud dextrose.

Após 48 horas de incubação a 37°C foi adicionado solução corante sobre a superfície do meio, a qual foi esgotada imediatamente, e adicionou-se solução reveladora de ácido acético.

Solução corante:

Negro amido (Labsynth)	1g
Ácido acético (Merck)	198,8 ml
Água destilada	801,2 ml

Solução reveladora:

Ácido acético	67,9 ml
Água destilada	932,1 ml

A atividade enzimática foi evidenciada pela formação de halo hialino ao redor da colônia, resultante da hidrólise do substrato, que não era corado em azul pela solução.

4.4.4 Produção de fosfolipase

Foi empregada a técnica descrita por *Price et al.* ³⁵⁵(1982), utilizando-se o seguinte meio de cultura:

Peptona (Difco)	10 g
Dextrose (Ecibra)	20 g
Cloreto de sódio (Ecibra)	57,3 g
Cloreto de cálcio (Sigma)	0,55 g
Ágar Noble (Difco)	20 g
Água destilada	1000 ml

O meio foi esterilizado por autoclavação (121°C/15 min.), resfriado a 56°C e adicionado 80g de gema estéril de ovo homogeneizada. Para obtenção da gema homogeneizada, os ovos foram lavados e escovados com detergente, enxaguados por 3 vezes em água destilada esterilizada e deixados por 3 horas imersos em álcool etílico a 77°GL. A seguir as gemas foram separadas assepticamente e homogeneizadas em frasco Erlenmeyer de 50ml contendo pérolas de vidro esterilizadas. O meio foi então distribuído em placas de Petri, levado a geladeira por 30 minutos e semeadas 5 amostras em duplicata por placa, usando-se a amostra F72 de *C.albicans* como controle positivo. Após 48 horas de incubação a 37°C, a presença da enzima foi observada pela formação de um halo de cor amarelada ao redor da colônia. O halo formado ocorre quando da ação da fosfolipase sobre os fosfolipídeos contidos na gema de ovo, liberando ácidos graxos que se ligam ao cálcio presente no meio e precipitam.

4.4.5 Medidas das atividades enzimáticas

As atividades enzimáticas foram medidas de acordo com a técnica de *Price et al.* ³⁵⁵ (1982), obtendo-se o valor de P_z , através da divisão do diâmetro da colônia em mm, pelo diâmetro da colônia mais o halo formado pela atividade enzimática. De acordo com este sistema, $P_z = 1,00$ significa que a amostra não produziu halo, isto é, não apresenta atividade enzimática. Quanto menor o valor de P_z , maior a atividade enzimática da amostra. Os resultados foram classificados em códigos, de acordo com o proposto por *Price et al.* ³⁵⁵ (1982), expressos na Tabela 1.

TABELA 1 - Atividade enzimática conforme o P_z e o código, segundo *Price et al.* ³⁵⁵ (1982).

P_z	Atividade enzimática	Código
$= 1,00$	negativa	1
$\geq 0,64 < 1,00$	positiva	2
$\leq 0,64$	fortemente positiva	3

4.5 Pesquisa de anticorpos anti-*Candida* no soro, na saliva e no fluido gengival de pacientes com periodontite crônica do adulto

Foram pesquisados anticorpos IgA, IgG, IgM e IgE no soro e na saliva de pacientes com doença periodontal e nos controles. No material de sulco gengival ou bolsa periodontal foram pesquisados a presença de IgG, IgM e IgA. Para a pesquisa destas imunoglobulinas foi utilizada a técnica ELISA.

4.5.1 Preparo do antígeno de *Candida*

O antígeno foi preparado de acordo com o proposto por Gomez et al.¹⁴⁷ (1992), a partir de amostra de *C.albicans* (F72) isolada em nosso laboratório. A levedura foi semeada em caldo Sabouraud dextrose (Difco) e incubada a 37°C durante 72 horas sob agitação. A cultura foi centrifugada a 2.000 r.p.m./20 min., o sobrenadante desprezado e o sedimento suspenso em tampão PBS e centrifugado novamente. As células foram lavadas por mais 2 vezes seguindo-se o mesmo procedimento. A seguir o sedimento foi suspenso em tampão Tris 125 mM, pH 6.9, uréia 6M, mercaptoetanol 20 mM e Tween 20 a 1%, fervido durante 5 minutos e incubado de um dia para o outro a 4°C. O material solúvel foi separado por centrifugação (15.000 r.p.m./20 min.), dializado contra água bidestilada por 24 horas e a seguir liofilizado.

4.5.2 Preparo das amostras

As amostras de soro foram descongeladas imediatamente antes do uso, diluídos 1:100 em PBS-Tween-gelatina. As amostras de saliva foram diluídas 1:8 em PBS-Tween-gelatina.

A extração do material dos cones foi feita adicionando-se aos mesmos 50 µl de tampão citrato-ácido cítrico, agitado por 1 minuto, deixados em geladeira por 15 minutos, e o pH neutralizado com 25 µl tampão Tris 1M, pH 9.0. A seguir o volume foi completado para 300 µl com PBS Tween gelatina.

4.5.3 Técnica ELISA

Placas de polistireno, com 96 orifícios (Hemobag), foram sensibilizadas com 50 µl de antígeno (5 µg/ml) de *Candida* em tampão carbonato-bicarbonato pH 9.6, incubadas por 2 horas em estufa a 37°C e guardadas a 4°C até o uso. Antes do uso as placas foram lavadas com PBS e os sítios livres do polistireno bloqueados com 0,5% de gelatina em PBS, por 45 minutos a 37°C.

Após a incubação, as placas foram lavadas 4 vezes com PBS contendo 0,1% de Tween 20. As amostras previamente preparadas foram colocadas nos orifícios, em duplicata e as placas incubadas a 37°C por 2 horas e a 4°C por toda noite. No dia seguinte, as placas foram lavadas 5 vezes com PBS Tween gelatina e 50 µl do conjugado anti IgG, IgA, IgM e IgE humana (Sigma), marcada com peroxidase, foram adicionados aos orifícios, numa concentração de 1 µg/ml.

A atividade de peroxidase foi revelada utilizando-se o substrato ortofenilenodiamino (Sigma) 6mg em 12ml de tampão citrato-ácido

cítrico 0,1 M, pH 5.5 e adicionando-se 10 µl de H₂O₂ a 30%. A reação com o substrato (100 µl) foi desenvolvida por 5 a 30 minutos a temperatura ambiente e bloqueada com 50 µl de ácido sulfúrico 2N. As densidades ópticas (DO) foram lidas a 492 nm em leitor ELISA (Multiskan MCC/340 MKII). O controle positivo usado para a reação foi soro e saliva de paciente com candidose.

4.6 Análise estatística

A análise estatística para comparação entre os pacientes controle e com doença periodontal em relação ao estado de portador de leveduras do gênero *Candida* na saliva e sulca gengival, assim como a comparação na produção ou não das enzimas pelas amostras isoladas foi feita através do Teste Exato de Fisher, sendo considerado como significativo quando $p \leq 0,05$.

Para comparação entre médias das densidades ópticas obtidas para as imunoglobulinas, foi usado o Teste *t* de Student, sendo também considerado como significativo quando $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

Leveduras foram isoladas da cavidade bucal de 6 indivíduos (24%) do grupo controle (n=25). Em cinco indivíduos o gênero *Candida* foi encontrado na saliva, sendo 3 da espécie *C.albicans*, uma *C.parapsilosis* e uma *C.krusei*, conforme pode ser observado na Tabela 2. No sulco gengival, observou-se *C.albicans* em 2 pacientes e *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii* e *C.krusei* em um paciente respectivamente. Apenas em 1 indivíduo *C.albicans* foi isolada apenas da saliva, enquanto em outro *C.guilliermondii* foi observada apenas no sulco gengival.

TABELA 2 - Pacientes controle que apresentaram *Candida* na saliva e no sulco gengival e as respectivas denominações atribuídas às diferentes amostras isoladas.

SALIVA		SULCO GENGIVAL		
Pacientes*		Sítio 1	Sítio 2	Sítio 3
3	<i>C.parapsilosis</i> - C3a	---	---	<i>C.parapsilosis</i> - C3d
6	---	<i>C.guilliermondii</i> - C6b	<i>C.guilliermondii</i> - C6c	<i>C.guilliermondii</i> - C6d
9	<i>C.albicans</i> - C9a	---	---	---
15	<i>C.albicans</i> - C15a	<i>C.albicans</i> - C15b	<i>C.albicans</i> - C15c	<i>C.albicans</i> - C15d
23	<i>C.albicans</i> - C23a	<i>C.albicans</i> - C23b	<i>C.albicans</i> - C23c	<i>C.albicans</i> - C23d
25	<i>C.krusei</i> - C25a	<i>C.krusei</i> - C25a	---	<i>C.krusei</i> - C 25d

* n=25, citados apenas os pacientes que apresentaram leveduras.

Nos pacientes com periodontite crônica do adulto, 15 pacientes apresentaram *Candida* na saliva, sendo 13 *C.albicans*, 1 *C.guilliermondii* e 1 *C.glabrata* (Tabela 3). A *C.albicans* representou 86,6% das amostras isoladas, enquanto *C.guilliermondii* e *C.glabrata* foram encontradas em 6,7% das amostras respectivamente. Das 90 bolsas gengivais examinadas, 15 (16,66%) apresentaram *Candida*, sendo isoladas 14 amostras de *C.albicans* (representando 87,5% das amostras) e 2 de *C.tropicalis* (12,5%). Em apenas 1 paciente (nº 27) foram isoladas *C.albicans* e *C.tropicalis* de um único sítio.

Em 5 pacientes, *Candida* foi encontrada apenas na saliva (nºs 4, 14, 17, 19 e 20), sendo em 4 da espécie *C.albicans* e no paciente número 20 *C.guilliermondii*. Dos três sítios de doença periodontal examinados em cada paciente, 8 apresentaram *Candida* em 1, 2 em 2 sítios e 1 nos 3 sítios respectivamente. Em apenas 1 paciente (nº 30) foi encontrado *C.tropicalis* na bolsa periodontal, porém não foi encontrado leveduras na saliva.

Das 31 amostras isoladas da saliva e da bolsa gengival dos pacientes com periodontite crônica do adulto, 27 (87,1%) eram *C.albicans*, 2 (6,5%) *C.tropicalis*, 1 *C.guilliermondii* (3,2%) e 1 (3,2%) *C.glabrata*.

As médias e os desvios-padrão das UFC de leveduras por ml de saliva foi maior nos pacientes com periodontite crônica do adulto (353 ± 230 UFC/ml) em relação aos controles (265 ± 183 UFC/ml), porém esta diferença não foi estatisticamente significativa no teste *t* de Student.

TABELA 3 - Pacientes com periodontite crônica do adulto que apresentaram *Candida* na saliva e em 3 sítios de bolsa periodontal e as respectivas denominações atribuídas às diferentes amostras isoladas.

Pacientes*	Saliva	BOLSA PERIODONTAL		
		Sítio 1	Sítio 2	Sítio 3
1	<i>C.albicans</i> -DP 1a	---	<i>C.albicans</i> -DP 1c	---
3	<i>C.albicans</i> -DP 3a	<i>C.albicans</i> -DP 3b	<i>C.albicans</i> -DP 3c	---
4	<i>C.albicans</i> -DP 4a	---	---	---
6	<i>C.albicans</i> -DP 6a	---	<i>C.albicans</i> -DP 6c	---
7	<i>C.albicans</i> -DP 7a	<i>C.albicans</i> -DP 7b	<i>C.albicans</i> -DP 7c	<i>C.albicans</i> -DP 7d
14	<i>C.albicans</i> -DP14a	---	---	---
16	<i>C.albicans</i> -DP16a	<i>C.albicans</i> -DP16b	---	---
17	<i>C.albicans</i> -DP17a	---	---	---
18	<i>C.albicans</i> -DP18a	---	---	<i>C.albicans</i> -DP18d
19	<i>C.albicans</i> -DP19a	---	---	---
20	<i>C.guilliermondii</i> -DP20a	---	---	---
21	<i>C.albicans</i> -DP21a	---	---	<i>C.albicans</i> -DP21d
23	<i>C.albicans</i> -DP23a	<i>C.albicans</i> -DP23b	---	<i>C.albicans</i> -DP23d1 <i>C.tropicalis</i> -DP23d2
27	<i>C.albicans</i> -DP27a	<i>C.albicans</i> -DP27b	---	---
28	<i>C.glabrata</i> -DP28a	---	<i>C.albicans</i> -DP28c	---
30	---	---	---	<i>C.tropicalis</i> -DP30d

* n= 30, citados apenas os pacientes que apresentaram leveduras.

Na Tabela 4 estão expressos os percentuais de isolamento do gênero *Candida* na saliva e fluido gengival dos indivíduos controle e dos pacientes com periodontite. O percentual de isolamento de *Candida* foi maior e significativo na saliva de pacientes com periodontite em relação aos controles. Para o sulco gengival/bolsa periodontal, apesar do isolamento ter sido maior nos pacientes com periodontite, a diferença não apresentou-se estatisticamente significativa.

TABELA 4 - Número de pacientes que apresentaram leveduras do gênero *Candida* na saliva e sulco gengival e o respectivo percentual de isolamento. São também apresentados os valores de z e p obtidos através do teste exato de Fisher, na comparação entre os pacientes controle e com periodontite crônica do adulto.

MATERIAL	CONTROLE (n=25)		PERIODONTITE (n=30)		z	p
	Presença <i>Candida</i>	% Isolamento	Presença <i>Candida</i>	% Isolamento		
SALIVA	5	20	15	50	2,021	0,021*
FLUIDO GENGIVAL	5	20	12	40	1,305	0,096

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).

A produção de enzimas pelas amostras de *Candida* isoladas dos indivíduos com sulco gengival saudável encontram-se na Tabela 5 e dos pacientes com periodontite crônica do adulto na Tabela 6. Nestas Tabelas estão representados os valores de produção de enzimas em PZ, que representa a razão da divisão do diâmetro da colônia pela soma do diâmetro da colônia e do diâmetro do halo de atividade enzimática medidos em milímetros. Assim, quanto menor o valor de PZ, maior a atividade enzimática da amostra, enquanto PZ=1,00, significa não produção de enzima. O grau de atividade enzimática (GAE) foi baseado em Price et al.³⁵⁵ (1982), conforme tabela 1 (p.70), considerando-se 1 quando negativo, 2 positivo e 3 fortemente positivo.

O percentual de amostras com atividade enzimática fortemente positiva apresentou resultados superiores no sulco gengival dos pacientes com periodontite em relação aos controles, porém sem significância estatística, conforme pode ser observado na Tabela 7. Considerando-se o número de amostras produtoras ou não produtoras das diferentes enzimas, também não se observa diferença estatística entre os pacientes com periodontite em relação aos controles (Tabela 8).

O número de enzimas que as amostras de *Candida* isoladas produziram estão expressos na Tabela 9. Apenas 1 amostra dos pacientes com periodontite (3,2%) e dos controles (5,9%) não produziram enzimas, enquanto 58,1% das amostras do grupo periodontite e 41,2% dos controles produziram as 4 enzimas pesquisadas.

TABELA 5 - Produção de proteinase, condroitin sulfatase, hialuronidase e fosfolipase (PZ) e atividade enzimática (GAE) de amostras de *Candida* isoladas de indivíduos com periodonto saudável.

Espécie/Amostra	Proteinase		Condroitin sulfatase		Hialuronidase		Fosfolipase	
	PZ	GAE	PZ	GAE	PZ	GAE	PZ	GAE
<i>C.parapsilosis</i> C3a	0,64	2	0,72	2	1,00	1	0,51	3
<i>C.parapsilosis</i> C3d	0,73	2	1,00	1	1,00	1	0,50	3
<i>C.guilliermondii</i> C6b	0,50	3	0,77	2	0,86	2	0,48	3
<i>C.guilliermondii</i> C6c	0,51	3	0,69	2	0,77	2	0,72	2
<i>C.guilliermondii</i> C6d	1,00	1	1,00	1	0,80	2	0,95	2
<i>C.albicans</i> C9a	0,46	3	0,82	2	0,52	3	0,64	2
<i>C.albicans</i> C15a	0,95	2	1,00	1	0,85	2	1,00	1
<i>C.albicans</i> C15b	1,00	1	0,58	3	1,00	1	0,56	3
<i>C.albicans</i> C15c	0,82	2	0,72	2	0,65	2	0,60	3
<i>C.albicans</i> C15d	0,72	2	0,62	3	0,81	2	0,77	2
<i>C.albicans</i> C23a	0,68	2	0,84	2	0,82	2	0,82	2
<i>C.albicans</i> C23b	1,00	1	1,00	1	1,00	1	1,00	1
<i>C.albicans</i> C23c	0,76	2	1,00	1	0,75	2	0,72	2
<i>C.albicans</i> C23d	0,89	2	1,00	1	1,00	1	1,00	1
<i>C.albicans</i> C25a	1,00	1	1,00	1	0,76	2	0,66	2
<i>C.krusei</i> C25a	0,66	2	0,69	2	0,66	2	0,79	2
<i>C.krusei</i> C25b	0,76	2	0,75	2	1,00	1	0,69	2

PZ - razão da divisão do diâmetro da colônia pelo diâmetro total da colônia mais o halo formado.

GAE - Grau de atividade enzimática: 1) negativo, 2) positivo, 3) fortemente positivo.

TABELA 6 - Produção de proteinase, condroitin sulfatase, hialuronidase e fosfolipase (PZ) e atividade enzimática (GAE) por amostras de *Candida* isoladas de pacientes com periodontite crônica do adulto.

Espécie/Amostra	Proteinase		Condroitin		Hialuronidase		Fosfolipase	
	PZ	GAE	PZ	GAE	PZ	GAE	PZ	GAE
<i>C.albicans</i> DP1a	0,83	2	0,51	3	0,62	3	0,66	2
<i>C.albicans</i> DP1c	0,58	3	0,86	2	0,82	2	0,47	3
<i>C.albicans</i> DP3a	0,58	3	0,68	2	0,86	2	0,58	3
<i>C.albicans</i> DP3b	1,00	1	1,00	1	0,86	2	0,61	3
<i>C.albicans</i> DP3c	1,00	1	0,60	3	0,87	2	0,56	3
<i>C.albicans</i> DP4a	0,76	2	0,72	2	0,85	2	0,53	3
<i>C.albicans</i> DP6a	0,71	2	0,69	2	0,58	3	0,87	2
<i>C.albicans</i> DP6c	0,63	3	0,57	3	0,75	2	0,46	3
<i>C.albicans</i> DP7a	0,61	3	1,00	1	0,89	2	1,00	1
<i>C.albicans</i> DP7b	0,84	2	0,59	3	1,00	1	0,66	2
<i>C.albicans</i> DP7c	0,50	3	1,00	1	1,00	1	0,67	2
<i>C.albicans</i> DP7d	0,37	3	0,53	3	0,61	3	0,67	2
<i>C.albicans</i> DP14a	0,80	2	0,57	3	0,63	3	0,80	2
<i>C.albicans</i> DP16a	0,62	3	0,63	3	0,71	2	0,44	3
<i>C.albicans</i> DP16b	1,00	1	0,83	2	0,55	3	0,46	3
<i>C.albicans</i> DP17a	0,59	3	0,68	2	0,64	2	0,71	2
<i>C.albicans</i> DP18a	0,89	1	0,29	3	0,73	2	0,48	3
<i>C.albicans</i> DP18d	0,48	3	0,55	3	0,74	2	0,41	3
<i>C.albicans</i> DP19a	0,52	3	0,83	2	0,77	2	0,47	3
<i>C.guilliermondii</i> DP20a	0,68	2	0,48	3	0,85	2	0,50	3
<i>C.albicans</i> DP21a	0,45	3	0,49	3	0,58	3	0,82	2
<i>C.albicans</i> DP21d	0,62	3	1,00	1	0,81	2	0,54	3
<i>C.albicans</i> DP23a	1,00	1	1,00	1	1,00	1	1,00	1
<i>C.albicans</i> DP23b	0,60	3	0,77	2	1,00	1	0,50	3
<i>C.albicans</i> DP23d/1	0,50	3	0,92	2	0,52	3	0,47	3
<i>C.tropicalis</i> DP23d/1	1,00	1	1,00	1	1,00	1	0,41	3
<i>C.albicans</i> DP27a	0,47	3	0,85	2	1,00	1	0,57	3
<i>C.albicans</i> DP27b	0,44	3	0,60	3	0,78	2	0,50	3
<i>C.glabrata</i> DP28a	0,44	3	0,60	3	0,78	2	0,50	3
<i>C.albicans</i> DP28c	1,00	1	0,77	2	0,80	2	0,44	3
<i>C.tropicalis</i> DP30d	0,51	3	0,92	2	0,46	3	0,51	3

PZ - razão da divisão do diâmetro da colônia pelo diâmetro total da colônia mais halo formado.

GAE - Grau de atividade enzimática: 1) negativo, 2) positivo, 3) fortemente positivo.

TABELA 7 - Percentual de amostras de *Candida* produtoras de proteinase, condroitin sulfatase, hialuronidase e fosfolipase isoladas da saliva e do sulco gengival de indivíduos com periodonto saudável e pacientes com periodontite crônica do adulto, de acordo com o grau de atividade enzimática.

ENZIMAS	CONTROLE			DOENÇA PERIODONTAL		
	Saliva (n=5)	Sulco (n=12)	TOTAL (n=17)	Saliva (n=15)	Sulco (n=16)	TOTAL (n=31)
PROTEINASE						
Negativo	20.0	25.0	23.6	13.4	31.2	22.6
Positivo	60.0	58.3	58.8	33.3	6.3	19.3
Forte/ Positivo	20.0	16.7	17.6	53.3	62.5	58.1
CONDROITIN SULFATASE						
Negativo	40.0	41.7	41.2	13.4	25.0	19.4
Positivo	60.0	41.7	47.0	40.0	37.5	38.7
Forte/ Positivo	00.0	16.6	11.8	46.6	37.5	41.9
HIALURONIDASE						
Negativo	20.0	41.7	35.3	13.4	25.0	19.4
Positivo	60.0	58.3	58.8	60.0	50.0	54.8
Forte/ Positivo	20.0	00.0	5.9	26.6	25.0	25.8
FOSFOLIPASE						
Negativo	20.0	16.6	17.7	13.4	00.0	6.5
Positivo	60.0	50.0	52.9	33.3	18.7	25.8
Forte/ Positivo	20.0	33.4	29.4	53.3	81.3	67.7

TABELA 8 - Número de amostras produtoras (positivas) e não produtoras (negativas) de proteinase, condroitin-sulfatase, hialuronidase e fosfolipase isoladas da saliva e do sulco gengival de pacientes controle e com periodontite crônica do adulto. São também apresentados os valores de z e p obtidos através do teste exato de Fisher, na comparação entre os dois grupos, não sendo encontradas diferenças significantes..

AMOSTRAS	CONTROLE(n=25)		PERIODONTITE (n=30)		z	p
ENZIMAS	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas		
SALIVA						
- Proteinase	4	1	13	2	0,362	0,359
-Condroitin-sulfatase	3	2	13	2	0,645	0,259
- Hialuronidase	4	1	13	2	0,362	0,359
- Fosfolipase	4	1	13	2	0,362	0,359
FLUIDO GENGIVAL						
- Proteinase	9	3	11	5	0,060	0,476
-Condroitin-sulfatase	7	5	12	4	0,562	0,299
- Hialuronidase	7	5	12	4	0,526	0,299
- Fosfolipase	10	2	13	3	0,953	0,170

Diferença estatística quando $p \leq 0,05$.

TABELA 9 - Número de amostras e percentual de leveduras do gênero *Candida* isoladas da saliva e do sulco gengival de pacientes controle e com doença periodontal que produziram 1, 2, 3 e/ou 4 das enzimas pesquisadas (proteínase, condroitin sulfatase, hialuronidase e fosfolipase).

Número de Enzimas	Controle (n=17)		Doença Periodontal (n=31)	
	nº	%	nº	%
0	1	5.9	1	3.2
1	1	5.9	1	3.2
2	5	29.4	3	9.7
3	3	17.6	8	25.8
4	7	41.2	18	58.1

As médias das densidades ópticas (DO) encontradas na pesquisa de imunoglobulinas anti-*Candida* na saliva e no soro dos indivíduos controle e pacientes com periodontite encontram-se na Tabela 10. Os níveis de IgG, IgM e IgA na saliva, foram maiores e estatisticamente significantes nos pacientes com periodontite em relação aos controles. O aumento mais acentuado foi de IgG (22 vezes) seguida por IgM (4,4 vezes), IgA (2,6 vezes) e IgE (2,1 vezes). No soro, IgG e IgA também apresentaram-se em valores mais elevados nos pacientes com periodontite, entretanto a IgM anti-*Candida* apresentou-se em níveis maiores e significantes nos controles em relação aos pacientes com doença periodontal. Apenas para IgE,

apesar das DO serem mais elevadas nos pacientes com periodontite, as diferenças não foram significantes tanto na saliva como no soro.

Em relação aos isótipos de imunoglobulinas anti-*Candida* no soro, IgG foi mais elevada, seguida por IgM, IgA e IgE nos pacientes com periodontite, enquanto nos controles, a IgM revelou maiores resultados, seguida por IgG, IgA e IgE. Na saliva dos pacientes com periodontite, predominou IgG, seguida por IgA, IgM e IgE. Para os controles, IgA predominou na saliva, seguida pela IgM, IgG e IgE.

TABELA 10 - Médias e desvio padrão das densidades ópticas (DO) para as imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE anti-*Candida* na saliva e no soro de indivíduos com sulco gengival saudável e pacientes com periodontite crônica do adulto, através da reação ELISA. São também apresentados os valores de *t* obtidos através do teste de *Student*, os graus de liberdade (*g*) e os valores de *p*.

IMUNO- GLOBULINAS	CONTROLES(n=25) DO	PERIODONTITE(n=30) DO	<i>t</i>	<i>g</i>	<i>p</i>
SALIVA					
IgG	21,88 ± 22,46	489,06 ± 531,44	4,81	29	0,00*
IgM	38,60 ± 29,78	171,70 ± 137,20	5,17	32	0,00*
IgA	109,00 ± 60,09	294,43 ± 209,68	4,62	34	0,00*
IgE	8,88 ± 13,73	19,10 ± 18,86	0,14	53	0,90
SORO					
IgG	460,68 ± 256,67	909,56 ± 353,61	5,23	53	0,00*
IgM	602,20 ± 230,04	462,10 ± 182,50	2,46	53	0,00*
IgA	116,16 ± 87,38	302,56 ± 251,53	3,79	37	0,00*
IgE	17,32 ± 24,67	36,70 ± 48,50	1,87	44	0,09

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).

No sulco gengival, não foram observadas diferenças estatísticas nas DO encontradas para as imunoglobulinas anti-*Candida* entre os 3 sítios pesquisados, tanto nos controles como nos pacientes com periodontite crônica do adulto (Tabela 11). As médias dos 3 sítios para IgG e IgM foram superiores e estatisticamente significantes nos pacientes com periodontite. Para IgA, apesar de superior, a média das DO obtidas não apresentaram diferença estatística. Em relação aos isótipos, a IgG foi encontrada em níveis mais elevados, seguida pela IgA e finalmente IgM.

Na Tabela 12, estão expressas as medianas das DO obtidas para a pesquisa de anticorpos anti-*Candida* na saliva, soro e fluido gengival. Apenas para IgM no soro, a mediana foi maior nos controles. Nas demais imunoglobulinas e materiais, as medianas foram pelo menos 2 vezes maiores nos pacientes com periodontite em relação aos controles, exceção para a IgG no soro que foi de 1,9 vezes maior no grupo com periodontite.

TABELA 11 - Médias e desvio-padrão das densidades ópticas para imunoglobulinas IgG, IgM e IgA anti-*Candida* encontradas em três sítios de sulco gengival de indivíduos com periodonto saudável e de pacientes com doença periodontite crônica do adulto. São também apresentados os valores de t obtidos através do teste de *Student*, os graus de liberdade e os valores de p. Não ocorreram diferenças estatisticamente significantes entre os sítios, em ambos os grupos.

SÍTIOS	IgG	IgM	IgA
CONTROLES (n=25)			
Sítio 1	11,64 ± 15,58	4,04 ± 6,28	6,92 ± 6,38
Sítio 2	20,24 ± 22,28	4,48 ± 4,48	8,84 ± 8,09
Sítio 3	10,20 ± 11,78	2,80 ± 2,76	10,76 ± 10,76
Média	13,90 ± 12,43	3,75 ± 3,53	8,97 ± 6,04
PERIODONTITE (n=30)			
Sítio 1	121,20 ± 140,28	17,83 ± 19,81	13,96 ± 13,91
Sítio 2	151,33 ± 190,19	8,06 ± 8,08	14,10 ± 11,74
Sítio 3	140,33 ± 101,26	13,66 ± 11,86	14,80 ± 14,79
Média	138,73 ± 128,14	13,17 ± 9,98	14,26 ± 11,03
COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS			
t	5,30	4,30	1,84
g	30	53	41
p	0,00*	0,00*	0,09

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

TABELA 12 - Medianas dos níveis de imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE encontradas na saliva, soro e fluido gengival de indivíduos com periodonto saudável e pacientes com periodontite crônica do adulto. São também apresentados os percentuais de aumento das médias e desvios-padrão das pacientes com periodontite crônica do adulto, considerando-se a média dos controles como 100%.

IMUNOGLOBULINAS	MEDIANA CONTROLES (n=25)	MEDIANA PERIODONTITE (n=30)	% DE AUMENTO DAS MÉDIAS
IgG			
Saliva	11	391	$2\ 235 \pm 2\ 429$
Soro	461	915	197 ± 77
Fluido gengival	14	96	998 ± 921
IgM			
Saliva	38	155	445 ± 356
Soro	544	458	76 ± 30
Fluido gengival	2	13	349 ± 268
IgA			
Saliva	95	251	270 ± 192
Soro	94	268	346 ± 288
Fluido gengival	6	14	159 ± 123
IgE			
Saliva	4	13	215 ± 121
Soro	1	21	211 ± 280

As densidades ópticas dos níveis de imunoglobulinas anti-*Candida* obtidos na saliva (Figura 1), soro (Figura 2) e fluido gengival (Figura 3) de pacientes com periodontite crônica do adulto, foram representados graficamente para facilitar a visualização dos resultados. Os valores numéricos correspondentes encontram-se nas tabelas 16 a 29 do Anexo (p.185 a 198). Nestas figuras, cada ponto representa a média da densidade óptica (DO) de duas leituras realizadas em espectrofotômetro obtidas através de reação ELISA, já descontados os valores do branco. A linha contínua representa a média dos controles e a linha pontilhada a média dos controles somada a dois desvios-padrão.

Os níveis de anticorpo anti-*Candida* da classe IgG na saliva apresentaram valores superiores a dos pacientes com periodonto saudável para todos os pacientes, sendo inferior a média + 2 desvios-padrão dos controles em apenas 1 paciente (Figura 1). Para IgM, 20 pacientes com periodontite apresentaram valores de DO superiores e expressivos, enquanto em apenas 1, o valor da DO foi inferior à média dos controles. Os valores de IgA anti-*Candida* na saliva foram maiores e expressivos em 17 pacientes com periodontite, enquanto para a IgE tais valores foram expressivos em apenas 6 destes pacientes.

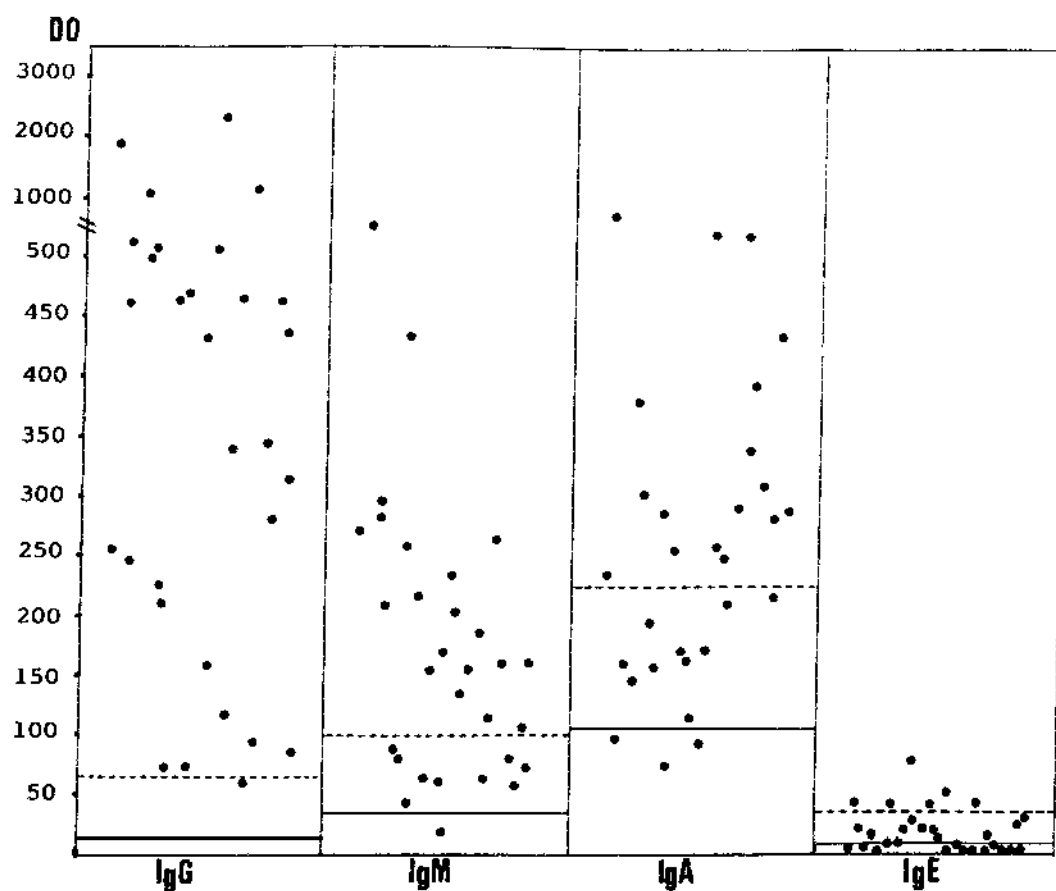


FIGURA 1 - Níveis de imunoglobulinas anti-*Candida* das classes IgG, IgM, IgA e IgE, obtidas na saliva de pacientes com periodontite crônica do adulto ($n = 30$) através de reação ELISA. Cada ponto representa um paciente, a linha contínua a média dos controles e a linha pontilhada a média dos controles somada a dois desvios-padrão. As leituras foram feitas em 492 nm.

No soro, 14 dos pacientes com periodontite crônica do adulto apresentaram valores maiores e expressivos de IgG e IgA anti-*Candida* em relação aos controles (Figura 2), enquanto para IgE estes valores foram expressivos apenas em 6 pacientes. A maioria dos pacientes (25) demonstrou valores menores que a média dos controles para IgM anti-*Candida* no soro.

Na pesquisa de anticorpos anti-*Candida* no fluido da bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica do adulto, os resultados demonstraram aumento expressivo de IgG, já que 25 pacientes apresentaram valores muito superiores aos controles, enquanto em apenas 1, o valor da DO foi abaixo da média. Considerando-se IgM e IgA, 16 e 7 pacientes tiveram aumento expressivo destes anticorpos no fluido gengival respectivamente.

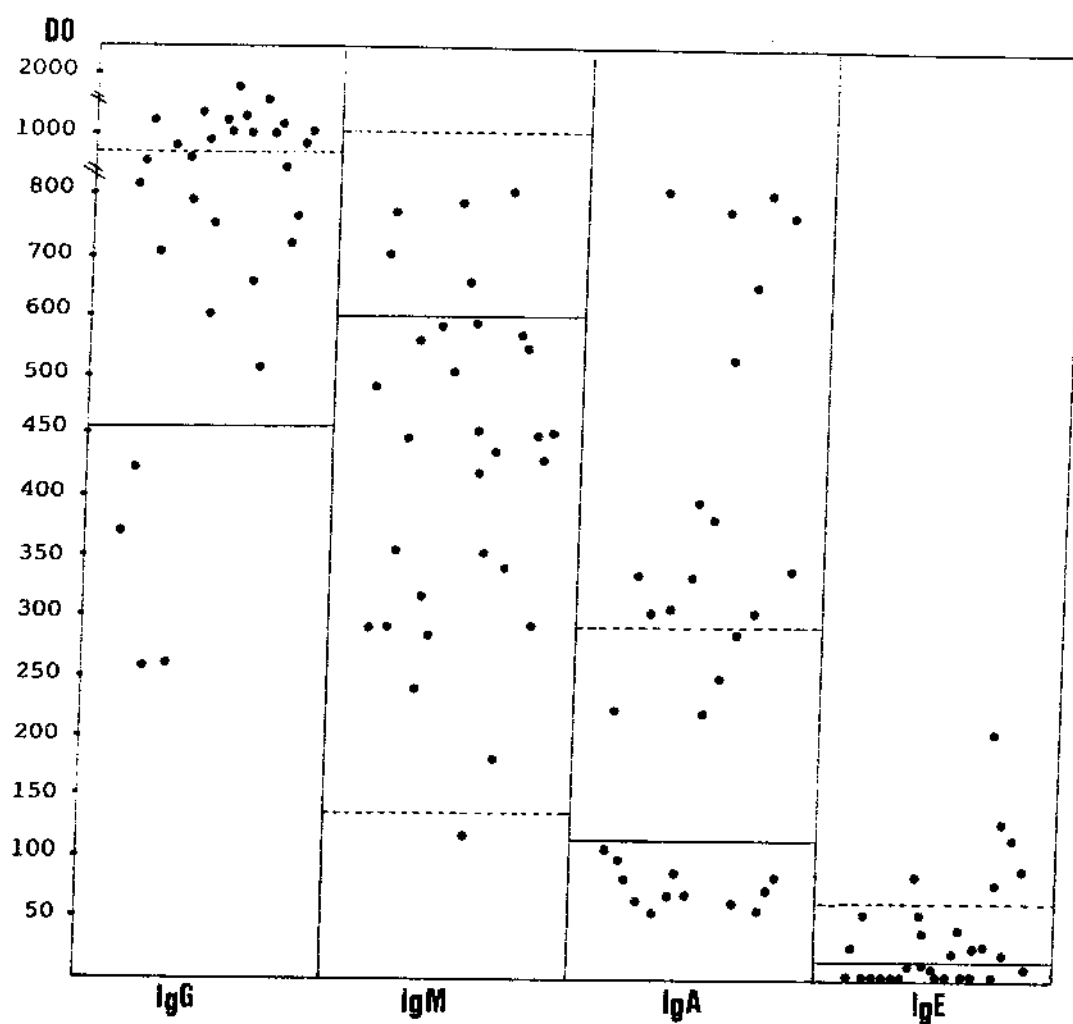


FIGURA 2 - Níveis de imunoglobulinas anti-*Candida* das classes IgG, IgM, IgA e IgE, obtidas no soro de pacientes com periodontite crônica do adulto (n=30) através de reação ELISA. Cada ponto representa um paciente, a linha contínua a média dos controles e a linha pontilhada a média dos controles somada a dois desvios-padrão. As leituras foram feitas em 492 nm.

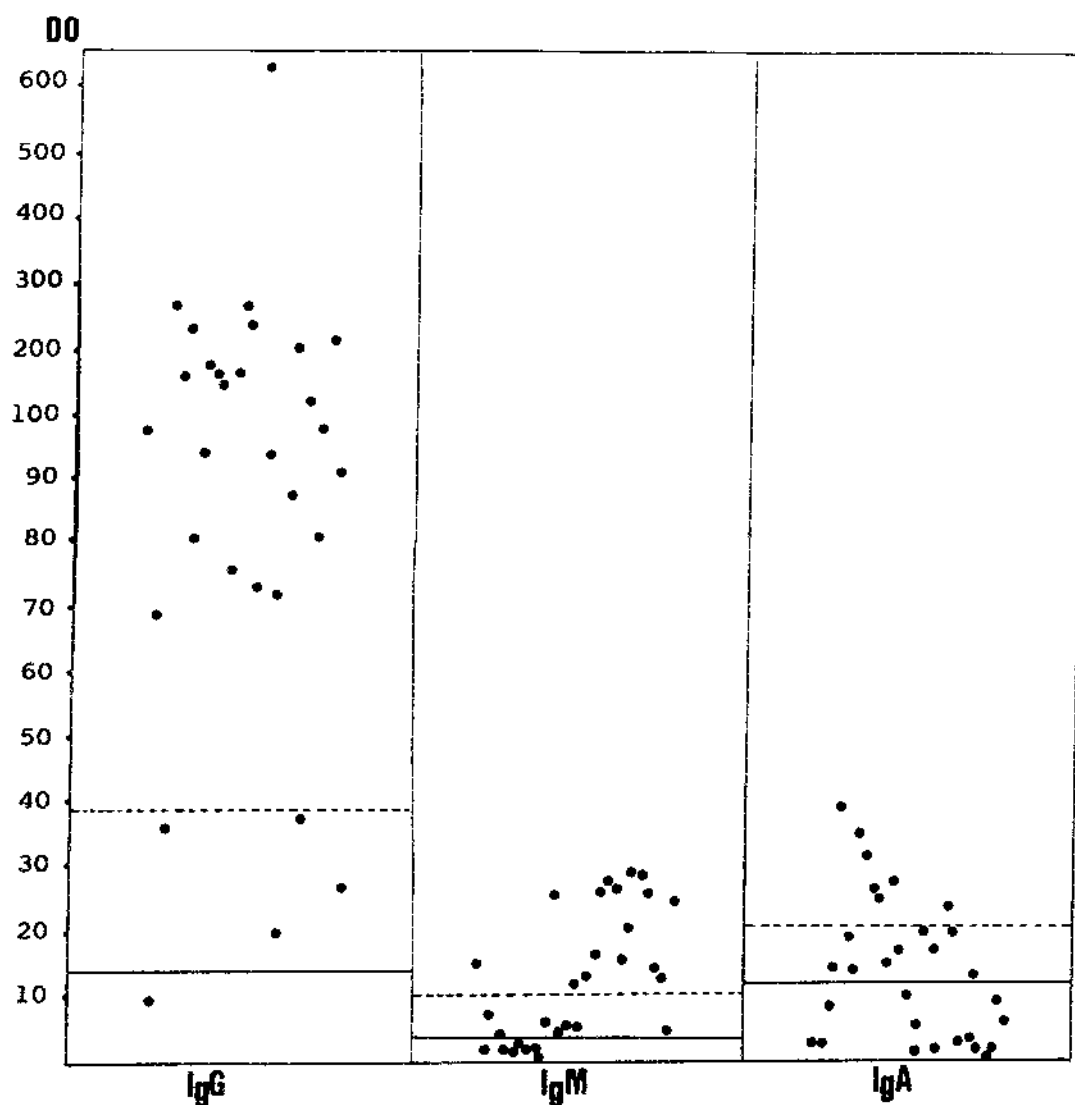


FIGURA 3 - Níveis de imunoglobulinas anti-*Candida* das classes IgG, IgM e IgA, obtidas de fluido da bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica do adulto ($n = 30$) através de reação ELISA. Cada ponto representa um paciente, a linha contínua a média dos controles e a linha pontilhada a média dos controles somada a dois desvios-padrão. As leituras foram feitas em 492 nm.

Comparando-se os níveis de imunoglobulinas encontradas na saliva dos controles e dos pacientes com periodontite, de acordo com a presença ou não de leveduras do gênero *Candida* verificamos (Tabela 13): para IgG e IgM anti-*Candida*, sempre que foi feita comparação entre periodontite e controles, os resultados foram maiores e com significância estatística para os pacientes com periodontite, independentemente da presença de *Candida*. Para IgA, observou-se diferença apenas quando da comparação de indivíduos controles sem *Candida* com pacientes com periodontite, com ou sem presença de *Candida*. Por outro lado, para IgE, a diferença apresentou-se significativa quando da comparação de periodontite sem *Candida* com controles que apresentavam ou não a levedura. Quando foram comparados os grupos controle e periodontite entre si, não foram observadas diferenças estatísticas para todas as classes de anticorpos (IgG, IgM, IgA e IgE).

Na Tabela 14, são observados os níveis de IgG, IgM, IgA e IgE no soro de pacientes controle e com periodontite, também de acordo com a presença ou não de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal. Para IgG, os resultados foram semelhantes aos da saliva (Tabela 13), ou seja, foram observadas diferenças estatísticas quando da comparação entre controles e com periodontite, independentemente da presença de *Candida*. Para IgM, as DO foram maiores e significantes no grupo controle em relação aos pacientes com periodontite.

Os níveis de IgA anti-*Candida* (Tabela 14) foram maiores sempre no grupo com periodontite, não sendo significativa apenas quando da

comparação dos controle sem *Candida* com periodontite com *Candida*. Para esta imunoglobulina, observou-se diferença entre os controles, sendo a mesma maior e significativa para os controles sem *Candida*. Para a IgE no soro, diferenças foram observadas entre os controles e entre os controles e periodontite sem *Candida*, com resultados maiores para os grupos que não apresentaram a levedura. Na comparação entre os grupos com periodontite, não foram observadas diferenças para todas as imunoglobulinas.

As comparações entre os anticorpos IgG, IgM e IgA no fluido do sulco gengival encontram-se na Tabela 15. A IgG e IgM apresentaram-se em níveis mais altos nos pacientes com periodontite, independente da presença ou não de *Candida*. Na comparação dos grupos controle e periodontite entre si, não foram observadas diferenças significantes. O nível de IgA, foi maior e significativo na comparação do grupo controle com o grupo periodontite que não apresentavam *Candida*. Os níveis de IgA no fluido gengival foram também maiores e significantes nos pacientes com periodontite que não apresentavam *Candida* em relação aos com periodontite e *Candida*.

TABELA 13 - Médias e desvios-padrão (DP) dos níveis (DO) de imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE encontradas na saliva de indivíduos com periodonto saudável e pacientes com periodontite, de acordo com a presença ou não de leveduras do gênero *Candida*. Estão também expressos os valores de t obtidos através do teste de Student, os graus de liberdade, e os valores de p na comparação entre as médias.

Comparação	(Média±DP)1	(Média±DP)2	t	g	p
IgG					
(CCC)1 X (CSC)2	17,00 ± 24,25	23,24 ± 22,34	0,57	23	0,58
(CCC)1 X (PCC)2	17,00 ± 24,25	558,37 ± 587,18	3,68	21	0,00*
(CCC)1 X (PSC)2	17,00 ± 24,25	409,86 ± 468,56	3,13	18	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	23,24 ± 22,34	558,37 ± 587,18	3,64	15	0,00*
(CSC)1 X (PSC)2	23,24 ± 22,34	409,86 ± 468,56	3,08	13	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	558,37 ± 587,18	409,86 ± 468,56	0,74	28	0,48
IgM					
(CCC)1 X (CSC)2	51,16 ± 38,55	34,63 ± 26,47	1,19	23	0,26
(CCC)1 X (PCC)2	51,16 ± 38,55	158,50 ± 86,04	4,03	19	0,00*
(CCC)1 X (PSC)2	51,16 ± 38,55	186,78 ± 181,63	2,59	15	0,04*
(CSC)1 X (PCC)2	34,63 ± 26,47	158,50 ± 86,04	5,54	17	0,00*
(CSC)1 X (PSC)2	34,63 ± 26,47	186,78 ± 181,63	3,11	14	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	158,50 ± 86,04	186,78 ± 181,63	0,53	18	0,62
IgA					
(CCC)1 X (CSC)2	153,33 ± 150,10	105,56 ± 56,95	0,78	6	0,48
(CCC)1 X (PCC)2	153,33 ± 150,10	299,12 ± 224,38	1,82	20	0,16
(CCC)1 X (PSC)2	153,33 ± 150,10	281,93 ± 200,81	1,78	18	0,11
(CSC)1 X (PCC)2	105,56 ± 56,95	299,12 ± 224,38	3,41	17	0,00*
(CSC)1 X (PSC)2	105,56 ± 56,95	281,93 ± 200,81	3,86	31	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	299,12 ± 224,38	281,93 ± 200,81	0,22	28	0,84
IgE					
(CCC)1 X (CSC)2	5,16 ± 4,12	10,05 ± 15,52	1,24	23	0,24
(CCC)1 X (PCC)2	5,16 ± 4,12	13,62 ± 16,23	1,46	20	0,16
(CCC)1 X (PSC)2	5,16 ± 4,12	25,36 ± 20,27	2,89	17	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	10,05 ± 15,52	13,62 ± 16,23	0,12	31	0,92
(CSC)1 X (PSC)2	10,05 ± 15,52	25,36 ± 20,27	2,46	31	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	13,62 ± 16,23	25,36 ± 20,27	1,76	28	0,11

CCC : Controle Com *Candida* (n= 6)

PCC : Periodontite Com *Candida* (n=16)

CSC : Controle Sem *Candida* (n=19)

PSC : Periodontite Sem *Candida* (n=14)

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

TABELA 14 - Médias e desvios-padrão (DP) dos níveis (DO) de imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE encontradas no soro de indivíduos com periodonto saudável e pacientes com periodontite, de acordo com a presença ou não de leveduras do gênero *Candida*. Estão também expressos os valores de *t* obtidos através do teste de *Student*, os graus de liberdade, e os valores de *p* na comparação entre as médias.

Comparação	(Média±DP)1	(Média±DP)2	t	g	p
IgG					
(CCC)1 X (CSC)2	329,17 ± 150,78	502,21 ± 271,92	1,47	18	0,16
(CCC)1 X (PCC)2	329,17 ± 150,78	901,25 ± 411,18	3,28	20	0,00*
(CCC)1 X (PSC)2	329,17 ± 150,78	919,07 ± 289,28	4,15	18	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	502,21 ± 271,92	901,25 ± 411,18	2,28	33	0,04*
(CSC)1 X (PSC)2	502,21 ± 271,92	919,07 ± 289,28	4,24	31	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	901,25 ± 411,18	919,07 ± 289,28	0,14	27	0,90
IgM					
(CCC)1 X (CSC)2	627,17 ± 182,16	594,32 ± 247,13	0,29	18	0,58
(CCC)1 X (PCC)2	627,17 ± 182,16	504,87 ± 170,16	1,42	20	0,18
(CCC)1 X (PSC)2	627,17 ± 182,16	412,86 ± 190,04	3,16	18	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	594,32 ± 247,13	504,87 ± 170,16	1,22	33	0,24
(CSC)1 X (PSC)2	594,32 ± 247,13	412,86 ± 190,04	2,29	31	0,04*
(PCC)1 X (PSC)2	504,87 ± 170,16	412,86 ± 190,04	1,40	28	0,18
IgA					
(CCC)1 X (CSC)2	68,66 ± 39,56	162,26 ± 150,99	2,45	23	0,04*
(CCC)1 X (PCC)2	68,66 ± 39,56	289,31 ± 219,61	3,85	17	0,00*
(CCC)1 X (PSC)2	68,66 ± 39,56	317,71 ± 291,60	3,72	18	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	162,26 ± 150,99	289,31 ± 219,61	2,02	33	0,06
(CSC)1 X (PSC)2	162,26 ± 150,99	317,71 ± 291,60	5,14	31	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	289,31 ± 219,61	317,71 ± 291,60	0,29	28	0,58
IgE					
(CCC)1 X (CSC)2	4,17 ± 7,76	21,94 ± 26,51	2,59	23	0,00*
(CCC)1 X (PCC)2	4,17 ± 7,76	21,81 ± 31,17	2,09	19	0,06
(CCC)1 X (PSC)2	4,17 ± 7,76	53,71 ± 59,52	3,06	14	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	21,94 ± 26,51	21,81 ± 31,17	0,02	33	1,04
(CSC)1 X (PSC)2	21,94 ± 26,51	53,71 ± 59,52	1,86	18	0,06
(PCC)1 X (PSC)2	21,81 ± 31,17	53,71 ± 59,52	1,80	19	0,08

CCC : Controle Com *Candida* (n=6)

PCC : Periodontite Com *Candida* (n=16)

CSC : Controle Sem *Candida* (n=19)

PSC : Periodontite Sem *Candida* (n=14)

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).

TABELA 15 - Médias e desvios-padrão dos níveis (DO) de imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE encontradas no fluido gengival de indivíduos com periodonto saudável e pacientes com periodontite, de acordo com a presença ou não de leveduras do gênero *Candida*. Estão também expressos os valores de t obtidos através do teste de Student, os graus de liberdade, e os valores de p na comparação entre as médias.

Comparação	(Média±DP)1	(Média±DP)2	t	g	p
IgG					
(CCC)1 X (CSC)2	7,83 ± 7,87	15,82 ± 13,14	1,40	23	0,18
(CCC)1 X (PCC)2	7,83 ± 7,87	155,02 ± 161,66	3,79	16	0,00*
(CCC)1 X (PSC)2	7,83 ± 7,87	120,12 ± 76,01	5,46	15	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	15,82 ± 13,14	155,02 ± 161,66	5,08	15	0,00*
(CSC)1 X (PSC)2	15,82 ± 13,14	120,12 ± 76,01	5,06	15	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	155,02 ± 161,66	120,12 ± 76,01	0,77	22	0,46
IgM					
(CCC)1 X (CSC)2	4,77 ± 4,32	3,43 ± 3,32	0,79	23	0,44
(CCC)1 X (PCC)2	4,77 ± 4,32	14,39 ± 9,13	3,35	19	0,00*
(CCC)1 X (PSC)2	4,77 ± 4,32	11,78 ± 11,05	6,52	18	0,00*
(CSC)1 X (PCC)2	3,43 ± 3,32	14,39 ± 9,13	4,56	18	0,00*
(CSC)1 X (PSC)2	3,43 ± 3,32	11,78 ± 11,05	2,74	15	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	14,39 ± 9,13	11,78 ± 11,05	0,70	28	0,51
IgA					
(CCC)1 X (CSC)2	7,72 ± 6,72	9,36 ± 5,95	0,57	23	0,58
(CCC)1 X (PCC)2	7,72 ± 6,72	10,20 ± 7,96	0,64	23	0,54
(CCC)1 X (PSC)2	7,72 ± 6,72	18,90 ± 12,45	2,05	18	0,06
(CSC)1 X (PCC)2	9,36 ± 5,95	10,20 ± 7,96	0,35	33	0,54
(CSC)1 X (PSC)2	9,36 ± 5,95	18,90 ± 12,45	2,66	19	0,00*
(PCC)1 X (PSC)2	10,20 ± 7,96	18,90 ± 12,45	2,24	22	0,04*

CCC : Controle Com *Candida* (n=6)

PCC : Periodontite Com *Candida* (n=16)

CSC : Controle Sem *Candida* (n=19)

PSC : Periodontite Sem *Candida* (n=14)

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram isolamento de *Candida* na saliva em maior número nos pacientes com periodontite crônica do adulto (50%) em relação aos controles (20%), sendo esta diferença estatisticamente significativa. Por outro lado, o percentual de isolamento de leveduras do gênero *Candida* da bolsa ou sulco periodontal também foi maior nos pacientes com periodontite (40%) em relação aos controles (20%), porém este resultado não demonstrou significância estatística. *Arendorf & Walker*²⁰ (1980) salientam que o estado de portador de *C.albicans* não é influenciado pela doença periodontal, entretanto outros estudos tem demonstrado associação entre leveduras e patologia periodontal. *C.albicans* e outras espécies relacionadas tem sido detectadas em números elevados na microbiota subgingival de abscessos periodontais^{101,346}, na periodontite avançada em pacientes com AIDS³⁰⁹ e em pacientes com periodontite juvenil localizada¹⁴⁸.

Com exceção dos cabelos, *C.albicans* e outras espécies patogênicas do gênero já foram descritas em infecções em todos os tecidos humanos²⁵³. *Odden et al.*³²³ (1994) demonstraram invasão por *C.albicans* no epitélio bucal de pacientes com AIDS, contribuindo para o desenvolvimento de gengivite e periodontite necrosante nos mesmos. Segundo os autores, a invasão do epitélio sulcular por

Candida, pode favorecer e intensificar a infecção por bactérias da placa dentária nos tecidos do periodonto.

Nos indivíduos com periodonto saudável, os resultados deste trabalho demonstraram isolamento de *Candida* em 20% dos mesmos, tanto na saliva como no sulco gengival. *Arendorf & Walker*²⁰ (1980) descreveram isolamento de *Candida* em 29,6% da saliva de indivíduos saudáveis, resultados semelhantes aos de *Jorge*¹⁹⁶ (1986) que encontrou 28,36%. A quantidade de *Candida* é variável na boca de indivíduos saudáveis oscilando em 2 a 71% em vários trabalhos, com média de 34%^{20,40,196,256,316,325}. O isolamento de *Candida* pouco abaixo da média encontrada por diversos autores para o grupo controle, poderia ser explicado o princípio, por tratarem-se de estudantes de Odontologia e terem sido utilizados apenas indivíduos que não tinham nenhum fator predisponente às candidoses. Entretanto, em estudos anteriores realizados também com estudantes de Odontologia que não apresentavam fatores predisponentes à presença de *Candida* na boca, o gênero foi isolado da saliva de 124 estudantes (37,46%), dos 331 examinados³¹⁶. *Lynch*²⁵³ (1994) considera presença de *Candida* em 20% na cavidade bucal da população adulta com saúde, aumentando para 41% em pacientes com doenças sistêmicas.

Das 17 amostras de *Candida* isoladas dos controles, 9 eram *C.albicans* (52,94%) seguida por *C.guilliermondii* e *C.krusei* (3 amostras de cada) e *C.parapsilosis* (2 amostras). O maior isolamento foi de *C.albicans*, igual a da maioria dos autores^{55,199,256,316,333,427,45}. Interessante salientar que *C.tropicalis* e *C.glabrata*, as duas espécies

mais encontradas além da *C.albicans* 2,316,326,374,482 não foram encontradas nos indivíduos saudáveis neste trabalho. Nos pacientes com periodontite crônica do adulto a *C.albicans* foi isolada de 87,1% das amostras e *C.tropicalis* e *C.glabrata* foram encontradas em 6,5 e 3,2% das amostras respectivamente. Apesar da *C.albicans* ser a espécie mais isolada de candidoses 7.16.55,138,271,331,389, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.krusei*, *C.guilliermondii* e *C.glabrata* são isoladas de candidosis sistêmicas, principalmente em infecções fúngicas hospitalares 2,30,67,152,182,204,215,220,250,269,310,318,339,381,408,491,502.

A quantidade (UFC/ml) de leveduras encontradas nos pacientes portadores de *Candida* deste trabalho, foi superior nos pacientes com periodontite crônica do adulto (média 353 ± 230 UFC/ml) em relação aos controles (265 ± 183 UFC/ml), porém provavelmente devido a variabilidade observada, estes resultados não apresentaram diferença significativa. Em pacientes saudáveis, apesar da variabilidade, as contagens de leveduras geralmente apresentam números baixos 64,117,497, podendo portanto a quantificação de *Candida* (geralmente *C.albicans*) na saliva, ser usada como indicador de infecção 264. Nos pacientes com candidose, as contagens de *C.albicans* geralmente são superiores a 400 UFC/ml de saliva, enquanto nos portadores as contagens usualmente não ultrapassam o 400 UFC/ml 337,450. Apesar dos pacientes usados neste estudo apresentarem doença periodontal, não tinham candidose, o que justifica o número de UFC/ml encontrados na saliva dos pacientes de ambos os grupos.

Nas bolsas periodontais examinadas (90 sítios) leveduras do gênero *Candida* foram encontradas em 15 sítios (16,66%), conforme

pode ser observado na Tabela 3 (p.72). Tais resultados foram semelhantes aos de *Slots et al.* ⁴⁴¹ (1988) que encontraram esta levedura em 16,8% dos sítios de doença periodontal examinados. Por outro lado, considerando-se os pacientes controle (Tabela 2, p.70), os resultados deste trabalho demonstram presença de *Candida* em 16% dos 75 sítios examinados. Deve-se levar em consideração porém, que como os pacientes não apresentavam aprofundamento de sulco gengival, a coleta de amostras foi mais difícil e envolveu uma extensão maior de sulco que nos pacientes com doença periodontal, podendo a presença de leveduras na saliva ter influenciado nos resultados. Além disso, em apenas 6 pacientes *Candida* foi recuperada, sendo que destes, em 5, a levedura estava presente no sulco gengival e foi encontrada nos 3 sítios examinados de 3 pacientes. Em apenas 1 paciente observou-se a levedura somente no sulco gengival, porém nos 3 sítios examinados.

González et al. ¹⁴⁸ (1987) demonstraram através de microscopia eletrônica, presença de leveduras, muitas em processo de formação de blastóporos, em pacientes com periodontite juvenil, enquanto nos controles as mesmas não foram observadas. Curiosamente os autores também relataram que as leveduras não cresceram em ágar Sabouraud dextrose nos isolamentos. Uma possível explicação, segundo os autores, seria a inibição pelas inúmeras células do hospedeiro presentes nas amostras coletadas e a presença de muitas amostras diferentes de leveduras.

Em relação às espécies isoladas nos pacientes com doença periodontal, dos 15 sítios onde se isolou *Candida*, 14 apresentaram

C.albicans (93,33%). Em apenas 1 sítio foi isolado *C.tropicalis* (6,66%) e em outro *C.albicans* e *C.tropicalis* associadas (6,66%). A presença de *C.albicans* e *C.tropicalis* é relatada por Odds³²⁵ (1987) como sendo a associação mais encontrada entre espécies de *Candida*. Nos controles, o isolamento de *C.albicans* no sulco gengival foi de 50%, enquanto *C.guilliermondii*, *C.krusei*, e *C.parapsilosis* representaram juntas outros 50% de isolamento. O maior isolamento de *C.albicans* de bolsa periodontal está de acordo com Slots et al.⁴⁴¹ (1988) e Helovuo et al.¹⁷⁰ (1993). Estes autores também encontraram *C.tropicalis* porém em menor quantidade, semelhante aos achados deste trabalho. Slots et al.⁴⁴¹ (1988) encontraram *C.parapsilosis* e *C.lipolytica*, enquanto Helovuo et al.¹⁷⁰ (1993) isolaram *C.guilliermondii* e *C.parapsilosis*, espécies não encontradas em nossos resultados, nos pacientes com doença periodontal.

A existência de sinergismo entre *Candida* sp e bactérias da microbiota bucal é outro fator que deve ser levado em consideração. Arendorf & Walker¹⁷ (1980) descreveram associação entre formas filamentosas de *C.albicans* e *Streptococcus mutans*, salientando que *C.albicans* adere-se aos polissacarídeos produzidos pelo *S.mutans* tornando-se desta forma fortemente aderidas e dificilmente deslocados da superfície. Bagg & Silverwood³¹ (1986) demonstraram aglutinação entre *C.albicans* e *Streptococcus sanguis*, *S.salivarius*, *S.mutans*, *S.mitis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinomyces viscosus*. Os autores sugerem que a interação entre *A.viscosus* e *F.nucleatum* com *C.albicans* é mediada por proteínas bacterianas, possivelmente lectinas. Assim, se estas bactérias ligam-se à *C.albicans*, e por sua vez tem capacidade de

aderência às mucosas bucais, podem funcionar como "pontes" de união entre *C.albicans* e tecidos bucais, assim como facilitar sua presença na placa bacteriana. ... Ohman ³²⁸ (1988) observaram associação de *C.albicans* e *Staphylococcus aureus* em queilite angular e observaram que a eliminação do fungo pela nistatina levou à cura da lesão.

Componentes da superfície celular de *Escherichia coli* e *Klebsiella* podem mediar co-adesão de *C.albicans* às células epiteliais bucais ^{394,401}. Outras espécies de bastonetes Gram-negativos das famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonaceae*, apesar de não serem consideradas como parte da microbiota bucal normal, podem estar presentes na cavidade bucal e existem evidências de sinergismo entre estas espécies e *Candida* ⁴¹⁸. A realização de novos estudos entre a interação de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonaceae* com *Candida* parecem ser interessantes, principalmente em pacientes com doença periodontal, nos quais estes grupos de microrganismos podem agir como patógenos oportunistas.

Branting et al. ⁴⁸ (1989) mostraram que a adesão de *C.albicans* às células epiteliais bucais é estimulada pela incubação com *S.mutans* na presença de sacarose, assim como por sobrenadante de *S.mutans* livre de células. Por outro lado, Samaranayake et al. ³⁹⁹ (1982) encontraram redução na adesão de *C.albicans* às células epiteliais bucais por amostras de *Streptococcus salivarius* e *S.mitior*.

Helovuo et al. ¹⁷⁰ (1993) isolaram enterobactérias, estafilococos e leveduras de pacientes com periodontite do adulto submetidos a tratamento com penicilina e eritromicina. Os autores isolaram *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *E.colocae*, *Staphylococcus*

aureus, *C.albicans* e *C.parapsilosis*. Interesse crescente tem ocorrido naqueles grupos de microrganismos não encontrados comumente na placa subgengival, mas que podem iniciar ou contribuir com a patogênese da doença periodontal. Ênfase tem sido dada para enterobactérias, estafilococos e leveduras 31,92,161,170,394,401,418,440, 441. No presente estudo, foi pesquisada a presença de leveduras, as quais apresentaram-se em maior quantidade na cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica do adulto (31 amostras) em relação aos controles (17 amostras).

A *C.albicans* ocorre normalmente como comensal no hospedeiro humano, tendo capacidade de invadir os tecidos quando as defesas locais ou sistêmicas estão diminuídas. Portanto, a virulência da *C.albicans* é determinada mais pelo hospedeiro do que pelo fungo 174,324. Múltiplos fatores predispoem às infecções por fungos na boca, sendo rara a ocorrência de infecção sem a presença de um ou mais destes fatores 7,16,55,138,218,235,331,389. A doença periodontal possivelmente possa atuar como fator predisponente à instalação de *Candida* e ao desenvolvimento da candidose bucal.

Importante salientar que diferenças na virulência são encontradas entre espécies de *Candida* ou entre as amostras de uma mesma espécie, o que reflete na capacidade da mesma em produzir doença 174,183. *Candida* pode apresentar-se em três formas morfológicas distintas: leveduras ou blastóporos, hifas e/ou pseudohifas e clamidósporos. Apesar de não totalmente estabelecido, acredita-se que na forma de micélio *Candida* é mais patogênica 218. McCourtie & Douglas 278 (1981) demonstraram que amostras de *C.albicans* isoladas

de infecções ativas (candidose cutânea e estomatite por prótese total) apresentaram maior aderência ao acrílico e às células epiteliais bucais e foram mais patogênicas para camundongos em relação a amostras isoladas de portadores assintomáticos, principalmente quando cultivadas em meio de cultura contendo concentrações elevadas de sacarose e/ou galactose. Segundo os autores, a patogenicidade do *C.albicans* parece estar correlacionada a habilidade de modificar a composição de sua superfície celular em resposta às concentrações de açúcares, principalmente galactose. A expressão de superfície fibrilar pela *Candida*, possivelmente confira-lhe proteção à fagocitose. Outro mecanismo pelo qual a expressão da superfície fibrilar de *Candida* poderia influenciar na patogenicidade, seria a resistência à morte intercelular pelos fagócitos. Segundo *McCourtie & Douglas*²⁷⁷ (1985), como a superfície celular fibrilar é constituída principalmente de manoproteína, poderia inibir a morte intercelular do *Candida*, interferindo no sistema mieloperoxidase dos fagócitos.

A filamentação de *Candida* é aumentada *in vitro* em condições de anaerobiose e na presença de soro⁹⁴, assim sua presença no interior da bolsa periodontal, onde existem condições de anaerobiose e o fluido derivado do plasma, possivelmente estimule a produção de hifas. A filamentação com produção de tubos germinativos e hifas aumenta a aderência da *C.albicans* às células epiteliais bucais^{210, 444,469}, parece aumentar a capacidade invasiva às células do hospedeiro⁷¹ e permitir maior resistência à fagocitose³²⁵. Pseudohifas são mais resistentes do que as leveduras à fagocitose por neutrófilos e podem penetrar nestas células possivelmente pela atividade

fosfolipásica concentrada em suas extremidades ¹⁶⁸. A aderência da *C.albicans* é aumentada quando da produção de tubo germinativo, os quais possuem adesinas diferentes da levedura, concentradas em sua extremidade ²⁰⁵. A aderência de *C.albicans* às células epiteliais bucais também é aumentada na presença de saliva ²⁰⁹. *Knight & Fletcher* ²¹⁶ (1971) demonstraram que pré-incubação de corpos de prova de acrílico com saliva, inibe a adesão de *C.albicans* e outras espécies, entretanto a pré-incubação com soro aumenta a adesão de *Candida*. Assim, quando da presença de *Candida* na bolsa periodontal, o fluido gengival, derivado do plasma, possivelmente facilite sua adesão.

Outro fator que pode influenciar na virulência da *C.albicans* no periodonto é a capacidade desta espécie em produzir tubo germinativo na presença de soro. Segundo *Hurley & Stanley* ¹⁸³ (1969) é possível que a fase de levedura inicie a infecção através de aderência e dono às células. O dano celular produz exudação que estimula a filamentação. Esta fato explica, segundo os autores, a presença de maior quantidade de micélio em lesões mais profundas.

Por outro lado, a *C.albicans* possui outros fatores de patogenicidade que possibilitam o agravamento da doença periodontal, como a capacidade de invadir o epitélio do sulco ^{101,148}, inibição de funções dos polimorfonucleares ¹⁷³, lisar monócitos ⁹⁹, presença de endotoxinas ^{90,185} e produção de enzimas ^{13,36,37,202,225, 366,384,402,433}.

A colonização das superfícies mucosas por espécies patogênicas de *Candida* depende de sua habilidade de adesão ^{107,205}, existindo correlação entre aderência e patogenicidade ^{107,108}. *C.albicans*

principalmente, e *C.krusei*, *C.guilliermondii* e *C.parapsilosis* em menor quantidade, possuem capacidade de aderência à células epiteliais bucais 97,140,209,212,261,397,398,399, característica considerada importante na patogenicidade de microrganismos no periodonto, já que facilita a colonização. Componentes da parede celular de *Candida* como quitina, manana, glucano, algumas proteínas e lipídeos agem comprovadamente como adesinas 205. Fibronectina, laminina e colágeno são possíveis receptores encontrados nos tecidos, incluindo nas células epiteliais do sulco gengival, para as adesinas de *Candida* 107,108,205.

Amstras de *C.albicans* isoladas de pacientes com candidose apresentam adesão mais pronunciada à células epiteliais bucais em comparação com amstras isoladas de portadores saudáveis 333. Samaranayake et al. 403 (1988) demonstraram que *C.albicans* e *C.tropicalis* exibem marcada aderência a coágulos de fibrina *in vitro*, enquanto *C.krusei*, *C.guilliermondii* e *C.glabrata* aderem-se menos. *C.parapsilosis* possui habilidade intermediária na aderência aos coágulos de fibrina. A pré-incubação de *Candida* com sacarose, glicose, galactose e maltose aumentam sua adesão às células epiteliais bucais 397,398.

A invasão tecidual de microrganismos nos tecidos periodontais está bem estabelecida atualmente. Técnicas sofisticadas incluindo imunofluorescência, cultivo de anaeróbicos e microscopia eletrônica demonstraram que bactérias podem ser identificadas rotineiramente nos tecidos gengivais na doença periodontal 321,410,449. *C.albicans* possui capacidade de invadir epitélio bucal humano e de animais. Estudos

experimentais e biópsias de lesões humanas tem demonstrado a capacidade de *Candida* em penetrar na pele de voluntários ²⁶², na mucosa em candidose pseudomembranosa ⁵⁵, em mucosa de pacientes com estomatite por prótese total ^{60,98}, em mucosa de bochecha de hamster ²⁸⁴ e na mucosa em candidose bucal experimental em macacos e ratos ^{51,52,54,195,200,290,336,424,425}. Produção de proteinase e fosfolipase parecem estar envolvidos na penetração de *Candida* às células epiteliais bucais ^{37,46,315,354,357}.

McMillan & Cowell ²⁸⁴ (1985) produziram candidose na bolsa da bochecha de hamster com apenas 1 inoculação de *C.albicans*. Os autores observaram que as lesões ocorreram em maior número no terço caudal da bolsa, local onde existe baixa tensão de oxigênio, ausência dos mecanismos de defesa da saliva e efetiva resposta imune do hospedeiro. Na bolsa periodontal, situação semelhante pode ser observada, com baixa quantidade de oxigênio, ausência dos mecanismos de regulação da saliva e resposta imune do hospedeiro.

Além da invasão do epitélio por amostras de *Candida*, outros estudos tem demonstrado que estas leveduras produzem substâncias que podem penetrar no epitélio e causar alterações patológicas locais ^{262,305,368}. Estas substâncias podem atuar como irritantes primários e envolver a ativação do sistema imune ^{107,284,427,428,452}.

A produção de endotoxinas por *Candida* também são importantes na patogenicidade ^{76,90,185,305,368}, podendo representar fator de virulência na doença periodontal. Várias endotoxinas produzidas pelas bactérias periodontais atuam na doença e estimulam potente resposta do hospedeiro às mesmas ³²¹. Sobrenadante de culturas de *C.albicans*

livre de células, aumenta a atividade mitótica do epitélio bucal de ratos³⁶⁸. A produção de substâncias proteicas denominadas fatores *killer* são secretadas *in vitro* por várias amostras de *Candida* e possuem efeito antibiótico para outros fungos e várias bactérias, sendo considerados também como fator de virulência³⁴⁹.

Vários constituintes celulares de bactérias Gram-positivas e negativas atuam como fatores de agressão na periodontite, agindo sobre células do periodonto e induzindo resposta imune do hospedeiro^{68,77,79,88,92,114,115,121,131,137,158,206,320,321,499}. Constituintes celulares de *Candida* como mananas, manoproteínas e glicoproteínas são antígenos potentes, induzem produção de anticorpos¹⁸⁸ e resposta inflamatória do hospedeiro⁵⁶. Já foram isoladas mais de 78 proteínas antigênicas de material citoplasmático de *C.albicans*^{29,104,454,455,468}. Manana extraída da parede celular de *C.albicans* demonstraram capacidade de ativar linfócitos B²⁶⁸ e linfócitos T⁸⁷.

Amostras de *Candida* produzem polímeros extracelulares originários da superfície celular das leveduras, que parecem desempenhar importante papel na adesão. Galactose, sacarose, glicose e outros açúcares estimulam a produção de polímeros e conferem à *Candida* maior adesão às células epiteliais bucais^{277,333}. A presença dos polímeros parecem atuar como agente mediador na adesão de *Candida* às células epiteliais³⁹⁷ e às superfícies acrílicas^{396,400}.

Os dados deste trabalho revelaram a produção de proteinase, condroitin-sulfatase, hialuronidase e fosfolipase por 18 (58%) das 31 amostras de *Candida* isoladas dos pacientes com doença periodontal.

Oito amostras (25,8%) produziram 3 destas enzimas, três (9,7%) produziram 2, uma produziu 1 enzima e apenas uma amostra não as produziu. Acreditamos que a produção destas enzimas pelas leveduras no sulco gengival, possam agir como fator de patogenicidade na doença periodontal. *Kaminishi et al.* ²⁰² (1988) descreveram produção de proteinase com capacidade de degradar colágeno por amostra de *C.albicans*, sugerindo que as amostras produtoras de proteinase invadem e destroem tecidos susceptíveis à degradação de colágeno.

A produção de proteinase por amostras de *Candida* facilitam a penetração deste microrganismo às células epiteliais da pele de camundongos e em membrana cório-alantóide de galinhas em desenvolvimento ⁴³⁰. Proteinase de *Candida* possui também capacidade de lisar moléculas de IgG, IgA sérica e IgA secretora, o que pode facilitar a colonização do microrganismo nas membranas mucosas, nas quais a IgA secretora representa importante barreira imunológica ^{366,369,382,384}. A produção de enzimas com capacidade de lisar anticorpos, tem sido considerado importante fator de patogenicidade dos microrganismos do sulco gengival envolvidos com doença periodontal ^{156,157}.

O número de enzimas produzidas, assim como o grau de atividade enzimática (GAE) das amostras de *C.albicans* isoladas no presente trabalho foram semelhantes aos encontrados por *Shimizu* ⁴³³ (1990). O autor não observou nas amostras estudadas, *C.albicans* não produtora das 4 enzimas, enquanto nos resultados deste trabalho foram observadas 2 amostras não produtoras entre as 48 examinadas, 1 de paciente com periodontite e 1 dos controles. Outros autores também

descreveram a produção de enzimas por *C.albicans* 36,37,45,46,58,71,74, 139,166,255,402,430.

Amostras de *C.albicans* que produzem maior número de enzimas e que apresentam maior atividade enzimática aderem-se mais fortemente às células epiteliais bucais e são mais patogênicos para camundongos 37,139,433. Segundo Borg & Rüchel⁴⁶ (1988) a produção de proteinase por amostras de *Candida* conferem às mesmas maior adesão ao epitélio bucal *in vitro*. Os mesmos autores⁴⁵ (1990) demonstraram que amostras altamente produtores de proteinase germinam no interior de macrófagos, podendo levar à destruição dos mesmos.

A produção de enzimas *in vitro* pelas amostras de *C.albicans* observadas nos dados deste trabalho foram semelhantes nas amostras isoladas dos pacientes com periodontite e nos controles. Budtz-Jorgensen⁵⁸ (1971) não observou diferenças na produção de proteinase por amostras de *Candida* isoladas de pacientes com estomatite por prótese total e controles. O autor encontrou 51 amostras produtoras de proteinase das 62 isoladas. Por outro lado, Cassoni et al.⁷¹ (1987) compararam a produção de proteinase *in vitro* por amostras de *C.albicans* isoladas de pacientes com e sem vaginite e observaram maior produção de proteinase nas amostras isoladas de mulheres com candidose vaginal. Os autores consideram a proteinase como importante fator de patogenicidade nas candidoses vaginais. Chakrabarti et al.⁷⁴ (1991) isolaram 151 amostras de *C.albicans* de escarro, material retal, bucal e urina de pacientes com suspeita de candidose e verificaram produção de proteinase estatisticamente

significativa nos pacientes com candidose comprovada em relação aos controles. *MacDonald*²⁵⁵ (1984) demonstrou a presença de anticorpos anti-proteinase purificada, em amostras de soro de pacientes com candidose sistêmica, enquanto no soro de indivíduos sadios anticorpo anti-proteinase não foram observados.

As amostras de *C.parapsilosis* isoladas dos indivíduos com periodonto saudável também produziram enzimas; a amostra C3a produziu proteinase, condroitin-sulfatase e fosfolipase, enquanto a C3d produziu proteinase e fosfolipase. Estas duas amostras apresentaram GAE fortemente positivo. As amostras de *C.guilliermondii* C6b e C25d produziram 4 e 3 enzimas respectivamente. Nos pacientes com periodontite, *C.guilliermondii*, *C.tropicalis* DP30c e *C.glabrata* produziram 4 enzimas, enquanto *C.tropicalis* DP23d apenas fosfolipase. A produção de enzimas por outras espécies de *Candida*, assim como a correlação entre o número de enzimas produzidas e a patogenicidade da amostra para camundongos foi relatada por *Almeida*¹³ (1991). Outros trabalhos também descreveram produção de enzimas por outras espécies de *Candida*^{45,47,74}. Por outro lado, *Samaranayake et al.*⁴⁰² (1984) não observaram produção de fosfolipase por amostras de *C.tropicalis*, *C.glabrata* e *C.parapsilosis* pelo mesmo método utilizado neste trabalho.

Importante salientar, que a identificação de fatores de virulência, como por exemplo a produção de enzimas por microrganismos presentes no sulco gengival é um dos fatores observados para se considerar um microrganismo como envolvido na doença periodontal^{92, 172,233,321,338,434,443,446,447,448,457,458,459}.

Tratamento com antibióticos como tetraciclina, amoxicilina e metronidazol tem sido utilizados atualmente no tratamento de doença periodontal, principalmente em casos de periodontite refratária 5,79,100,160,161,225,321,445,461,486. O uso de antibióticos de amplo espectro é considerado fator predisponente às candidoses bucais, pela supressão da população bacteriana 18,30,55,215,331, já que a microbiota bucal indígena inibe o crescimento de *Candida* nas células epiteliais 55. Em candidose experimental do palato em macacos, o uso de tetraciclina por período prolongados, resultou em proliferação contínua de *C.albicans* e inflamação mais intensa 52. O uso da antibioticoterapia por via oral também facilita a instalação de *C.albicans* na boca de camundongos e ratos 6,9,10,11,174,371,385. Assim, o uso do antibiótico possivelmente acentue a ação oportunista de *Candida*, quando presente nas bolsas periodontais.

González et al. 148 (1987) demonstraram número aumentado de leveduras invadindo o tecido conjuntivo gengival em periodontite juvenil localizada em pacientes tratados com antibióticos, através de microscopia eletrônica de varredura. A tetraciclina, antibiótico usualmente mais utilizado para tratamento de sítios refratários de doença periodontal 321 é também a droga mais associada com infecções sistêmicas por *Candida* em seres humanos 6. Dhale & Olsen 94 (1991) encontraram *C.albicans* em abundância em pacientes com periodontite refratária tratados com tetraciclina.

Helovu et al. 170 (1993) demonstraram que 43% dos 24 pacientes que receberam tratamento sistêmico com penicilina apresentaram abscesso periodontal. Segundo os autores, a

administração sistêmica de penicilina e eritromicina em pacientes com periodontite, podem levar a superinfecção com microrganismos oportunistas como *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, *C.albicans* e *C.guilliermondii*.

Com o uso de antibióticos, os receptores encontrados nas células do hospedeiro tornam-se livres de bactérias, podendo ser ocupados pelas adesinas de *Candida*. Experimentos com animais assépticos tem demonstrado que *C.albicans* coloniza prontamente e com maior instensidade esses animais em relação aos convencionais ^{34,35}. Por outro lado, o uso de antibióticos poderia também remover bactérias que possuem adesinas para *Candida*, prejudicando desta forma outro mecanismo de aderência de *Candida* às mucosas bucais. Segundo *Budtz-Jorgensen* ⁵⁵ (1990) disfunções no sistema de defesa do hospedeiro são fatores predisponentes muito mais importantes do que uso de antibióticos de amplo espectro.

A mera presença de *C.albicans* e outras espécies de *Candida* não indica infecção e/ou certeza de doença subsequente ²⁵³. Assim, outro fator a ser considerado para implicar determinado microrganismo na etiologia das diversas formas de doença periodontal é a resposta imune do hospedeiro para os antígenos do referido microrganismo. Infecções no periodonto resultam na produção de anticorpos que reagem especificamente com bactérias presentes na bolsa periodontal ^{320,321,322,366,387,388,464,465,489,500,510}. Os dados deste trabalho mostraram que os níveis de IgG, IgM e IgA anti-*Candida* na saliva foram maiores e estatisticamente significantes nos pacientes com periodontite crônica do adulto em relação aos indivíduos com peridonto saudável.

Títulos elevados de anticorpos anti-*Candida* são observados em pacientes com candidose bucal e estomatite por prótese total no soro e na saliva 120,189,234,350,474,475. *Tylenda et al.* ⁴⁷² (1989) verificaram através de reação ELISA, níveis superiores e significantes estatisticamente de IgA anti-*Candida* na saliva de 8 dos 10 pacientes HIV-positivos sem sintomas de AIDS, em relação a indivíduos HIV-negativos. Pacientes com AIDS demonstraram maior quantidade de IgA anti-*Candida* na saliva, em relação a pacientes HIV positivos e ambos os grupos apresentaram maior quantidade de anticorpos na saliva do que indivíduos sadios ⁸⁵.

No saliva dos pacientes examinados no presente trabalho, o aumento mais acentuado foi de IgG (22 vezes) seguido por IgM (4,4 vezes), IgA (2,6 vezes) e IgE (2,1 vezes). A principal ação da IgA secretora nas mucosas sobre os microrganismos, parece ser através da inibição da aderência, inativação de atividade enzimática e no crescimento dos mesmos ⁷⁵. IgA secretora anti-*Candida* isoladas de leite humano demonstraram efeito de inibição na aderência de *C.albicans* à células epiteliais bucais. A IgA específica bloqueia as adesinas da superfície de *Candida* envolvidas na aderência das mesmas às células epiteliais, produzindo ainda efeito de aglutinação nas leveduras. Por outro lado, *Wray et al.* ⁵⁰⁸ (1990) demonstraram que a quantidade de IgG geralmente apresenta-se aumentada na saliva de pacientes com candidose bucal, enquanto IgA está diminuída. Segundo os autores, ou não ocorre resposta de IgA para a infecção ou o aumento da quantidade de IgA ocorre secundariamente à IgG. Este fenômeno é mais marcante em pacientes HIV-positivos.

Anticorpos séricos anti-*Candida* estão presentes no soro de muitos indivíduos, o que provavelmente reflete o fato não apenas de *Candida* estar presente como comensal na boca e em outras superfícies mucosas de grande número de indivíduos, como também que antígenos de *Candida* são capazes de estimular resposta imune com produção de anticorpos séricos ⁷⁵. Soro de pacientes dos quais *C.albicans* foi isolada do sangue, urina, vagina ou lesões em pele e mucosas demonstraram aumento significativo na quantidade de anticorpos, especialmente da classe IgM ⁴². O mecanismo de ação biológica dos anticorpos séricos usualmente ocorre em conjunto com complemento e polimorfonucleares leucócitos. É provável que a ação de anticorpos e complemento sozinhos, sem a presença de células não consigam destruir *Candida*. Os anticorpos séricos anti-*Candida* podem atuar como opsoninas para neutrófilos e macrófagos e na fixação do complemento, quando são gerados fatores quimiotáticos (principalmente C3a e C5a) que direcionam estas células ao local da infecção ⁷⁵. No soro, IgG e IgA anti-*Candida* apresentaram valores mais elevados nos resultados deste trabalho, em pacientes com periodontite crônica do adulto. No sulco gengival IgG e IgM estavam também em quantidades elevadas nos pacientes com periodontite, em relação aos indivíduos com periodonto saudável. Estes resultados sugerem uma resposta imune humoral do organismo dos pacientes com periodontite crônica do adulto às leveduras do gênero *Candida*.

A técnica utilizada para a dosagem de anticorpos no presente trabalho foi a reação ELISA, utilizando-se para o preparo dos antígenos citoplasmáticos, a técnica de Gomez et al. ¹⁴⁷ (1992). Numerosos

métodos de imunodiagnóstico para candidose bucal tem sido descritos na literatura 126,186,191,194,242,350, pois uma técnica sensível e facilmente reproduzível em conjunto com preparo de antígeno específico para infecções micóticas, torna-se procedimento valioso como coadjuvante ao diagnóstico microbiológico. Segundo *Jeganathan & Chan* 188 (1982) a reação ELISA com uso de antígeno citoplasmático de *C.albicans* representa um teste que preenche os requisitos ideais para diagnóstico. A reação ELISA demonstrou ser um teste sensível e de fácil execução para evidenciar anticorpos anti-*Candida* na saliva, soro e fluido do sulco gengival. Apenas IgE anti-*Candida* no fluido gengival não foi detectado por esta técnica. Além disso, a reação ELISA possibilita a detecção das classes específicas de anticorpos 42. A reação ELISA tem sido largamente utilizada para observar presença de anticorpos formados para bactérias da placa subgengival em bolsas periodontais 125,321.

Johannessen et al. 191 (1986) observaram a presença de IgG, IgA, IgM, fator C3c do complemento, linfócitos T e macrófagos em cortes obtidos por congelamento de biópsias de estomatites hiperplásicas produzidas por prótese total, concluindo que estas lesões representam complexa reação inflamatória demonstrando elementos da resposta imune humoral e celular. Os autores consideram que a resposta imune da mucosa afetada pela estomatite por prótese é similar, em muitos aspectos, à periodontite marginal e apical.

Outro fator de importância, é que a *C.albicans* e outras espécies do gênero, são importantes patógenos em infecções localizadas e sistêmicas 30,67,152,162,182,215,219,220,250,339,408,502 e principalmente em

pacientes imunocomprometidos 136,168,283,310,325,389,404,488,502,508.
Assim sua permanência em pacientes com doença periodontal pode ser considerado um importante reservatório para estes patógenos oportunistas.

7 CONCLUSÕES

- As leveduras do gênero *Candida* foram isoladas da saliva em maior número de pacientes com periodontite crônica do adulto (50%) em relação aos indivíduos com periodonto saudável (20%), com diferença estatisticamente significativa. A média da quantidade de UFC/ml de *Candida* isoladas, foram porém semelhantes nos dois grupos.
- As leveduras do gênero *Candida* foram isoladas do fluido gengival em maior número de pacientes com periodontite crônica do adulto (40%), em relação aos indivíduos com periodonto saudável (20%), porém esta diferença não foi estatisticamente significativa.
- Amostras de *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.guilliermondii* e *C.glabrata* foram isoladas da cavidade bucal dos pacientes com periodontite crônica do adulto. *C.albicans*, *C.guilliermondii*, *C.krusei* e *C.parapsilosis* foram isoladas dos indivíduos com periodonto saudável. *C.albicans* foi a espécie mais isolada nos pacientes com periodontite (87,5%) e nos controles (52,9%).

- As amostras de *Candida* isoladas de ambos os grupos, produziram enzimas histolíticas (hialuronidase, condroitin-sulfatase, proteinase e fosfolipase), que são considerados fatores de patogenicidade na doença periodontal. Apenas uma amostra de cada grupo (*C.albicans*) não produziu nenhuma das quatro enzimas pesquisadas.

- Os níveis de imunoglobulinas anti-*Candida* das classes IgG, IgM e IgA na saliva, IgG e IgA no soro e IgG e IgM no fluido do sulco gengival foram estatisticamente superiores nos pacientes com periodontite crônica do adulto em relação aos controles, sugerindo resposta imune humoral dos pacientes com periodontite às leveduras do gênero *Candida*.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 AASS, A.M., PREUS, H.R., GJERMO, P. Association between detection of oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and radiographic bone loss in teenagers: a 4-year longitudinal study. *J.Periodontol.*, v.63,p.682-85, 1992.
- 2 AHEARN, D.G. Medically important yeasts. *Ann.Rev.Microbiol.*, v.32, p.59-68, 1978.
- 3 ALBANDAR, J.M., OLSEN, I., GJERMO, P. Associations between six DNA probe-detected periodontal bacteria and alveolar bone loss and other clinical signs of periodontitis. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.415-23, 1990.
- 4 ALBANO, M.M., SCHMITT, J.A. Pathogenicity in mice of strains of *Candida albicans* (Robin) Berk: isolated from burn patients. *Mycopathol.Mycol.Appl.*, v.49, p.283-8, 1973.
- 5 ALI, R.W., LIE, T., SKAUG, N. Early effects of periodontal therapy on the detection frequency of four putative periodontal pathogens in adults. *J.Periodontol.*, v.63, p.540-7, 1992.
- 6 ALLEN, C.M. Animal models of oral candidiasis: a review. *Oral Surg. Oral Med.Oral Pathol.*, v.78, p.216-21, 1994.

*Baseado em:

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

- 7 ALLEN, C.M. Diagnosing and managing oral candidiasis. *J.Am.Dent.Assoc.*, v.123, p.77-82, 1992.
- 8 ALLEN, C.M., BECK, F.M. Differences in mucosal reaction related to *Candida albicans* isolates. *J.Oral Pathol.*, v.16, p.89-93, 1987.
- 9 ALLEN, C.M., BECK, F.M. Strain-related differences in pathogenicity of *Candida albicans* for oral mucosa. *J.Infect.Dis.*, v.147, p.1036-40, 1983.
- 10 ALLEN, C.M. et al. Chronic candidiasis of the rat tongue: a possible model for human median rhomboid glossitis. *J.Dent.Res.*, v.61, p.1287-91, 1982.
- 11 ALLEN, C.M. et al. Role of tetracycline in pathogenesis of chronic candidiasis of rat tongues. *Infect.Immun.*, v.47, p.480-3, 1985.
- 12 ALLENSPACH-PETRAZILKA, G.E., GUGGENHEIM, B. *Bacteroides melaninogenicus* ss. *intermedius* invasion of rat gingival tissue. *J.Periodont.Res.*, v.17, p.456-9, 1982.
- 13 AUMEIDA, N.Q. *Influência da produção de hialuronidase, proteinase, condroitin-sulfatase e fosfolipase por algumas espécies de Candida sobre a patogenicidade para camundongos.* São José dos Campos, 1991. 111p. Tese (Livre-Docência) Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos/Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- 14 ALY, R. et al. Correlation of human *in vivo* and *in vitro* cutaneous antimicrobial factors. *J.Infect.Dis.*, v.131, p.578-83, 1975.
- 15 AMBJÖRNSSEN, E. An analytic epidemiological study of denture stomatitis in a group of Norwegian old-age pensioners. *Gerodontology*, v.1, p.207-12, 1985.

- 16 ARENDORF, T.M., ADDY, M. Candidal carriage and plaque distribution before, during and after removable orthodontic appliance therapy. *J.Clin.Periodontol.*, v.12, p.360-8, 1985.
- 17 ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. *Candida albicans*: its association with dentures, plaque and the oral mucosa. *J.Dent.Assoc.S.Afr.*, v.35, p.563-9, 1980.
- 18 ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. Denture stomatitis: a review. *J.Oral Rehabil.*, v.182, p.217-27, 1987.
- 19 ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. Oral candidal populations in health and disease. *Br.Dent.J.*, v.147, p.267-72, 1979.
- 20 ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch.Oral Biol.*, v.25, p.1-10, 1980.
- 21 ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. Tobacco smoking and denture wearing as local aetiological factors in median rhomboid glossitis. *Int.J.Oral.Surg.*, v.13, p.411-5, 1984.
- 22 ARENDORF, T.M. et al. Tobacco smoking and denture wearing in oral candidal leukoplakia. *Br.Dent.J.*, v.155, p.340-3, 1983.
- 23 ARMITAGE, G.C., HOLT, S.C. Effect of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Wolinella recta* and *Bacteroides gingivalis* on the viability of retinoic acid-induced and dimethyl sulfoxide-induced HL-60 cells. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.5, p.241-7, 1990.
- 24 ARONSON, I.K., SOLTAMI, K. Chronic mucocutaneous candidosis: a review. *Mycopathologia*, v.60, p.17-25, 1976.

- 25 ASHKENAZI, M., WHITE, R.R., DENNISON, D.K. Neutrophil modulation by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: 1.Chemotaxis, surface receptor expression and F-actin polymerization. *J.Periodont. Res.*, v.27, p.264-73, 1992.
- 26 ASHKENAZI, M., WHITE, R.R., DENNISON, D.K. Neutrophil modulation by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: 2.Phagocytosis and the developmente of respiratory burst. *J.Periodont. Res.*, v.27, p.457-65, 1992.
- 27 ASHMAN, R.B., PAPADIMITRIOU, J.M. What's new in the mechanisms of host resistance to *Candida albicans* infection? *Pathol.Res.Pract.*, v.186, p.527-34, 1990.
- 28 ATKINSON, J.C., FOX, P.C. Sjögren's syndrome: oral and dental considerations. *J.Am.Dent.Assoc.*, v.124, p.74-86, 1993.
- 29 AXELSEN, N.H. Antigen-antibody crossed electrophoresis (Lairdell) applied to the study of the antigenic structure of *C.albicans*. *Infect.Immun.*, v.4, p.425-7, 1971.
- 30 BADENHORST, L., BOTHA, P.L., JANSE VAN RENSBURG. M.N. The incidence of hospital fungal infections-yeast fungaemia. *S.Afr.Med.J.*, v.79, p.302-3, 1991.
- 31 BAGG, J., SILVERWOOD, R.W. Coagglutination reations between *Candida albicans* and oral bacteria. *J.Med.Microbiol.*, v.22, p.165-9, 1986.
- 32 BAGHIAN, A., LEE, K.W. Role of activad macrophages in resistance to systemic candidosis. *J.Leucocyte Biol.*, v. 44, p. 166-71, 1988.

- 33 BALISH, E., FILUTOWICZ, H., OBERLEY, T.D. Correlates of cell-mediated immunity in *Candida albicans* colonized gnotobiotic mice. *Infect.Immun.*, v.58, p.107-13, 1990.
- 34 BALISH, E., PHILLIPS, A.W. Growth and virulence of *Candida albicans* after oral inoculation in the chick with a monoflora of either *Escherichia coli* or *Streptococcus faecalis*. *J.Bacteriol.*, v.91, p.1744-9, 1966.
- 35 BALISH, E., PHILLIPS, A.W. Growth, morphogenesis, and virulence of *Candida albicans* after oral inoculation in germ-free and conventional chick. *J.Bacteriol.*, v.91, p.1736-43, 1966.
- 36 BANNO, Y., YAMADA, T., NOZAWA, Y. Secreted phospholipases of the dimorphic fungus, *Candida albicans*; separation of three enzymes and some biological properties. *Sabouraudia*, v.23, p.47-54, 1985.
- 37 BARRETT-BEE, K. et al. A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. *J.Gen. Microbiol.*, v.131, p.1217-21, 1985.
- 38 BAUMGARTNER, J.C., FALKLER JR., W.A., BECKERMAN, T. Experimentally induced infection by oral anaerobic microorganisms in a mouse model. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.7, p.253-6, 1992.
- 39 BEHLING, U.H. et al. Humoral immunity and reduced periodontal bone loss in *Eikenella corrodens*-monoassociated rats. *Infect. Immun.*, v.33, p.801-5, 1981.
- 40 BERDICEVSKY, I. et al. Oral *Candida* in asymptomatic denture wearers. *Int. J.Oral Surg.*, v.9, p.113-5, 1980.

- 41 BERDICEVSKY, I., et al. Oral *Candida* in children. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol.*, v.57, p.37-40, 1984.
- 42 BEANTSSON, E. Antibodies to *Candida albicans* in healthy, colonized, and infected persons. *Mykosen*, v.27, p.443-51, 1984.
- 43 BISHOP, C.T., BLANK, F. GARDNER, P. The wall polysaccharides of *Candida albicans*, glucan, mannan and chitin. *Can.J.Chem.*, v.38, p. 869-81, 1960.
- 44 BLIX, I.J. et al. Entrance of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* into HEP-2 cells *in vitro*. *J.Periodontol.*, v.63, p.723-8, 1992.
- 45 BORG, M., RÜCHEL, R. Demonstration of fungal proteinase during phagocytosis of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.28, p.3-14, 1990.
- 46 BORG, M., RÜCHEL, R. Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic *Candida* spp. during experimental infection of oral mucosa. *Infect.Immun.*, v.56, p.626-31, 1988.
- 47 BORG-VON ZEPELIN, M., GRÜNESS, V. Characterization of two monoclonal antibodies against secretory proteinase of *Candida tropicalis* DSM 4238. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.31, p.1-15, 1993.
- 48 BRANTING, C., SUND, M.L., LINDER, L.E. The influence of *Streptococcus mutans* on adhesion of *Candida albicans* to acrylic surfaces *in vitro*. *Arch.Oral Biol.*, v.34, p.347-53, 1989.

- 49 BRAUNER, D.L., CUTLER, J.E. Oral *Candida albicans* isolates from nonhospitalized normal carriers, immunocompetent hospitalized patients, and immunocompromised patients with or without acquired immunodeficiency syndrome. *J.Clin.Microbiol.*, v.27, p.1335-41, 1989.
- 50 BROWN, L.R. et al. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. *J.Dent.Res.*, v.54, p.740-50, 1975.
- 51 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Cellular immunity in acquired candidiasis of the palate. *Scand.J.Dent.Res.*, v.81, p.372-82, 1973.
- 52 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Denture stomatitis. 4. An experimental model in monkeys. *Acta Odontol.Scand.*, v.29, p.513-26, 1971.
- 53 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Denture stomatitis. 5. *Candida* agglutinins in human sera. *Acta Odontol.Scand.*, v.30, p.313-25, 1972.
- 54 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Effects of triamcinolone acetonide on experimental oral candidiasis in monkeys. *J.Dent.Res.*, v.83, p.171-8, 1975.
- 55 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.61-9, 1990.
- 56 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.37-43, 1990.
- 57 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Immune response to *C.albicans* in monkeys with experimental candidiasis in the palate. *Scand.J.Dent.Res.*, v.81, p.360-71, 1973.

- 58 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Proteolytic activity of *Candida* spp. as related to the pathogenesis of denture stomatitis. *Sabouraudia*, v.12, p.266-71, 1971.
- 59 BUDTZ-JÖRGENSEN, E. The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. *Scand.J.Dent.Res.*, v.82, p.151-90, 1974.
- 60 BUDTZ-JÖRGENSEN, E., BERTRAM, U. Denture stomatitis. 1. The etiology in relation to trauma and infection. *Acta Odontol.Scand.*, v.28,p.71-92, 1970.
- 61 BUDTZ-JÖRGENSEN, E., LÖE, H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. *Scand.J.Dent.Res.*, v.80, p.457-64, 1972.
- 62 BUDTZ-JÖRGENSEN, E., STENDERUP, A., GRABOWSKI, M. An epidemiologic study of yeasts in elderly denture wearers. *Community Dent.Oral Epidemiol.*, v.3, p.115-9, 1975.
- 63 BUDTZ-JÖRGENSEN, E., THEILADE, E., THEILADE, J. Quantitative relationship between yeasts and bacteria in denture-induced stomatitis. *Scand.J.Dent.Res.*, v.91, p.134-42, 1983.
- 64 BURFORD-MASON, A.P., WEBER, J.C.P., WILLOUGHBY, J.M.T. Oral carriage of *Candida albicans*, ABO blood group and secretor status in healthy subjects. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.26, p.49-56, 1988.
- 65 BUTLER, K.M., BAKER, C. Candida: an increasingly important pathogen in the nursery. *Pediatr.Clin.N.Am.*, v.35, p.543-63, 1988.
- 66 CAUCH, V.L.G. Imunoglobulinas. In: CAUCH, V.L.G., VAZ, C.A.C. *Imunologia básica*. São Paulo: Artes Médicas, 1988. p.65-103.

- 67 CARCASSI, A., SALETTI, M., BOSCHI, S. Artrite acuta da *Candida*: isolamento di *Candida* in un eroinomane. *Minerva Med.*, v.73, p.2905-9, 1982.
- 68 CARLSSON, J., LARSEN, J.T., EDLUND, M.B. *Peptostreptococcus micros* has a uniquely high capacity to form hydrogen sulfide from glutathione. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.42-5, 1993.
- 69 CASSONE, A. Cell wall of pathogenic yeasts and implications for antimycotic therapy. *Drugs Exp.Clin.Res.*, v.12, p.635-43, 1986.
- 70 CASSONE, A. SIMONETE, N., STRIPPOLI, V. Ultrastructural changes in the wall during germ-tube formation from blastopores of *Candida albicans*. *J.Gen.Microbiol.*, v.77, p.417-26, 1973.
- 71 CASSONE, A. et al. Evidence for a correlation between proteinase secretion and vulvovaginal candidosis. *J.Infect.Dis.*, v.156, p.777-83, 1987.
- 72 CATALAN, A., HERRERA, R., MARTINEZ, A. Denture plaque and palatal mucosa in denture stomatitis: scanning electron microscopic and microbiologic study. *J.Prosthet.Dent.*, v.57, p.581-6, 1987.
- 73 CAWSON, R.A., LEHNER, T. Chronic hyperplastic candidiasis - candidal leucoplakia. *Br.J.Dermatol.*, v.80, p.9-16, 1968.
- 74 CHAKRABARTI, A., NAYAK, N., TALWAR, P. *In vitro* proteinase production by *Candida* species. *Mycopathologia*, v.114, p.163-8, 1991.

- 75 CHALLACOMBE, S.J. Immunologic aspects of oral candidiasis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.78, p.202-10, 1994.
- 76 CHATTAWAY, F.W., ODDS, F.C., BARLOW, A.J.E. An examination of the production of hydrolytic enzymes and toxins by pathogenic strains of *Candida albicans*. *J.Gen.Microbiol.*, v.67, p.255-63, 1971.
- 77 CHEN, C.K. et al. Analysis of "in vitro" lymphoproliferative responses and antibody formation following subcutaneous injection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Wolinella recta* in a murine model. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.6, p.12-6, 1991.
- 78 CHEN, C.K. et al. *Eikenella corrodens* in the human oral cavity. *J.Periodontol.*, v.60, p.611-6, 1989.
- 79 CHEN, C.K. et al. Humoral immune responses to *Porphyromonas gingivalis* before and following therapy in rapidly progressive periodontitis patients. *J.Periodontol.*, v.62, p.781-91, 1991.
- 80 CHEW, W.P., THEUS, T.L. Candida precipitins. *J.Immunol.*, v.98, p.220-4, 1967.
- 81 CHIEW, Y.Y., SHEPERD, M.G., SULLIVAN, P.A. Regulation of chitin synthesis during germ-tube formation in *Candida albicans*. *Arch.Microbiol.*, v.125, p. 97-104, 1980.
- 82 CHAISTERSSON, L.A., ZAMBON, J.J. Suppression of subgingival *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J.Clin.Periodontol.*, v.20, p.395-401, 1993.

- 83 CHRISTERSSON, L.A. et al. Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J.Periodontol.*, v.63, p.418-25, 1992.
- 84 COMAISH, J.S., GIBSON, B., GREEN, C.A. Candidiasis: serology and diagnosis. *J.Invest.Dermatol.*, v.40, p.139-42, 1963.
- 85 COOGAN, M.M., SWEET, S.P., CHALLACOMB, S.J. Immunoglobulin A (IgA), IgA1, and IgA2 antibodies to *Candida albicans* in whole and parotid saliva in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *Infect.Immun.*, v.62, p.892-6, 1994.
- 86 CROSSNER, C.G. et al. Periodontitis in the primary dentition associated with *Actinobacillus actinomycetemcomitans* infection and leukocyte dysfunction: a 3 1/2 year follow-up. *J.Clin.Periodontol.*, v.17, p.264-7, 1990.
- 87 CUFF, C.F., PACKER, B.J., ROGERS, T.J. A further characterization of *Candida albicans*-induced suppressor B-cells activity. *Immunology*, v.68, p.80-6, 1989.
- 88 CURTIS, M.A. et al. Identification of the major surface protein antigens of *Porphyromonas gingivalis* using IgG antibody reactivity of periodontal case-control serum. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.6, p.321-6, 1991.
- 89 CUTLER, J.A. Acute systemic candidiasis in normal and congenitally thymid-deficient (nude) mice. *J.Reticuloendothel.Soc.*, v.19, p.121-4, 1976.
- 90 CUTLER, J.E., FRIEDMAN, L., MILNER, K. Biological and chemical characterization of toxic substances from *Candida albicans*. *Infect.Immun.*, v.6, p.616-27, 1972.

- 91 DAHLÉN, G. Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. *Adv.Dent.Res.*, v.7, p.163-74, 1993.
- 92 DAHLÉN, G. et al. Periodontal disease and dental caries in relation to primary IgG subclass and other humoral immunodeficiencies. *J.Clin.Periodontol.*, v.20, p.7-13, 1993.
- 93 DAHLÉN, G. et al. Putative periodontopathogens in diseased and non-diseased persons exhibiting poor oral hygiene. *J.Clin.Periodontol.*, v.19, p.35-42, 1992.
- 94 DAHLE, U.R., OLSEN, I. Anaerobiosis and serum promote mycelium formation by *Candida albicans* in colonies on TSBV agar. *Acta Odontol.Scand.*, v.49, p.41-5, 1991.
- 95 DAMASCENO, C.A.V. et al. Distribuição quantitativa de *Candida* na cavidade oral humana. *Arq.Cent.EstCurso Odontol.*, v.11, p.245-60, 1974.
- 96 DARWAZEH, A.M.G. et.al. The relationship between colonisation, secretor status and *in vitro* adhesion of *Candida albicans* to buccal epithelial cells from diabetics. *J.Med.Microbiol.*, v.33, p.43-9, 1990.
- ✓ 97 DARWAZEH, A.M.G. et al. Systemic fluconazole therapy and *in vitro* adhesion of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. *J.Oral Pathol.Med.*, v.20, p.17-9, 1991.
- 98 DAVENPORT, J.C. The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. *Br.Dent.J.*, v.129, p.151-6, 1970.

- 99 DAWLEY, D.L., POLAKOFF, J. Rapid killing of monocytes *in vitro* by *Candida albicans* yeast cells. *Infect.Immun.*, v.51, p.307-13, 1986.
- 100 DEMOLON, I.A. et al. Effects of antibiotic treatment on clinical conditions and bacterial growth with guided tissue regeneration. *J.Periodontol.*, v.64, p.609-16, 1993.
- 101 DEWIT, G.V., COBB, C.M., KILLOG, W.L. The acute periodontal abscess: microbial penetration of the soft tissue wall. *Int.J.Periodont. Restorative Dent.*, v.15, p.39-51, 1985.
- 102 DJACZENKO, W., CASSONE, A. Visualization of new ultrastructural components in the cell wall of *Candida albicans* with fixatives containing tapo. *J.Cell.Biol.*, v.52, p.186-90, 1971.
- 103 DJEU, J.Y., BLANCHARD, D.K. Regulation of human polymorphonuclear neutrophil (PMN) activity against *Candida albicans* by large granular lymphocytes via release of PMN activating factor. *J.Immunol.*, v.139, 2761-7, 1987.
- 104 DOLBY, A.E., WALKER, D.M., MATHEWS, N. *Introduction to oral immunology*. London: Edward Arnold, 1981. 101p.
- 105 DOMER, J.E., MOSER, S.A. Experimental murine candidiasis: cell-mediated immunity after cutaneous challenge. *Infect.Immun.*, v.20, p.88-98, 1978.
- 106 DOREY, J.L. et al. Oral mucosal disorders in denture wearers. *J.Prosthet.Dent.*, v.53, 210-6, 1985.
- 107 DOUGLAS, L.J. Adhesion of *Candida* species to epithelial surfaces. *Critical Rev.Microbiol.*, v.15, p.27-43, 1987.

- 108 DOUGLAS, L.J. Adhesion of pathogenic *Candida* species to host surfaces. *Microbiol.Sciences*, v.2, p.243-7, 1985.
- 109 DUNCAN, M.J. et al. Interactions of *Porphyromonas gingivalis* with epithelial cells. *Infect.Immun.*, v.61, p.2260-5, 1993.
- 110 DZINK, J.L., SOCRANSKY, S.S., HAFFAJEE, A.D. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. *J.Clin.Periodontol.*, v.15, p.316-23, 1988.
- 111 DZINK, J.L. et al. Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions. *J.Clin.Periodontol.*, v.12, p.648-59, 1985.
- 112 EBERSOLE, J.L., KORNMAN, K.S. Systemic antibody responses to oral microorganisms in the cynomolgus monkey: development of methodology and longitudinal responses during ligature-induced disease. *Rev.Immunol.*, v.142, p.829-39, 1991.
- 113 EBERSOLE, J.L., TAUBMAN, M.A. The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.5, p.112-41, 1994.
- 114 EBERSOLE, J.L. et al. Human serum antibody responses to oral microorganisms 4. Correlation with homologous infection. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.2, p.53-9, 1987.
- 115 EBERSOLE, J.L. et al. Serum antibody in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-infected patients with periodontal disease. *Infect.Immun.*, v.59, p.1795-802, 1991.

- 116 ELORZA, M.V., MUGHI, A., SENTANDRAEU, R. Dimorphism in *Candida albicans*: contribution of mannoproteins to the architecture of yeast and mycelian cell walls. *J.Gen.Microbiol.*, v.131, p.2209-16, 1985.
- 117 EPSTEIN, J.B. Antifungal therapy in oropharyngeal mycotic infections. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.69, p.32-41, 1990.
- 118 EPSTEIN, J.B., DECOTEAU, W.E., WILKINSON, A. Effect of sialor in treatment of xerostomia in Sjögren's syndrome. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.56, p.495-9, 1983.
- 119 EPSTEIN, J.B., PEARSALL, N.N., TRUELOVE, E.L. Quantitative relationship between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. *J.Clin.Microbiol.*, v.12, p.475-6, 1980.
- 120 EPSTEIN, J.B. et al. Effects of especific antibodies on the interation between the fungus *Candida albicans* and human oral mucosa. *Arch.Oral Biol.*, v.27, p.469-74, 1982.
- 121 EVANS, R.T. et al. Immunization with *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* fimbriae protects against periodontal destruction. *Infect.Immun.*, v.60, p.2926-35, 1992.
- 122 EVANS, R.T. et al. Periodontopathic potential of two strains of *Porphyromonas gingivalis* in gnotobiotic rats. *Arch.Oral Biol.*, v.37, p.813-9, 1992.
- 123 EVERSOLE, L.R., et al. The effects of human immunodeficiency virus infection on macrophage phagocytosis of *Candida*. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.9, p.55-9, 1994.

- 124 EVRON, R., DREWE, J.A. Demonstration of polysaccharides in the cell wall of *Candida albicans* blastopores, using silver methenamine staining and sequence of extraction procedures. *Mycopathologia*, v.84, p.141-9, 1984.
- 125 FALKLER, W.A. et al. The ELISA system for measuring antibody reactive to *Fusobacterium nucleatum* in the sera of patients with chronic periodontitis. *J.Periodontol.*, v.53, p.762-6, 1982.
- 126 FAUX, J.A., et al. A comparison of specific IgG antibody levels to the cell wall mannan of *Candida albicans* in normal individuals and in patients with primary antibody deficiency. *J.Immunol.Methods*, v.153, p.167-72, 1992.
- 127 FIEHN, N.E., KLAUSEN, B., EVANS, R.T. Periodontal bone loss in *Porphyromonas gingivalis*-infected specific pathogen-free rats after preinoculation with endogenous *Streptococcus sanguis*. *J.Periodont.Res.*, v.27, p.609-14, 1992.
- 128 FIELD, E.A., FIELD, J.K., MARTIN, M.V. Does *Candida* have a role in oral epithelial neoplasia? *J.Med.Vet.Micol.*, v.27, p.277-94, 1989.
- 129 FISHER, B.M. et al. Carriage of *Candida* species in the oral cavity in diabetic patients: relationship to glycaemic control. *J.Oral Pathol.*, v.16, p.282-4, 1987.
- 130 FLETCHER, J. et al. Mouth lesions in iron deficient anaemia: relationship to *Candida albicans* in saliva and to impairment of lymphocyte transformation. *J.Infect.Dis.*, v.131, p.44-50, 1975.
- 131 FOTOS, P.G. et al. Cytotoxic and immunostimulatory effects of *Bacteroides* cell products. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.360-6, 1990.

- 132 FRANCIS, C.A., FARTHING, P.M. The response of Langerhans cells to palatal cover plates in the rat. *Arch.Oral Biol.*, v.34, p.377-81, 1989.
- 133 FRANKER, C.K. et al. Characterization of the mycoflora from oral mucosal surfaces of some HIV-infected patients. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.69, p.683-7, 1990.
- 134 FREITAS, H.R., BIRMAN, E.G. Candidose bucal: aspectos clínicos e terapêuticos. *Rev.Assoc.Paul.Cirurg.Dent.*, v.43, p.227-30, 1989.
- 135 GARADINER, A., PODGORSKI, C., DAY, A.W. Serological studies on the fimbriae of yeasts-like species. *Bot.Gaz.*, v.143, p.534-41, 1982.
- 136 GELFAND, M.S. *Candida tropicalis*. *Infect.Control.Hosp.Epidemiol.*, v.10, p.280-3, 1989.
- 137 GEMMELL, E., SEYMOUR, G.J. Interleukin 1, interleukin 6 and transforming growth factor-beta production by human gingival mononuclear cells following stimulation with *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. *J.Periodont.Res.*, v.28, p.122-9, 1993.
- 138 GHANNOUM, M.A. Mechanisms potentiating *Candida* infections: a review. *Mycoses*, v.31, p.543-57, 1988.
- 139 GHANNOUM, M.A., ELTEEN, K.A. Correlative relationship between proteinase production, adherence and pathogenicity of various strains of *Candida albicans*. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.24, p.407-13, 1986.

- 140 GHANNOUM, M.A. et al. Effects of octenidine and pirltenidine on adhesion of *Candida* species to human buccal epithelial cells *in vitro*. *Arch.Oral Biol.*, v.35, p.249-53, 1990.
- 141 GIANNI, E. et al. Incidenza della *Candida albicans* nei bambini portatori di apparecchiature ortodontiche: indagine epidemiologica. *Prev.Stomatol.*, v.10, p.39-43, 1984.
- 142 GIBBONS, R.J., VAN HOUTE, J. Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. *Infect.Immun.*, v.3, p.567-73, 1971.
- 143 GIGER, D.K. et al. Experimental murine candidiasis pathological and immune responses in T-lymphocyte-depleted mice. *Infect.Immun.*, v.21, p.729-37, 1978.
- 144 GLIMORE, B.J. et al. An IC3b receptor on *Candida albicans*: structure, function and correlates for pathogenicity. *J.Infect.Dis.*, v.157, p.38-46, 1988.
- 145 GIORGIO, J.V., et al. Early effects of HIV on CD4 lymphocytes *in vivo*. *J.Immunol.*, v.138, 3725-30, 1987.
- 146 GMÜR, R., STAUB, J.R., GUGGENHEIM, B. Prevalence of *Bacteroides forsythus* and *Bacteroides gingivalis* in subgingival plaque of prosthodontically treated patients on short recall. *J.Periodont.Res.*, v.24, p.113-20, 1989.
- 147 GOMEZ, F.J., GOMEZ, A.M., DEEPE JR., G.S. An 80-kilodalton antigen from *Histoplasma capsulatum* that has homology to heat shock protein 70 induces cell-mediated immune responses and protection in mice. *Infect.Immun.*, v.60, p.2565-71, 1992.

- 148 GONZÁLEZ, S. et al. Yeasts in juvenile periodontitis: preliminary observations by scanning electron microscopy. *J.Periodontol.*, v.58, p.119-24, 1987.
- 149 GOPAL, P.K., SULLIVAN, P.A., SHEPHERD, M.G. Analysis of wall glucans from yeasts, hyphal and germ-tube forming cells of *Candida albicans*. *J.Gen.Microbiol.*, v.130, 3295-301, 1984.
- 150 GOPAL, P.K., SULLIVAN, P.A., SHEPHERD, M.G. Metabolism of ¹⁴C-glucose by regenerating spheroplasts of *Candida albicans*. *J.Gen.Microbiol.*, v.130, p.325-35, 1984.
- 151 GOPALSAMI, C. et al. Effect of outer membrane of *Treponema denticola* on bone resorption. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.121-4, 1993.
- 152 GORDON, R.A. et al. Intra-abdominal abscess and fungemia caused by *Candida krusei*. *Arch.Intern.Med.*, v.140, p.1239-40, 1980.
- 153 GRAHAM, D.P., FROST, H.M. *Candida guilliermondii* infection of the knee complicating rheumatoid arthritis: a case report. *Arthritis Rheum.*, v.16, p.272-7, 1973.
- 154 GREENFIELD, R.A., JONES, J.M. Purification and characterization of a major cytoplasmic antigen of *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, v.34, p.469-77, 1981.
- 155 GREENSPAN, D. Treatment of oral candidiasis in HIV infection. *Oral Surg.Oral Med.OralPathol.*, v.78, p.211-5, 1994.
- 156 GREGORY, R.L. et al. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. *J.Periodont.Res.*, v.27, p.176-83, 1992.

- 157 GRENIER, D., MAYRAND, D., McBRIDE, B.C. Further studies on the degradation of immunoglobulins by black-pigmented *Bacteroides*. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.4, p.12-8, 1989.
- 158 GUNSOLLEY, J.C. et al. Serum antibodies to periodontal bacteria. *J.Periodontol.*, v.61, p.412-9, 1990.
- 159 GUSBERTI, F.A. et al. Cultivable microflora of plaque from full denture bases and adjacent palatal mucosa. *J.Biol.Buccale*, v.13, p.227-36, 1985.
- 160 HAFFAJEE, A.D., DZINK, J.L., SOCRANSKY, S.S. Effect of modified Widman flap surgery and systemic tetracycline on the subgingival microbiota of periodontal lesions. *J.Clin.Periodontol.*, v.15, p.255-62, 1988.
- 161 HAFFAJEE, A.D., SOCRANSKY, S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.5, p.78-111, 1994.
- 162 HARVEY, R.L., MYERS, J.P. Nosocomial fungemia in a large community teaching hospital. *Arch.Intern.Med.*, v.147, p.2117-20, 1987.
- 163 HASENCLEVER, H.F., MITCHELL, W.O. Antigenic studies of *Candida*. 3. Comparative pathogenicity of *Candida albicans* group A, group B, and *C.stellatoidea*. *J.Bacteriol.*, v.82, p.578-81, 1962.
- 164 HASENCLEVER, H.F., MITCHELL, W.O. Pathogenicity of *C.albicans* and *C.tropicalis*. *Sabouraudia*, v.1, p.16-21, 1961.

- 165 HASHIMOTO, T. In vitro study of contact-mediated killing of *Candida albicans* hyphae by activated murine peritoneal macrophages in a serum-free medium. *Infect.Immun.*, v.59, p.3555-61, 1991.
- 166 HATTERI, M. et al., Keratinolytic proteinase produced by *Candida albicans*. *Saubouraudia*, v.22, p.175-85, 1984
- 167 HEIDENREICH, F., DIERICH, M.P. *Candida albicans* and *Candida stellatoidea*, in contrast to other *Candida* species, bind iC3b and C3d but not C3b. *Infect.Immun.*, v.50, p. 598-600, 1985.
- 168 HEIMDAHL, A., NORD, C.E. Oral yeast infections in immunocompromised and seriously diseased patients. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.77-84, 1990.
- 169 HELGELAND, K., NORDBY, O. Cell cycle-specific growth inhibitory effect on human gingival fibroblasts of a toxin isolated from the culture medium of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J.Periodont.Res.*, v.28, p.161-5, 1993.
- 170 HELOVUO, H., HAKKARAINEN, K., PAUNIO, K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.75-9, 1993.
- 171 HERRERA, J.L., LYONS, M.F., JOHNSON, L.F. Saliva: its role in health and disease. *J.Clin.Gastroenterol.*, v.10, p.569-78, 1988.
- 172 HERSHON, L.E. Elaboration of hyaluronidase and chondroitin sulfatase by microorganisms inhabiting the gingival sulcus: evaluation of screening method for periodontal disease. *J.Periodontol.*, v.42, p.34-6, 1971.

- 173 HILGER, A.E., DANLEY, D.L. Alteration of polymorphonuclear leucocyte activity by viable *Candida albicans*. *Infect.Immun.*, v.27, p.714-20, 1980.
- 174 HOLBROOK, W.P., SOFAER, J.A., SOUTHAM, J.C. Experimental oral infection of mice with a pathogenic and a non-pathogenic strain of the yeast *Candida albicans*. *Arch.Oral Biol.*, v.28, p.1089-91, 1983.
- 175 HOLMBERG, K. Serological diagnosis of systemic candidiasis and invasive aspergillosis. *Scand.Infect.Dis.*, v.16 (suppl), p.26-32, 1978.
- 176 HOLMSTRUP, P., AXÉLL, T. Classification and clinical manifestations of oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.57-9, 1990.
- 177 HOLMSTRUP, P., BESSERMAN, M. Clinical, therapeutic, and pathogenic aspects of chronic oral multifocal candidiasis. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.56, p.388-95, 1983.
- 178 HOLMSTRUP, P., SAMARANAYAKE, L.P. Acute and AIDS-related candidoses. In: SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990. p.133-155.
- 179 HOLT, S.C. et al. Implantation of *Bacteroides gingivalis* in non human primates initiates progression of periodontitis. *Science*, v.239, p.55-7, 1988.
- 180 HORISBERGER, M., VONLANTHEN, M. Location of mannan and chitin on thin sections of budding yeasts with gold markers. *Arch.Microbiol.*, v.115, p.1-7, 1977.

- 181 HUBBARD, M.J., SULLIVAN, P.A., SHEPHERD, M.G. Morphological studies of N-acetylglucosamine induced germ tube formation by *Candida albicans*. *Can.J.Microbiol.*, v.31, p. 696-701, 1985.
- 182 HURLEY, R., MORRIS, E.D. The pathogenicity of *Candida* species in the human vagina. *J.Obstet.Gynaec.Br.Commonw.*, v.71, p.692-5, 1964.
- 183 HURLEY, R., STANLEY, C. Cytopathic effects of pathogenic and nonpathogenic species of *Candida* on cultured mouse epithelial cells: relation to the growth rate and morphology of the fungi. *J.Med.Microbiol.*, v.2, p.63-74, 1969.
- 184 IRVING, J.T., SOCRANSKY, S.S., TANNER, A.C.R. Histological changes in experimental periodontal disease in rats monoinfected with Gram-negative organisms. *J.Periodont.Res.*, v.13, p.326-32, 1978.
- 185 ISENBERG, H.D., ALLERHAND, J., BEAKMAN, J.I. An endotoxin-like fraction extracted from the cells of *Candida albicans*. *Nature*, v.197, p.516-7, 1963.
- 186 ISHIGURO, A., et al. Immunoblotting analysis of sera from patients with candidal vaginitis and healthy females. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.30, p.281-92, 1992.
- 187 IWATA, K. Fungal toxins and their role in the etiopathology of fungal infection. In: *Recent advances in medical and veterinary micology*. Tokyo: Ed.K.Iwata, 1975. p.15-33.
- 188 JEGANATHAN, S., CHAN, Y.C. Immunodiagnosis in oral candidiasis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.74, p.451-4, 1992.

- 189 JEGANATHAN, S., et al. Immunoglobulin A₁ and A₂ subclass of salivary antibodies to *Candida albicans* in patients with oral candidosis. *Clin.Exp.Immunol.*, v.70, p.316-21, 1987.
- 190 JENKINS, W.M.M. et al. Nutritional deficiency in oral candidosis. *Int.J.Oral Surg.*, v.6, p.204-10, 1977.
- 191 JOHANNESSEN, A.C., et al. In situ characterization of the inflammatory cell infiltrates of hyperplastic denture stomatitis. *Acta Odontol.Scand.*, v.44, p.185-92, 1986.
- 192 JOHNSON, V. et al. Effects of treatment on antibody titer to *Porphyromonas gingivalis* in gingival crevicular fluid of patients with rapidly progressive periodontitis. *J.Periodontol.*, v.64, p.559-65, 1993.
- 193 JONES, J.H., ADAMS, D. Experimentally induced acute oral candidosis in the rat. *Br.J.Derm.*, v.83, p.670-3, 1970.
- 194 JONES, J.M. Humoral immune response to *Candida albicans*. *Immunol.Ser.*, v.47, p.375-400, 1989.
- /195 JORGE, A.O.C. *Efeitos da sialoadenectomia na presença de Candida albicans e candidose na cavidade bucal de ratos*. Piracicaba, 1991. 235p. Tese (Doutorado)) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
- /196 JORGE, A.O.C. *Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de Candida albicans na cavidade bucal*. Taubaté, 1986. 45p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté.

- 197 JORGE, A.O.C. et al. Effect of sialoadenectomy on the carriage of *Candida albicans* in the mouths of rats. *J.Oral Pathol.Med.*, v.22, p.138-40, 1993.
- 198 JORGE, A.O.C. et al. Estomatite por prótese total: presença de bactérias e fungos. *Rev.Arq.Centro Est.Curso Odontol.UFMG*, v.27, p.9-15, 1990.
- 199 JORGE, A.O.C. et al. Influência do uso de aparelhos ortodônticos sobre a presença de *Candida albicans* na cavidade bucal. *Rev.Assoc.Paul.Cirg.Dent.*, v.41, p.308-10, 1987.
- 200 JORGE, A.O.C. et al. Oral candidiasis established in the sialoadenectomised rat. *J.Oral Pathol.Med.*, v.22, p.54-6, 1993.
- 201 JORIZZO, J.L. Chronic mucocutaneous candidosis: an update. *Arch.Dermatol.*, v.118, p.963-5, 1982.
- 202 KAMINISHI, H. et al. Degradation of bovine achilles tendon collagen by *Candida albicans* proteinase. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.26, p.315-8, 1988.
- 203 KEARNS, M.J., DAVIES, P., SMITH, H. Variability of the adherence of *Candida albicans* strains to human buccal epithelial cells: inconsistency of differences between strains related to virulence. *Sabouraudia*, v.21, p.93-8, 1983.
- 204 KELLOG, S.G., DAVIS, C., BENIRSCHKE, K. *Candida parapsilosis*: previously unknown cause of fetal infection: a report of two cases. *J.Repr.Med.*, v.12, p.159-62, 1974.
- 205 KENNEDY, M.J. Adhesion and association mechanisms of *Candida albicans*. *Current Topics Med.Mycol.*, v.2, p.73-169, 1988.

- 206 KESAVALU, L. et al. *Porphyromonas gingivalis* virulence in mice: induction of immunity to bacterial components. *Infect.Immun.*, v.60, p.1455-64, 1992.
- 207 KIEHN, T.E., EDWARDS, F.F., ARMSTRONG, D. The prevalence of yeast in clinical specimens from cancer patients. *Am.J.Clin. Pathol.*, v.73, p.518-21, 1980.
- 208 KIM, K.J. et al. Longitudinal monitoring for disease progression of localized juvenile periodontitis. *J.Periodontol.*, v.63, p.806-11, 1992.
- ✓ 209 KIMURA, L.H., PEARSALL, N.N. Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. *Infect.Immun.*, v.21, p.64-8, 1978.
- ✓ 210 KIMURA, L.H., PEARSALL, N.N. Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. *Infect.Immun.*, v.28, p.464-8, 1980.
- 211 KINANE, D.F. et al. Local and systemic antibody response to putative periodontopathogens in patients with chronic periodontitis: correlation with clinical indices. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.65-8, 1993.
- ✓ 212 KING, R.D., LEE, J.C., MORRIS, A.L. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. *Infect.Immun.*, v.27, 667-74, 1980.
- 213 KIRKPATRICK, C.H., RICH, R.B., BENNETT, J.E. Chronic mucocutaneous candidiasis: model building in cellular immunity. *Ann.Intern.Med.*, v.74, p.955-78, 1971.

- 214 KLAUSEN, B. et al. Periodontal bone level and gingival proteinase activity in gnotobiotic rats immunized with *Bacteroides gingivalis*. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.6, p.193-201, 1991.
- 215 KLEIN, J.J., WATANAKUNAKORN, C. Hospital-acquired fungemia: its natural course and clinical significance. *Am.J.Med.*, v.67, p.51-8, 1979.
- 216 KNIGHT, L., FLETCHER, J. Growth of *Candida albicans* in saliva: stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids, and diabetes mellitus. *J.Infect.Dis.*, v.123, p.371-7, 1971.
- 217 KOLAROVA, N., MASLER, L., SIKL, D. Cell wall glycopeptides of *Candida albicans* serotypes A and B. *Biochim.Biophys.Acta*, v.328, p.221-27, 1973.
- 218 KOLNICK, J.R. Oral candidosis: report of a case implicating *Candida parapsilosis* as a pathogen. *Oral Surg. Oral Pathol. Oral Med.*, v.50, p.411-5, 1980.
- 219 KOMSHIAN, S.V. et al. Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. *Rev.Infect.Dis.*, v.11, p.379-90, 1989.
- 220 KONTOU-KASTELLANOU, C. et al. A case of *Candida parapsilosis* endocarditis. *Mycoses*, v.33, p.427-9, 1990.
- 221 KOOPMANS, A.S.F., KIPPUW, N., GRAAFF, J. Bacterial involvement in denture-induced stomatitis. *J.Dent.Res.*, v.67, p.1246-50, 1988.

- 222 KORNMAN, K.S., HOLT, S.C., ROBERTSON, P.B. The microbiology of ligature-induced periodontitis in the cynomolgus monkey. *J.Periodont.Res.*, v.16, p.363-71, 1981.
- 223 KORNMAN, K.S., LÖE, H. The role of local factors in the etiology of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.2, p.83-97, 1993.
- 224 KROGH, P. The role of yeasts in oral cancer by means of endogenous nitrosation. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.85-8, 1990.
- 225 KULKARNI, G.V. et al. A randomized, placebo-controlled trial of doxycycline: effect on the microflora of recurrent periodontitis lesions in high risk patients. *J.Periodontol.*, v.62, p.197-202, 1991.
- 226 KURITA-OCHIAI, T., OCHIAI, K., IKEDA, T. Immunosuppressive effect induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: effect on immunoglobulin production and lymphokine synthesis. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.7, p.338-43, 1992.
- 227 LACAZ, C.S. *Candidíases*. São Paulo: E.P. U.; EDUSP, 1980. 190p.
- 228 LAI, C.H. et al. *Bacteroides forsythus* in adult gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.2, p.152-7, 1987.
- 229 LAI, C.H. et al. *Wolinella recta* in adult gingivitis and periodontitis. *J.Periodont.Res.*, v.27, p.8-14, 1992.
- 230 LAMEY, P.J. et al. Secretor status, candidal carriage and candidal infection in patients with diabetes mellitus. *J.Oral Pathol.*, v.17, p.354-7, 1988.

- 231 LAMEY, P.J. et al. Chronic hyperplastic candidosis and secretor status. *J.Oral Pathol.Med.*, v.20, p.64-7, 1991.
- 232 LAY, K.M., RUSSEL, C. *Candida* species and yeasts in mouth of infants from a special care of a maternity hospital. *Arch.Dis.Clin.*, v.52, p.794-804, 1977.
- 233 LAWSON, D.R., MEYER, T.E. Biochemical characterization of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* collagenase. *Infect. Immun.*, v.60, p.1524-9, 1992.
- 234 LEHNER, T. Immunofluorescence study of *Candida albicans* in candidiasis, carriers and controls. *J.Pathol.Bacteriol.*, v.91, p.97-104, 1966.
- 235 LEHNER, T. Oral thrush, or acute pseudomembranous candidiasis. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.18, p.27-37, 1964.
- 236 LEHNER, T. Serum fluorescent antibody and immunoglobulin estimations in candidosis. *J.Med.Microbiol.*, v.3, p.475-81, 1970.
- 237 LEHNER, T., BUCKLEY, H.R., MURRAY, I.G. The relationship between fluorescent, agglutinating, and precipitating antibodies to *Candida albicans* and their immunoglobulin classes. *J.Clin.Pathol.*, v.25, p.344-8, 1972.
- 238 LEHNER, T., WILTON, J.M.A., IVANYI, L. Immunodeficiencies in chronic mucocutaneous candidosis. *Immunology*, v.22, p. 755-87, 1972.

- 239 LEHAER, R.I., KLEIN, M.J. Leucocytes myeloperoxidase deficiency and disseminated candidosis: the role of myeloperoxidase in resistance to *Candida* infection. *J.Clin.Invest.*, v.48, p.1478-88, 1969.
- 240 LEIJH, P.C.J., van den BARSSELAAR, M.T., van FURTH, R. Kinetics of phagocytosis and intracellular killing of *Candida albicans* by human granulocytes and monocytes. *Infect.Immun.*, v.17, p.313-5, 1977.
- 241 LEUNG, K.P. et al. Surface appendages, hemagglutination, and adherence to human epithelial cells of *Bacteroides intermedius*. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.4, p.204-10, 1989.
- 242 LEW, M.A. Diagnosis of systemic *Candida* infections. *Ann.Rev.Med.*, v.40, p.87-97, 1989.
- 243 LIPPKE, J.A. et al. DNA probe detection of *Eikenella corrodens*, *Wolinella recta* and *Fusobacterium nucleatum* in subgingival plaque. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.6, p.81-7, 1991.
- 244 LISTGARTEN, M.A. The structure of dental plaque. *Periodontology 2000*, v.5, p.52-65, 1994.
- 245 LOESCHE, W.J. et al. Effects of metronidazole on periodontal treatment needs. *J.Periodontol.*, v.62, p.247-257, 1991.
- 246 LOESCHE, W.J. et al. Metronidazole in periodontitis: reduced need for surgery. *J.Clin.Periodontol.*, v.19, p.103-12, 1992.
- 247 LOPATIN, D.E., BLACKBUAN, E. Avidity and titer of immunoglobulin G subclasses to *Porphyromonas gingivalis* in adult periodontitis patients. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.7, p.332-7, 1992.

- 248 LOPEZ, N.J. Clinical, laboratory, and immunological studies of a family with a high prevalence of generalized prepubertal and juvenile periodontitis. *J.Periodontol.*, v.63, p.457-68, 1992.
- 249 LOURIA D.B., BRAYTON, R.G. Behavior of *Candida* cells within leukocytes. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v.115, p.93-6, 1974.
- 250 LOURIA, D.B. et al. Fungemia caused by "nonpathogenic" yeasts. *Arch.Intern.Med.*, v.119, p.247-52, 1967.
- 251 LUCATORTO, F.M. et al. Treatment of refractory oral candidiasis with fluconazole. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.71, p.42-4, 1991.
- 252 LUNDSTRÖM, I.M.C., ANNEROTH, G.B., HOLMBERG, K. *Candida* in patients with oral lichen planus. *Int.J.Oral Surg.*, v.13, p.226-38, 1984.
- 253 LYNCH, D.P. Oral candidiasis. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.78, p.189-93, 1994.
- 254 LYON, D.G., CHICK, R.O. Denture sore mouth and angular cheilitis: a preliminary investigation into their possible association with *Candida* infection. *Dent.Pract.*, v.7, p.212-7, 1957.
- 255 MacDONALD, F. Secretion of inducible proteinase by pathogenic *Candida* species. *Sabouradia*, v.22, p.79-82, 1984.
- 256 MacFARLANE, T.W. Ecology and epidemiology of *Candida*. In: SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990. p.21-46.
- 257 MacFARLANE, T.W. The oral ecology of patients with severe Sjögren's syndrome. *Microbios*, v.41, p.99-106, 1984.

- 258 MacFARLANE, T.W., HELNARSKA, S.J. The microbiology of angular cheilitis. *Br.Dent.J.*, v.140, p.403-6, 1976.
- 259 MacFARLANE, T.W., MASON, D.K. Changes in the oral flora in Sjögren's syndrome, *J.Clin.Pathol.*, v.27, 416-21, 1973.
- 260 MACKLER, B.F. et al. Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. *J.Periodontol.Res.*, v.12, p.37-45, 1977.
- 261 MACURA, A.B., PAWLICK, B., WITA, B. *Candida* adherence to mucosal epithelial cells with regard to its pathogenicity. *Zentralbl.Bakteriol.Hyg.*, v.254, p.561-5, 1983.
- 262 MAIBACH, H.I., KLIGMAN, A.M. The biology of experimental human cutaneous moniliasis. (*Candida albicans*). *Arch.Dermatol.*, v.85, p.233-57, 1962.
- 263 MALTHA, J.C., MIKX, F.H.M., KUIJPERS, F.J. Necrotizing ulcerative gingivitis in beagle dogs. 3. Distribution of spirochetes in interdental gingival tissue. *J.Periodont.Res.*, v.20, p.522-31, 1985.
- 264 MANDELL, I.D. The diagnostic uses of saliva. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.119-25, 1990.
- 265 MANDELL, I.D. The functions of saliva. *J.Dent.Res.*, v.66, p.623-7, 1987.
- 266 MANDELL, A.L., SOCRANSKY, S.S. Microbiological and clinical effects of surgery plus doxycycline on juvenile periodontitis. *J.Periodontol.*, v.59, p.373-9, 1988.

- 267 MANDELL, R.L. et al. Microbiology of healthy and diseased periodontal sites in poorly controlled insulin dependent diabetics. *J.Periodontol.*, v.63, p.274-9, 1992.
- 268 MANGENEY, M. et al. Direct activation of human B lymphocytes by *Candida albicans*-Derived mannan antigen. *Cell. Immunol.*, v.122, p.329-37, 1989.
- 269 MARINA, N.M. et al. *Candida tropicalis* and *Candida albicans* fungemia in children with leukemia. *Cancer*, v.68, p.594-9, 1991.
- 270 MARTIN, M.V. Germ-tube formation by oral strains of *Candida tropicalis*. *J.Med.Microbiol.*, v.12, p.187-93, 1979.
- 271 MARTIN, M.V., LAMB, D.J. Frequency of *Candida albicans* serotypes in patients with denture-induced stomatitis and in normal denture wearers. *J.Clin.Pathol.*, v.35, p.888-91, 1982.
- 272 MARTIN, M.V., WHITE, F.H. A microbiologic and ultrastructural investigation of germ-tube formation by oral strains of *Candida tropicalis*. *Am.J.Clin.Pathol.*, v.75, p.671-6, 1981.
- 273 MARTIN, S.A. et al. A comparison of the reactivity of *Eubacterium* species with localized and serum immunoglobulins from rapidly progressive and adult periodontitis patients. *J.Periodontol.*, v.59, p.32-9, 1988.
- 274 MATTHEWS, R.C., BURNIE, J.P., TABAQCHALI, S. Isolation of immunodominant antigens from sera of patients with systemic candidiasis and characterization of serological response to *Candida albicans*. *J.Clin.Microbiol.*, v.25, p.230-7, 1987.

- 275 MATTHEWS, R., et al. *Candida* and AIDS: evidence for protective antibody. *Lancet*, v.2, p.263-6, 1988.
- 276 MCCARTHY, G.M. Host factors associated with HIV-related oral candidiasis: a review. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.73, p.181-6, 1992.
- 277 McCOURTIE, J., DOUGLAS, L.J. Extracellular polymer of *Candida albicans*: isolation, analysis and role in adhesion. *J.Gen.Microbiol.*, v.131, p.495-503, 1985.
- 278 McCOURTIE, J., DOUGLAS, L.J. Relationship between cell surface composition of *Candida albicans* and adherence to acrylic after growth on different carbon sources. *Infect.Immun.*, v.32, p.1234-41, 1981.
- 279 McCOURTIE, J., MacFARLANE, T.W., SAMARANAYAKE, L.P. A comparison of the effects of chlorhexidine gluconate amphotericin B and nystatin on the adherence of *Candida* species to denture acrylic. *J.Antimicrob.Chemother.*, v.17, p.575-83, 1986.
- 280 McCOURTIE, J., MacFARLANE, T.W., SAMARANAYAKE, L.P. Effect of saliva and serum on the adherence of *Candida* species to chlorhexidine-treated denture acrylic. *J.Med.Microbiol.*, v.21, p.209-13, 1986.
- 281 McCOURTIE, J. et al. A longitudinal study of the cultivable subgingival anerobic bacteria isolated from sheep during the development of broken mouth periodontitis. *J.Med.Microbiol.*, v.31, p.275-83, 1990.

- 282 McLLROY, M.A. Failure of fluconazole to suppress fungemia in a patient with fever, neutropenia and typhilitis. *J.Infect.Dis.*, v.163, p.420-1, 1991.
- 283 McMANNERS, J., SAMARANAYAKE, L.P. Suppurative oral candidosis: review of the literature and report of a case. *Int.J.Oral Maxillofac.*, v.19, p.257-9, 1990.
- 284 McMILLAN, M.D., COWELL, V.M. Experimental candidiasis in the hamster cheek pouch. *Arch.Oral.Biol.*, v.30, p.249-55, 1985.
- 285 McNABB, H., MOMBELLI, A., LANG, N.P. Supragingival cleaning 3 times a week. The microbiological effects in moderately deep pockets. *J.Clin.Periodontol.*, v.19, p.348-56, 1992.
- 286 McNABB, H. et al. Periodontal pathogens in the shallow pockets of immigrants from developing countries. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.7, p.267-72, 1992.
- 287 MEGHJI, S., HENDERSON, B., WILSON, M. Higher-titer antisera from patients with periodontal disease inhibit bacterial capsule-induced bone breakdown. *J.Periodont.Res.*, v.28, p.115-21, 1993.
- 288 MEGHJI, S. et al. Anti-proliferative and cytotoxic activity of surface-associated material from periodontopathogenic bacteria. *Arch. Oral Biol.*, v.37, p.637-44, 1992.
- 289 MEGHJI, S. et al. Inhibition of bone DNA and collagen production by surface-associated material from bacteria implicated in the pathology of periodontal disease. *J.Periodontol.*, v.63, p.736-42, 1992.

- 290 MEITNER, S.W., BOWEN, W.H., HAIDARIS, C.G. Oral and esophageal *Candida albicans* infection in hyposalivatory rats. *Infect.Immun.*, v.59, p.2228-36, 1990.
- 291 MESTRES, J.B., RUIZ, M.E., ESTRANY, X.C. Infecciones graves por *Candida parapsilosis* en el lactante. *An.Esp.Pediatr.*, v.32, p.70-2, 1990.
- 292 MEYER, S.A., AHEARN, D.G., YARROW, D. Genus 4. *Candida* Berkhout. In: KREGER-VAN RIJ, N.J.W. *The yeasts: a taxonomic study*. 3.ed., Amsterdam: Elsevier, 1984, p.585-844.
- 293 MIHARA, J., YONEDA, T., HOLT, S.C. Role of *Porphyromonas gingivalis*-derived fibroblast-activating factor in bone resorption. *Infect.Immun.*, v.61, p.3562-4, 1993.
- 294 MIKX, F.H.M., HUG, H.U., MALTHA, J.C. Necrotizing ulcerative gingivitis in beagle dogs. 1. Attempts at unilateral induction and intraoral transmission of NUG, a microbiological and clinical study. *J.Periodont.Res.*, v.19, p.76-88, 1984.
- 295 MIKX, F.H.M., MALTHA, J.C., van CAMPEN, G.J. Spirochetes in early lesion of necrotizing ulcerative gingivitis, experimentally induced in beagles. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.5, p.86-9, 1990.
- 296 MIKX, F.H.M. et al. Effect of splint placement on black-pigmented *Bacteroides* and spirochets in the dental plaque of beagle dogs. *J.Dent.Res.*, v.63, p.1284-8, 1984.
- 297 MIRANDA, V.C, GRECCO, A.J.T., ITO, I.Y. Influência de aparelhos ortodônticos removíveis sobre a microbiologia da saliva de crianças. *Ars Curandi Odontol.*, v.9, p.14-6, 1983.

- 298 MONIACI, D. et al. Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. *J.Oral.Pathol.Med.*, v.19, p.477-81, 1990.
- 299 MONTES, L.F., KRUMDIECK, C., CORNWELL, P.E. Hypovitaminosis A in patients with mucocutaneous candidiasis. *J.Infect.Dis.*, v.128, p.227-30, 1973.
- 300 MOONEY, J., ADONOGIANAKI, E., KINANE, D.F. Relative avidity of serum antibodies to putative periodontopathogens in periodontal disease. *J.Periodont.Res.*, v.28, p.444-50, 1993.
- 301 MOORE, W.E.C. Microbiology of periodontal disease. *J.Periodont.Res.*, v.22, p.335-41, 1987.
- 302 MOORE, W.E.C., MOORE, V.H.L. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.5, p.66-77, 1994.
- 303 MOORE, W.E.C. et al. The microflora of periodontal sites showing active destructive progression. *J.Clin.Periodontol.*, v.18, p.729-39, 1991.
- 304 MORIOKA, M. et al. Cytotoxicity of *Porphyromonas gingivalis* toward cultured human gingival fibroblast. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.8, p.203-7, 1993.
- 305 MOURAD, S., FRIEDMAN, L. Pathogenicity of *Candida*. *J.Bacteriol.*, v.81, p.550-1, 1961.
- 306 MÜLLER, H.P., LANGE, D.E., MÜLLER, R.F. Failure of adjunctive minocycline-HCl to eliminate oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J.Clin.Periodontol.*, v.20, p.498-504, 1993.

- 307 MÜLLER, H.P., LANGE, D.E., MÜLLER, R.F. A 2-year study of adjunctive minocycline-HCl in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J.Periodontol.*, v.64, p.509-19, 1993.
- 308 MURRAY, J.G., BUCKLEY, H.R., TURNER, G.C. Serologic evidence of *Candida* infection after open-heart surgery. *J.Med. Microbiol.*, v.2, p.463-9, 1969.
- 309 MURRAY, P.A. et al. Microbiologic evaluation of AIDS virus associated periodontitis. *J.Dent.Res.*, v.66, sp.iss., p.226, 1987. (Abstract 959).
- 310 MYEROWITZ, R.L., PAZIN, G.J., ALLEN, C.M. Disseminated candidiasis; changes in incidence, underlying diseases and pathology. *Am.Clin.Pathol.*, v.68, p.29-38, 1977.
- 311 NAITO, Y., OKUDA, K., TAKAZOE, I. Immunoglobulinin G response to subgingival Gram-negative bacteria in human subjects. *Infect.Immun.*, v.45, p.47-51, 1984.
- 312 NAITO, Y. et al. The relationship between polysaccharide antigen and interleukin-1 beta producing activity in *Porphyromonas gingivalis*. *Bull.Tokyo Dent.Coll.*, v.33, p.187-95, 1992.
- 313 NATER, J.P. et al. Etiologic factors in denture sore mouth syndrome. *J.Prosthet.Dent.*, v.40, p.367-73, 1978.
- 314 NEAGLE, T.J., MUIR, J.C., DRAKE, B. The immunochemical characterization of circulating immune complex constituents in *Candida albicans* osteomyelitis by isoelectric focusing, immunoblot, and immunoprint. *Aust.New Zeal.J.Med.*, v. 17, p.201-9, 1987.

- 315 NEELY, A.N., HOLDER, I.A. Effect of proteolytic activity on virulence of *Candida albicans* in burned mice. *Infect.Immun.*, v.58, p.1527-31, 1990.
- 316 NERY, E.O. et al. Influência dos antígenos do sistema ABO(H) na saliva sobre a presença do gênero *Candida* na cavidade bucal. *Rev.Odontol.Univ.São Paulo*, v.8, p.37-41, 1994.
- 317 NEWMAN, H.N. Plaque and chronic inflammatory periodontal disease. *J.Clin.Periodontol.*, v.17, p.533-41, 1990.
- 318 NGUYEN, V.A., PENN, R.L. *Candida krusei* arthritis: o rare complication of neutropenia. *Am.J.Med.*, v.83, p.963-5, 1987.
- 319 NIELSEN, H. et al. Oral candidiasis and immune status of HIV-infected patients. *J.Oral Pathol.Med.*, v.23, p.140-3, 1994.
- 320 NIEMINEM, A., KARL, K., SAXÉN, L. Specific antibodies against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in serum and saliva of patients with advanced periodontitis. *Scand.J.Dent.Res.*, v.101, p.196-201, 1993.
- 321 NISENGARD, R.J., NEWMAN, M.G. *Oral microbiology and immunology*. 2ed. Philadelphia: Saunders, 1994. 477p.
- 322 NISENGARD, R.J. et al. Effects of immunization with *B.macacae* on induced periodontitis: preliminary findings. *Immunol.Invest.*, v.18, p.225-37, 1989.
- 323 ODDEN, K. et al. Candidal infection of the gingiva in HIV-infected persons. *J.Oral Pathol.Med.*, v.23, p.178-83, 1994.
- 324 ODDS, F.C. *Candida and candidosis*. Baltimore: Univ.Press, 1979, 352p.

- ✓325 ODDS, F.C. *Candida* infections: an overview. *Critical Rev.Microbiol.*, v.15, p.1-5, 1987.
- ✓326 ODDS, F.C. Ecology and epidemiology of *Candida* species. *Zentralbl.Bakteriol.Hyg.*, v.257, p.207-12, 1984.
- 327 O'GRADY, F., PENNINGTON, J.H., STANSFIELD, A.G. Delayed hypersensitivity in mouse-thigh candidosis. *Br.J.Exp.Pathol.*, v.48, p.196-203, 1967.
- 328 ÖHMAN, S.C., JONTELL, M. Treatment of angular cheilitis: the significance of microbial analysis, antimicrobial treatment, and interfering factors. *Acta Odontol.Scand.*, v.46, p.267-72, 1988.
- 329 ÖHMAN, S.C., et al. Angular cheilitis: a clinical and microbial study. *J.Oral Pathol.*, v.15, p.213-7, 1986.
- 330 OHMORI, Y. et al. Inducing effects of periodontopathic bacteria on interleukin-1 production by mouse peritoneal macrophages. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.3, p.169-72, 1988.
- 331 OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.71-4, 1990.
- 332 OLSEN, I. Denture stomatitis: occurrence and distribution of fungi. *Acta Odontol.Scand.*, v.32, p.329-33, 1974.
- ✓333 OLSEN, I. Oral adhesion of yeasts. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.45-53, 1990.

- 334 OLSEN, I., BIRKELAND, J.M. Initiation and aggravation of denture stomatitis by sucrose rinses. *Scand.J.Dent.Res.*, v.84, p.94-7, 1976.
- 335 OLSEN, I., BONDEVIK, O. Experimental Candida-induced denture stomatitis in the Wistar rat. *Scand.J.Dent.Res.*, v.86, p.392-8, 1978.
- 336 OLSEN, I., HAANAES, H.R. Experimental palatal candidosis and saliva flow in monkeys. *Scand.J.Dent.Res.*, v.85, p.135-41, 1977.
- 337 OLSEN, I., STENDERUP, A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.11-8, 1990.
- 338 PAGE, R.C. Current understanding of the aetiology and progression of periodontal disease. *Int.Dent.J.*, v.36, p.153-61, 1986.
- 339 PAINTER, B.G., ISENBERG, H.D. Isolation of *Candida parapsilosis*: report of two cases. *Am.J.Clin.Pathol.*, v.59, p.62-5, 1973.
- 340 PAPAIOANNOU, S., MARSH, P.D., IVANYI, L. The immunogenicity of outer membrane proteins of haemin-depleted *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* W50 in periodontal disease. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.6, p.327-31, 1991.
- 341 PAPAPANOU, P.N. et al. An analysis of the subgingival microflora in randomly selected subjects. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.24-9, 1993.
- 342 PAULA, C.R. et al. Oral yeasts in patients with cancer of the mouth, before and during radiotherapy. *Mycopathologia*, v.112, p.119-24, 1990.

- 343 PEDRAZZOLI, V., KILIAN, M., KARRING, T. Comparative clinical and microbiological effects of topical subgingival application of metronidazole 25% dental gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. *J.Clin.Periodontol.*, v.19, p.715-22, 1992.
- 344 PEPYS, J. et al. *Candida albicans* precipitins in respiratory diseases in man. *J.Allergy*, v.41, p.305-18, 1968.
- 345 PERSSON, S. et al. The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.5, p.195-201, 1990.
- 346 PETERSON, D.E., MINAH, G.E., OVERHOLSER, C.D. Microbiology of acute periodontal infection in myelosuppressed cancer patients. *J.Clin.Oncol.*, v.5, p.1461-8, 1987.
- 347 PHILLIPS, D.I., MATTHEWS, N. Measurement of antibodies to *Candida albicans* as a screening test for humoral immunodeficiency. *J.Immunol.Methods*, v.105, 127-31, 1987.
- 348 PLOUFFE, J.F. et al. Nosocomial outbreak of *Candida parapsilosis* fungemia related to intravenous infusions. *Arch.Intern.Med.*, v.137, p.1686-9, 1977.
- 349 POLONELLI, L., MORACE, G. Re-evaluation of the killer phenomenon. *J.Clin.Microbiol.*, v.24, p.866-9, 1986.
- 350 POLONELLI, L. et al. Diagnostic potential of IgA coated *Candida* cells in mucous membrane candidiasis. *Mycopathologia*, v.116, p.105-12, 1991.
- 351 PONTON, J., JONES, J.M. Identification of two germ-tube-specific cell wall antigens of *Candida albicans*. *Infect.Immun.*, v.54, p.864-8, 1986.

- 352 POULAIN, D. HOPWOOD, V., VERNES, A. Antigen variability of *Candida albicans*. *Crit.Rev.Microbiol.*, v.12, p.223-71, 1985.
- 353 POULAIN D. et al. Ultrastructure of the cell wall of *Candida albicans* blastospores: study of its constitutive layers by the use of a cytochemical technique revealing polysaccharides. *Ann. Microbiol.Inst.Pasteur*, v.129, p.141-53, 1978.
- 354 PRICE, M.F., CAWSON, R.A. Phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v.15, p.179-85, 1977.
- 355 PRICE, M.F., WILKINSON, I.D., GENTRY, L.O. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v.20, p.7-14, 1982.
- 356 PROROK, Z. Relation between the occurrence of *Candida albicans* and usage of the fixed prostheses regarding prosthetic stomatopathy. *Protet.Stomatol.*, v.28, p.223-32, 1978.
- 357 PUGH, D., CAWSON, R.A. The cytochemical localization of phospholipase A and lysophospholipase in *Candida albicans*. *Sabouradia*, v.13, 110-5, 1975.
- 358 PUGH, D., CAWSON, R.A. The cytochemical localization of phospholipase in *Candida albicans* infecting the chick chorio-allantoic membrane. *Sabouradia*, v.15, p.29-35, 1977.
- 359 QUIRINO, M.R. et al. Distribution of oral yeasts in controlled and uncontrolled diabetic patients. *Rev.Microbiol.*, v.25, p.37-41, 1994.
- 360 RAMIREZ, V. et al. Oral lesions in mexican HIV-infected patients. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.482-5, 1990.

- 361 RAMS, T.E., BABALOLA, O.O., SLOTS, J. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after systemic doxycycline therapy. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.5, p.166-8, 1990.
- 362 RAMS, T.E., FEIK, D., SLOTS, J. *Campylobacter rectus* in human periodontitis. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.230-5, 1993.
- 363 RAMS, T.E. et al. *Peptostreptococcus micros* in human periodontitis. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.7, p.1-6, 1992.
- 364 RANNEY, R.R. Classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.2, p.13-25, 1993.
- 365 RANNEY, R.R. et al. Relationship between attachment loss and precipitating serum antibody to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adolescents and young adults having severe periodontal destruction. *J.Periodontol.*, v.53, p.1-7, 1982,
- 366 RAY, T.L., PAYNE, C.D. Comparative production and rapid purification of *Candida* acid proteinase from protein-supplemented cultures. *Infect.Immun.*, v.50, p.508-14, 1990.
- 367 RAY, T.L., PAYNE, C.D. Scanning electron microscopy of epidermal adherence and cavitation in murine candidiasis: a role for *Candida* acid proteinase. *Infect.Immun.*, v.56, p.1942-9, 1988.
- 368 REED, M.F. et al. *In vivo* effects of *Candida albicans* products on rat oral epithelium. *J.Oral Pathol.Med.*, v.19, p.326-9, 1990.
- 369 REINHOLDT, J., KROGH, P., HOLMSTRUP, P. Degradation of IgA1, IgA2, and S-IgA by *Candida* and *Toryloopsis* species. *Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand.*, v.95, p.265-74, 1987.

- 370 REMOLD, H., FASOLD, H., STAIB, F. Purification and characterization of a proteolytic enzyme from *Candida albicans*. *Biochim.Biophys.Acta*, v.167, p.399-406, 1968.
- 371 RENNIE, J.S. et al. The role of iron deficiency in experimentally-induced oral candidosis in the rat. *J.Med.Microbiol.*, v.16, p.363-9, 1983.
- 372 RENVERT, S. et al. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J.Clin.Periodontol.*, v.17, p.345-50, 1990.
- 373 RENVERT, S. et al. On the inability of root debridement and periodontal surgery to eliminate *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from periodontal pockets. *J.Clin.Periodontol.*, v.17, p.351-5, 1990.
- 374 RICHART, R., DAMMIN, G.J. *Candida tropicalis* as a pathogen for man. *New England J.Med.*, v.263, p.474-7, 1960.
- 375 RIVIERE, G.A. et al. Relative proportions of pathogen-related oral spirochets (PROS) and *Treponema denticola* in supragingival and subgingival plaque from patients with periodontitis. *J.Periodontol.*, v.63, p.131-6, 1992.
- 376 ROGERS, T.J., BALISH, E. Experimental *Candida albicans* infection in conventional mice and germ free rats. *Infect.Immun.*, v.14, p.33-8, 1980.
- 377 ROGERS, T.J., BALISH, E. Immunity to *Candida albicans*. *Microbiol.Rev.*, v.44, p.660-82, 1980.

- 378 ROGERS, T.J., BALISH, E., MANNING, D.D. The role of thymus dependent cell-mediated immunity in resistance to experimental disseminated candidiasis. *J.Reticuloendothelial Soc.*, v.20, p.291-8, 1976.
- 379 ROITT, I.M., LEHNER, T. *Immunology of oral diseases*. 2.ed. Oxford: Blackwell, 1983. 442p.
- 380 ROSSIE, K.M. et al. Influence of radiation therapy on oral *Candida albicans* colonization: a quantitative assessment. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.64, p.698-701, 1987.
- 381 RUBINSTEIN, E. et al. Fungal endocarditis: analysis of 24 cases and review of the literature. *Medicine*, v.54, p.331-44, 1974.
- 382 RÜCHEL, R. Cleavage of immunoglobulins by pathogenic yeasts of the genus *Candida*. *Microbiol.Sci.*, v.3, p.316-9, 1986.
- 383 RÜCHEL, R. A variety of *Candida* proteinases and their possible targets of proteolytic attack in the host. *Zentralbl. Bakteriol.Hyg.*, v.257, p.266-74, 1984.
- 384 RÜCHEL, R., TEGELER, R., TROST, M. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v.20, p.233-44, 1982.
- 385 RUSSEL, C., JONES, J.H. Effects of oral inoculation of *Candida albicans* in tetracycline-treated rats. *J.Med.Microbiol.*, v.6, p.275-9, 1973.
- 386 RUSSEL, C., LAY, K.M. Natural history of *Candida* species and yeasts in the oral cavities of infants. *Arch.Oral Biol.*, v.18, p.957-62, 1973.

- 387 SAITO, A. et al. Relative avidity of serum immunoglobulin G antibody for the fimbria antigen of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with adult periodontitis. *Infect.Immun.*, v.61, p.332-4, 1993.
- 388 SAITO, A. et al. Significance of serum antibody against surface antigens of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with adult periodontitis. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.8, p.146-53, 1993.
- 389 SAMARANAYAKE, L.P. Host factors and oral candidosis. In: SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990. p.66-103.
- 390 SAMARANAYAKE, L.P. Introduction and historical aspects. In: SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990. p.1-9.
- 391 SAMARANAYAKE, L.P. Nutritional factors and oral candidosis. *J.Oral Pathol.*, v.15, p.61-5, 1986.
- 392 SAMARANAYAKE, L.P. Oral mycoses in HIV infection. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol.*, v.73, p.171-80, 1992.
- 393 SAMARANAYAKE, L.P., et al. The oral carriage of yeasts and coliforms in patients on cytotoxic therapy. *J.Oral Pathol.*, v.13, p.390-3, 1984.
- 394 SAMARANAYAKE, L.P., HAMILTON, D., MacFARLANE, T.W. The effect of indigenous bacterial populations on buccal epithelium cells on subsequent microbial adhesion *in vitro*. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.9, p.236-40, 1994.

- 395 SAMARANAYAKE, L.P., HOLMSTAD, P. Oral candidiasis and immunodeficiency virus infection. *J.Oral Pathol.Med.*, v.18, p.554-64, 1989.
- 396 SAMARANAYAKE, L.P., McCOURTIE, J., MacFARLANE, T.W. Factors affecting the *in vitro* adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Arch.Oral Biol.*, v.25, p.611-5, 1980.
- ✓ 397 SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. The adhesion of the yeast *Candida albicans* to epithelial cells of human origin *in vitro*. *Arch.Oral Biol.*, v.26, p.815-820, 1981.
- ✓ 398 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.*, v.15, p.511-517, 1982.
- 399 SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. Factors affecting the *in vitro* adherence of the fungal oral pathogen *Candida albicans* to the epithelial cells of human origin. *Arch.Oral Biol.*, v.27, p.869-73, 1982.
- 400 SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. An *in vitro* study of the adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Arch.Oral Biol.*, v.25, p.603-9, 1980.
- 401 SAMARANAYAKE, L.P., McLAUGHLIN, L., MacFARLANE, T.W. Adherence of *Candida* species to fibrin clots *in vitro*. *Mycopathologia*, v.102, p.135-8, 1988.
- 402 SAMARANAYAKE, L.P., RAESIDE, J.M., MacFARLANE, T.W. Factors affecting the phospholipase activity of *Candida* species *in vitro*. *Sabouraudia*, v.22, p.201-7, 1984.

- 403 SAMARANAYAKE, L.P., ROBERTSON, A.G., MacFARLANE, T.W. The effect of chlorhexidine gluconate and benzylamine mouthwashes on mucositis induced by therapeutic irradiation. *Clin. Radiol.*, v.39, p.291-94, 1988.
- 404 SAMARANAYAKE, L.P., SCULLY, C. Oral candidosis in HIV infection. *Lancet*, v.2, p.1491-2, 1989.
- 405 SAMARANAYAKE, L.P. et al. Oral carriage of *Candida* species and coliforms in patients with burning mouth syndrome. *J.Oral Pathol.*, v.18, p.233-5, 1989.
- 406 SAMARANAYAKE, Y.H., et al. The *in vitro* proteolytic and saccharolytic activity of *Candida* species cultured in human saliva. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.9, p.229-35, 1994.
- 407 SAN-BLASS, G. The cell wall of fungal human pathogens: its possible role in host-parasite relationships. *Mycopathologia*, v.79, p.159-84, 1982.
- 408 SANDIN, R.L. et al. Concurrent isolation of *Candida krusei* and *Candida tropicalis* from multiple blood cultures in a patient with acute leucemia. *Arch.Pathol.Lab.Med.*, v.117, p.521-3, 1993.
- 409 SANDIN, R.L. et al. Evidence for mannose mediated adherence of *Candida albicans* to human bucal cells in vitro. *Infect.Immun.*, v.35, p.79-85, 1982.
- 410 SANDROS, J., PAPAPANOU, P., DAHLÉN, G. *Porphyromonas gingivalis* invades oral epithelial cells *in vitro*. *J.Periodont. Res.*, v.28, p.219-26, 1993.
- 411 SANDVEN, P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.27-36, 1990.

- 412 SAXÉN, L., ASIKAINEN, S. Metronidazole in the treatment of localized juvenile periodontitis. *J.Clin.Periodontol.*, v.20, p.166-71, 1993.
- 413 SCHENKEIN, H.A., BERRY, C.R. Activation of complement by *Treponema denticola*. *J.Dent.Res.*, v.70, p.107-110, 1991.
- 414 SCHIFFERLE, R.E. et al. Activation of serum complement by polysaccharide-containing antigens of *Porphyromonas gingivalis*. *J.Periodont.Res.*, v.28, p.248-54, 1993.
- 415 SCHIODT, M. et al. Oral candidiasis and hairy leukoplakia correlate with HIV infection in Tanzania. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.69, p.591-6, 1990.
- 416 SCHMIDT-WESTHAUSEN, A. et al. Oral *Candida* and *Enterobacteriaceae* in HIV-1 infection: correlation with clinical candidiasis and antimycotic therapy. *J.Oral Pathol.Med.*, v.20, p.469-72, 1991.
- 417 SCHWARTZ, D.S., LARSH, H.W. Comparative activities of glycolytic enzymes in yeast and micelial forms of *Candida albicans*. *Mycopathologia*, v.78, p.93-8, 1982.
- 418 SEDGLEY, C.M., SAMARANAYAKE, L.P. The oral prevalence of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and yeasts in Hong Kong chinese. *Arch.Oral Biol.*, v.39, p.459-66, 1994.
- 419 SEGAL, E., LEHRER, N., OFEK, I. Adherence of *Candida albicans* to human vaginal epithelial cells: inhibition by amino sugars. *Exp.Cell.Biol.*, v.50, p.13-7, 1982.

- 420 SEGAL, E., LEHAMAN, O., DAYAN, D. Adherence *in vitro* of various *Candida* species to acrylic surfaces. *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.*, v.66, p.670-3, 1988.
- 421 SEGAL, E. et al. Experimental and clinical studies of 5-fluorocytosine activity in *Candida* ocular infections. 1. *In vitro* activity of 5-fluorocytosine on *Candida* species isolated from ocular infections. *Chemotherapy*, v.21, p.358-66, 1975.
- 422 SHAFER, W.G., HINE, M.K., BARNET, M.L. *Tratado de patologia bucal*. 2ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985. p.363-7.
- 423 SHAKIR, B.S., MARTIN, M.V., SMITH, C.J. Effect on experimental palatal candidosis in the wistar rat of removal and re-insertion of acrylic appliances. *Arch.Oral Biol.*, v.31, p.617-21, 1986.
- 424 SHAKIR, B.S., MARTIN, M.V., SMITH, C.J. Induced palatal candidosis in the wistar rat. *Arch.Oral Biol.*, v.26, p.787-93, 1981.
- 425 SHAKIR, B.S., MARTIN, M.V., SMITH, C.J. Relative effectiveness of various yeasts, *Candida* spp. and *Torulopsis glabrata*, for inducing palatal infection in the wistar rat. *Arch.Oral Biol.*, v.28, p.1069-70, 1983.
- 426 SHAKIR, B.S. et al. Colonization of nasal ulcers as a source of *Candida parapsilosis* fungemia. *Arch.Otolaryngol.*, v.106, p.434-6, 1980.
- 427 SHEPHERD, M.G. Biology of *Candida* species. In: SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, 1990. p.10-20.

- 428 SHEPHERD, M.G. Cell envelope of *Candida albicans*. *Crit.Rev. Microbiol.*, v.15, p.7-25, 1987.
- 429 SHEPHERD, M.G., POULTER, R.T.M., SULLIVAN, P.A. *Candida albicans*: biology, genetics and pathogenicity. *Ann. Rev.Microbiol.*, v.39, p.579-614, 1985.
- 430 SHIMIZU, K., KONDOH, Y., TANAKA, K. Proteinase production and pathogenicity of *Candida albicans*. 1. Invasion into chorioallantoic membrane by *C.albicans* strains of different proteinase activity. *Microbiol.Immunol.*, v.31, p.1045-60, 1987.
- 431 SHIMIZU, K., SHIMIZU, F., KAMIYAMA, K. Microbiological studies on denture-induced stomatitis in children. *Pediatr.Dent.*, v.9, p.304-7, 1987.
- 432 SHIMIZU, M.T. Enzimas histolíticas produzidas por leveduras do gênero *Candida*. *Rev.Microbiol.*, v.19, p.442-5, 1988.
- 433 SHIMIZU, M.T. *Produção de hialuronidase, condroitin-sulfatase, proteinase e fosfolipase, por amostras de Candida albicans e sua correlação com virulência para camundongos inoculados experimentalmente.* São José dos Campos, 1990. 105p. Tese(Livre Docência) Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- 434 SHIMIZU, M.T., ALMEIDA, N.Q. Fatores enzimáticos de agressão produzidos por bactérias aeróbicas da cavidade bucal. *Rev.Odontol.UNESP*, v.18, p.199-204, 1989.

- 435 SILVERMAN JR., S., MIGUORATI, C.A., EPSTEIN, J.B., SAMARANAYAKE, L.P. Laboratory diagnosis of oral candidosis. In: SAMARANAYAKE, L.P., MacFARLANE, T.W. *Oral candidosis*. London: Wright, p.213-37, 1990.
- 436 SIMONSON, L.G. et al. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. *J.Periodontol.*, v.63, p.270-3, 1992.
- 437 SINHA, B.K., PRASAD, S., MONGA, D.P. Studies of experimental candidiasis in T-cell deficient mice. *Zentralbl. Bakteriol. Microbiol. Hyg.*, v.265, p.203-9, 1987.
- 438 SJOSTROM, K. et al. Opsonic antibody activity against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with rapidly progressive periodontitis. *Infect.Immun.*, v.60, p.4819-25, 1992.
- 439 SKAAR, D.D. et al. A follow-up case report of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J.Clin.Periodontol.*, v.19, p.288-92, 1992.
- 440 SLOTS, J., FEIK, D., RAMS, T.E. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* and *Acinetobacter* in human periodontitis. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.5, p.149-54, 1990.
- 441 SLOTS, J., RAMS, T.E., LISTGARTEN, M.A. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.3, p.47-52, 1988.
- 442 SMAIL, E.H., JONES, J.M. Demonstration and solubilization of antigens expressed primarily on the surfaces of *Candida albicans* germ tubes. *Infect.Immun.*, v.45, p.74-81, 1984.

- 443 SMITH, R.F., WILLET, N.P. Rapid plate method for screening hyaluronidase and chondroitin sulfatase producing microorganisms. *Appl.Microbiol.*, v.16, p.1434-6, 1968.
- 444 SOBEL, J.D., MULLER, G., BUCKLEY, H.R. Critical role of germ tube formation in the pathogenesis of candidal vaginitis. *Infect.Immun.*, v.27, p.497-503, 1982.
- 445 SOCRANSKY, S.S., HAFFAJEE, A.D. Effect of therapy on periodontal infections. *J.Periodontol.*, v.64, p.754-9, 1993.
- 446 SOCRANSKY, S.S., HAFFAJEE, A.D. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology 2000*, v.5, p.7-25, 1994.
- 447 SOCRANSKY, S.S., HAFFAJEE, A.D. Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assessment. *J.Periodont.Res.*, v.26, p.195-212, 1991.
- 448 SOCRANSKY, S.S. et al. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J.Clin.Periodontol.*, v.18, p.766-75, 1991.
- 449 SREENIVASAN, P.K., MEYER, D.H., FIVES-TAYLOR, P.M. Requirements for invasion of epithelial cells by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect.Immun.*, v.61, p.1239-45, 1993.
- 450 STENDERUP, A. Oral mycology. *Acta Odontol.Scand.*, v.48, p.3-10, 1990.
- 451 STONE, H.H. et al. Alimentary tract colonization by *Candida albicans*. *J.Surg.Res.*, v.14, p.273-6, 1973.

- 452 STROCKBINE, N.A., et al. Identification and molecular weight characterization of antigens from *Candida albicans* that are recognized by human sera. *Infect.Immun.*, v.43, p.715-20, 1984.
- 453 SULLIVAN, P.A. et al. An analysis of the metabolism and cell wall composition of *Candida albicans* during germ tube formation. *Can.J.Microbiol.*, v.29, p.1514-25, 1983.
- 454 SUMMERS, D.F., GROLLMAN, A.P., HASENCLEVER, H.F. Polysaccharide antigens of *Candida* cell walls. *J.Immunol.*, v.92, p.491-9, 1964.
- 455 SUNDSTROM, P. JENSEN, J., BALISH, E. Humoral and cellular immune responses to enolase after alimentary tract colonization or intravenous immunization with *Candida albicans*. *J.Infect.Dis.*, v.170, p.390-5, 1994.
- 456 SWANGO, P.A., KLEINMAN, D.V., KONZELMAN, J.L. HIV and periodontal health: a study of military personnel with HIV. *J.Am.Dent. Assoc.*, v.122, p.49-54, 1991.
- 457 TAKEUCHI, H. et al. Bacterial chondroitinase ABC and hyaluronidase in human dental plaque and inflamed gingiva. *J.Osaka Dent.Univ.*, v.16, p.183-7, 1982.
- 458 TAM, Y.C., CHAN, E.C.S. Phase variation of hyaluronidase-producing *Peptostreptococci* associated with periodontal disease. *J.Dent.Res.*, v.62, p.1009-12, 1983.
- 459 TAM, Y.C., HARVEY, R.F., CHAM, E.C.S. Chondroitin sulfatase-producing and hyaluronidase-producing oral bacteria associated with periodontal disease. *J.Can.Dent.Assoc.*, v.48, p.115-20, 1982.

- 460 TANNER, A., BOULDIN, H. The microbiota of early periodontitis lesions in adults. *J.Clin.Periodontol.*, v.16, p.467-71, 1989.
- 461 TANNER, A.C.R., et al. *Wolinella recta*, *Campylobacter concisus*, *Bacteroides gracilis* and *Eikenella corrodens* from periodontal lesions. *J.Periodont.Res.*, v.22, p.327-30, 1987.
- 462 TAPPER-JONES, L.M, ALDRED, M., WALKER, D.M. Prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans* in Sjögren's syndrome. *J.Clin.Pathol.*, v.33, 282-7, 1980.
- 463 TAPPER-JONES, L.M. et al. Candidal infections and populations of *Candida albicans* in mouths of diabetics. *J.Clin.Pathol.*, v.34, p.706-11, 1981.
- 464 TAUBMAN, M.A. et al. Longitudinal monitoring of humoral antibody in subjects with destructive periodontal diseases. *J.Periodont.Res.*, v.27, p.511-21, 1992.
- 465 TOLO, K., JOAKJEND, L. Serum antibodies and loss of periodontal bone in patients with rheumatoid arthritis. *J.Clin.Periodontol.*, v.17, p.288-91, 1990.
- 466 TOPOLL, H.H., LANGE, D.E., MÜLLER, R.F. Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy. *J.Clin.Periodontol.*, v.17, p.268-72, 1990.
- 467 TOTTI, M.A.G. *Recuperação de Candida albicans, C.parapsilosis, C.tropicalis, C.guilliermondii e C.krusei da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados*. Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, 1994. 119p. Tese(Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.

- 468 TRAN VAN KY, P., BIQUET, J. ANDRIEU, S. Etude par l'electrophorese et la double diffusion en gelose des substansos antigeniques excretes dans le milieu de cultura de *Candida albicans*. *Sabouradia*, v.2, p.164-70, 1963.
- 469 TRONCHIN, G. et al. Adherence of *Candida albicans* germ tubes to plastic: ultraestrutural and molecular studies of fibrilar adhesins. *Infect.Immun.*, v.56, p.1987-93, 1988.
- 470 TURREL, A.J.W. A etiology of inflamed upper denture-bearing tissues. *Br.Dent.J.*, v.120, p.542-6, 1966.
- 471 TUTTLE, R.S. et al. A non-lectin-like mechanism by which *Fusobacterium nucleatum* 10953 adheres to and activates human lymphocytes. *Oral Microbiol.Immunol.*, v.7, p.78-83, 1992.
- 472 TYLENDÁ, C.A. et al. High levels of oral yeasts in early HIV-1 infection. *J.Oral Pathol.Med.*, v.18, p.520-4, 1989.
- 473 UEMATSU, H., HOSHINO, E. Predominant obligate anaerobes in human periodontal pockets. *J.Periodont.Res.*, v.27, p.15-9, 1992.
- 474 UNTERKIRCHER, C.S. *Candidíase crônica atrófica: pesquisa de anticorpos específicos para C.albicans no soro e na saliva*. São Paulo, 1980. 41p. Tese(Mestrado) Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 475 UNTERKIRCHER, C.S., TAUNAY, A.E., TAKEDA, A. Candidíase crônica atrófica: pesquisa de anticorpos específicos no soro e na saliva. *Rev.Odontol.UNESP*, v.12, p.77-82, 1983.

- 476 Van STEENBERGEN, T.J.M. et al. Microbiological and clinical monitoring of non-localized juvenile periodontitis in young adults: a report of 11 cases. *J.Periodontol.*, v.64, p.40-7, 1993.
- 477 Van STEENBERGEN, T.J.M. et al. Virulence of black-pigmented *Bacteroides* strains from periodontal pockets and other sites in experimentally induced skin lesions in mice. *J.Periodont.Res.*, v.17, p.41-9, 1982.
- 478 Van STEENBERGHE, D. et al. Subgingival minocycline hydrochloride ointment in moderate to severe chronic adult periodontitis: a randomized, double-blind, vehicle-controlled, multicenter study. *J.Periodontol.*, v.64, p.637-44, 1993.
- 479 Van WINKELHOFF, A.J., TIJHOF, C.J., de GRAAFF, J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J.Periodontol.*, v.63, p.52-7, 1992.
- 480 Van WINKELHOFF, A.J., van STEENBERGEN, T.J.M., de GRAAFF, J. The role of black-pigmented *Bacteroides* in human oral infections. *J.Clin.Periodontol.*, v.15, p.145-55, 1988.
- 481 Van WINKELHOFF, A.J. et al. Quantitative aspects of the subgingival distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a patient with localized juvenile periodontitis. *J.Clin.Periodontol.*, v.21, p.199-202, 1994.
- 482 VANDENBUSSCHE, M., SWINNE, D. Yeasts oral carriage in denture wearers. *Mykosen*, v.27, p.431-5, 1984.
- 483 VECCHIARELLI, A. et al. In vitro killing of *Candida* species by murine immunoeffectors and its relationship to the experimental pathogenicity. *J.Med.Vet.Mycol.*, v.23, p.377-87, 1985.

- 484 VENKATARAMAN, M., MOHAPATRA, L.N., BHOYAN, U.N.
Phagocytosis of *Candida albicans* by rabbit neutrophils.
Sabouraudia, v.9, p.183-91, 1973.
- 485 VUDHICHAMNONG, K., WALKER, D.M., RYLEY, H.C. The effect of
secretory immunoglobulin A on the *in-vitro* adherence of the
yeast *Candida albicans* to human oral epithelial cells.
Archs.Oral Biol., v.27, p.617-21, 1982.
- 486 WALKER, C., GORDON, J. The effect of clindamycin on the
microbiota associated with refractory periodontitis.
J.Periodontol., v.61, p.692-8, 1990.
- 487 WALKER, C.B. et al. A role for antibiotics in the treatment of
refractory periodontitis. *J.Periodontol.*, v.64, p.772-81, 1993.
- 488 WALSH, T.J., MERZ, W.G. Pathologic features in the human
alimentary tract associated with invasiveness of *Candida*
tropicalis. *Am.J.Clin.Pathol.*, v.85, p.498-502, 1986.
- 489 WANG, H.Y. et al. Salivary IgA antibody in periodontal diseases:
a case-control study. *Immunol.Infect.Dis.*, v.2, p.87-96, 1992.
- 490 WARREN, R.C. et al. Diagnosis of invasive candidosis by enzyme
immunoassay of serum antigen. *Br.Med.J.*, v.1, p.1183-5,
1977.
- 491 WATANAKUNAKORN, C. et al. *Candida* endocarditis surrounding a
Starr-Edwards prosthetic valve: recovery of *Candida* in
hypertonic medium during treatment. *Arch.Intern.Med.*, v.121,
p.243-54, 1968.

- 492 WATSON, C.J., KROONE, H.B. The survival of *Candida albicans* experimentally inoculated into the mouths of healthy human subjects. *J.Dent.*, v.9, p.248-53, 1981.
- 493 WATSON, I.B., MacDONALD, D.G. Oral mucosa and complete dentures. *J.Prosthet.Dent.*, v.47, p.133-40, 1982.
- 494 WEEMS JR, J.J. et al. *Candida parapsilosis* fungemia associated with parenteral nutrition and contaminated blood pressure transducers. *J.Clin.Microbiol.*, v.25, p.1029-32, 1987.
- 495 WELLER, B.I., SIMMONS, P.D., IVANYI, L. Identification of immunodominant antigens of *Candida albicans* in patients with superficial candidosis. *Clin.Immunol.Immunopathol.*, v.54, p.347-53, 1990.
- 496 WILKIESON, C. et al. Oral candidosis in the elderly in long term hospital care. *J.Oral Pathol.Med.*, v.20, p.13-6, 1991.
- 497 WILLIANSON, J.J. Diurnal variation of *Candida albicans* counts in saliva. *Aust.Dent.J.*, v.17, p.54-60, 1972.
- 498 WILLIANSON, J.J. A study of extent of variation in daily counts of *Candida albicans* in saliva. *Aust.Dent.J.*, v.17, p.106-9, 1972.
- 499 WILSON, M.E. IgG antibody response of localized juvenile periodontitis patients to the 29 kilodalton outer membrane protein of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J.Periodontol.*, v.62, p.211-8, 1991.
- 500 WILTON, J.M., HURST, T.J., AUSTIN, A.K. IgG subclass antibodies to *Porphyromonas gingivalis* in patients with destructive periodontal disease. A case: control study. *J.Clin.Periodontol.*, v.19, p.646-51, 1992.

- 501 WILTON, J.M., HURST, T.J., SCOTT, E.E. Inhibition of polymorphonuclear leucocyte phagocytosis by *Porphyromonas gingivalis* culture products in patients with adult periodontitis. *Arch.Oral Biol.*, v.38, p.285-9, 1993.
- 502 WINGARD, J.R., MERZ, W.G., SARAL, R. *Candida tropicalis*: a major pathogen in immunocompromised patients. *Ann.Intern.Med.*, v.91, p.539-43, 1979.
- 503 WINNER, H.I. An experimental approach to the study of infections by yeast-like organisms. *Proc.R.Soc.Med.*, v.51, p.496-9, 1958.
- 504 WINNER, H.I. A study of *Candida albicans* agglutinin in human sera. *J.Hyg.*, v.53, 509-12, 1955.
- 505 WODJANI, A., GHONEUM, M. In vivo augmentation of natural killer cell activity by *Candida albicans*. *Int.J.Immunopharmacol.*, v.9, p.827-32, 1987.
- 506 WOLFF, L.F. et al. Natural distribution of 5 bacteria associated with periodontal disease. *J.Clin.Periodontol.*, v.20, p.699-706, 1993.
- 507 WRAY, D., GRAHAME, L. Periodontal bone loss in mice induced by different periodontopathic organisms. *Arch.Oral Biol.*, v.37, p.435-8, 1992.
- 508 WRAY, D., FELIX, D.H., CUMMING, C.G. Alteration of humoral responses to *Candida* in HIV infection. *Br.Dent.J.*, v.168, p.326-9, 1990.

- 509 YOKOYAMA, K. et al. The role of microfilaments and microtubules in apical growth and dimorphism of *Candida albicans*. *J.Gen.Microbiol.*, v.136, p.1067-75, 1990.
- 510 ZAFIROPOULOS, G.G. et al. Humoral antibody responses in periodontal disease. *J.Periodontol.*, v.63, p.80-6, 1992.
- 511 ZAMBON, J.J. et al. Microbiological and immunological studies of adult periodontitis in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J.Periodontol.*, v.59, p.23-31, 1988.

ANEXO 1 - Modelo da autorização para a coleta das amostras.

Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos/UNESP
AUTORIZAÇÃO PARA A COLETA DE AMOSTRAS

PACIENTE:.....nº.....

Por este instrumento de autorização por mim assinado, dou pleno consentimento à Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos/UNESP para, por intermédio de seus professores e alunos devidamente autorizados, fazer diagnóstico, planejamento, tratamento e coleta de amostras.

Tenho pleno conhecimento que as clínicas e laboratórios desta instituição, tem como principal objetivo a instrução e demonstração para estudantes e profissionais da Odontologia. Concordo com toda a orientação seguida, quer para fins didáticos, de diagnóstico, pesquisa e ou tratamento.

Concordo plenamente também, que todas as radiografias, fotografias, históricos de antecedentes familiares, resultados de exames clínicos e de laboratório e informações concernentes ao planejamento de diagnóstico e/ou tratamento, constituem propriedades exclusivas desta Faculdade, à qual dou plenos direitos de retenção e uso para quaisquer fins de ensino, pesquisa, divulgação em jornais e/ou revistas científicas.

São José dos Campos, de de 19 .

R.G.:_____

C.I.C.:_____

ANEXO 2 - Modelo de ficha clínica utilizada para cada paciente.

Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos/UNESP
 Pesquisa de *Candida* em pacientes com periodontite crônica do
 adulto

Paciente

Nome:

Endereço: nº

Bairro: Cidade: Fone:

Antibióticos: ()SIM ()NÃO - Última vez que usou:

Diagnóstico Clínico:

.....

..... Data:/...../.....

Professor Responsável:

SALIVA (a)

SANGUE ()

SULCO GENGIVAL (b) mm

(c) mm

(d) mm

Observações:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ANEXO 3 - Tabelas apresentando as densidades ópticas (DO) individuais dos pacientes pesquisados e as respectivas médias, desvios padrão e medianas (Tabelas 16 a 43).

TABELA 16 - Densidades ópticas (DO) para IgG na saliva de pacientes controles e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontado o branco (DO 49). São também apresentados os percentuais de aumento nos pacientes com doença periodontal em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL (n=30) % de aumento
1	22	261	1.192
2	26	1.947	8.898
3	4	461	2.106
4	5	513	2.344
5	27	245	1.119
6	5	1.011	4.620
7	16	501	2.289
8	7	562	2.568
9	62	228	1.042
10	39	214	978
11	11	78	356
12	3	466	2.129
13	20	467	2.134
14	8	73	333
15	28	435	1.988
16	67	155	708
17	55	536	2.449
18	69	2.493	11.393
19	52	118	539
20	4	348	1.590
21	2	462	2.111
22	5	60	274
23	1	1.028	4.698
24	7	93	425
25	2	347	1.585
26	-	280	1.279
27	-	460	2.102
28	-	434	1.983
29	-	316	1.444
30	-	80	365
Média	21,88	489,06	2.234,70
Desvio Padrão	22,46	531,44	2.428,82
Mediana	11	391	-

TABELA 17 - Densidades ópticas (DO) de IgM na saliva de pacientes controle e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 35). São também apresentados os percentuais de aumento nos pacientes com doença periodontal em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL (n=30) % de aumento
1	47	273	707
2	45	705	1.826
3	44	287	743
4	14	297	769
5	91	208	538
6	24	89	230
7	35	82	212
8	48	431	1.116
9	80	44	113
10	107	215	556
11	19	64	165
12	25	152	393
13	13	65	168
14	25	168	435
15	110	237	613
16	38	201	528
17	13	136	352
18	18	159	411
19	23	21	54
20	16	160	414
21	8	67	173
22	21	124	321
23	46	264	683
24	52	158	409
25	3	77	199
26	-	59	152
27	-	100	259
28	-	73	189
29	-	76	196
30	-	159	411
Média	38,60	171,70	445,08
Desvio Padrão	29,78	137,20	355,50
Mediana	38	155	-

TABELA 18 - Densidades ópticas (DO) de IgA na saliva de pacientes controle e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 41). São também apresentados os percentuais de aumento nos pacientes com doença periodontal em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL (n=30) % de aumento
1	148	238	218
2	149	879	806
3	98	92	84
4	47	157	144
5	148	146	133
6	125	385	353
7	107	303	277
8	90	194	177
9	128	156	143
10	228	285	261
11	184	75	68
12	121	256	234
13	45	167	153
14	46	165	151
15	450	123	112
16	88	97	88
17	83	173	158
18	90	807	740
19	91	254	233
20	42	248	227
21	50	210	192
22	200	290	266
23	24	872	800
24	48	340	311
25	95	394	361
26	-	310	284
27	-	284	260
28	-	215	197
29	-	432	396
30	-	286	262
Média	109,00	294,43	270,11
Desvio Padrão	60,09	209,68	192,37
Mediana	95	251	-

TABELA 19 - Densidades ópticas (DO) para IgE na saliva de pacientes controle e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados já descontados o branco (DO 89). São também apresentados os percentuais de IgE encontrados nos pacientes com doença periodontal, em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL (n=30) % de aumento
1	60	6	67
2	7	39	439
3	3	24	270
4	4	8	90
5	22	20	225
6	1	9	101
7	1	7	78
8	6	38	427
9	8	12	135
10	1	22	247
11	1	80	900
12	4	31	349
13	9	21	236
14	1	43	484
15	11	17	191
16	34	11	123
17	27	55	619
18	9	1	11
19	1	7	78
20	1	1	11
21	1	1	11
22	1	37	416
23	1	13	146
24	1	1	11
25	7	7	78
26	-	1	11
27	-	1	11
28	-	1	11
29	-	29	326
30	-	30	337
Média	8,88	19,10	214,63
Desvio Padrão	13,73	18,86	121,40
Mediana	4	13	-

TABELA 20 - Densidades ópticas (DO) para IgG no soro de pacientes controle e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados já descontados o branco (DO 43). São também apresentados os percentuais de IgG encontrados nos pacientes com doença periodontal, em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL (n=30) % de aumento
1	135	376	81
2	489	855	185
3	141	424	92
4	102	903	196
5	501	1320	286
6	542	261	56
7	122	701	152
8	297	967	209
9	222	263	57
10	981	921	199
11	645	799	173
12	184	1340	290
13	370	998	216
14	485	609	132
15	460	755	163
16	458	1136	246
17	805	1048	227
18	762	1620	351
19	461	1329	288
20	474	1181	256
21	554	654	143
22	1032	522	113
23	265	1613	350
24	685	1008	218
25	345	1229	266
26	-	909	197
27	-	717	155
28	-	783	169
29	-	981	212
30	-	1065	231
Média	460,68	909,56	196,96
Desvio Padrão	256,67	353,61	76,66
Mediana	461	915	-

TABELA 21 - Densidades ópticas (DO) para IgM no soro de pacientes controle e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 42). São também apresentados os percentuais de aumento nos pacientes com doença periodontal, em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL (n=30) % de aumento
1	385	298	49
2	445	496	82
3	940	718	119
4	347	776	128
5	488	294	48
6	544	354	59
7	602	450	74
8	386	569	94
9	689	243	40
10	833	316	52
11	539	286	47
12	276	597	99
13	947	114	18
14	493	502	83
15	601	799	132
16	896	665	110
17	542	596	98
18	850	454	75
19	377	422	70
20	693	352	58
21	249	438	72
22	990	189	31
23	598	857	142
24	954	337	55
25	391	578	95
26	-	531	88
27	-	453	75
28	-	290	48
29	-	431	71
30	-	453	75
Média	602,20	462,10	76,23
Desvio Padrão	230,04	182,50	30,32
Mediana	544	458	-

TABELA 22 - Densidades ópticas (DO) para IgA no soro de pacientes controle e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 45). São também apresentados os percentuais de aumento nos pacientes com doença periodontal, em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL (n=30) % de aumento
1	305	106	121
2	321	225	257
3	27	99	113
4	24	88	100
5	85	334	382
6	32	65	74
7	54	302	345
8	48	853	976
9	68	53	60
10	284	305	349
11	218	69	78
12	62	138	157
13	656	71	81
14	116	336	384
15	132	399	456
16	59	221	252
17	223	386	441
18	99	780	892
19	42	250	286
20	147	533	609
21	131	289	330
22	117	65	74
23	59	679	777
24	92	301	344
25	94	803	918
26	-	56	64
27	-	73	83
28	-	81	92
29	-	776	888
30	-	341	390
Média	116,16	302,56	345,76
Desvio Padrão	87,38	251,53	287,88
Mediana	94	268	-

TABELA 23 - Densidades ópticas (DO) para IgE no soro de pacientes controle e com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados já descontados o branco (DO 89). São também apresentados os percentuais de IgE encontrados nos pacientes com doença periodontal, em relação a média dos controles.

PACIENTES	CONTROLES (n=25) DO	DOENÇA DO	PERIODONTAL %
1	1	1	5
2	86	28	161
3	1	53	306
4	1	1	5
5	1	1	5
6	1	1	5
7	1	1	5
8	1	1	5
9	1	1	5
10	1	13	75
11	19	88	508
12	1	53	306
13	29	19	109
14	31	41	236
15	20	13	75
16	24	1	5
17	36	1	5
18	18	26	150
19	86	41	236
20	1	1	5
21	28	1	5
22	1	28	161
23	1	28	161
24	42	205	1183
25	1	81	467
26	-	128	739
27	-	22	127
28	-	118	681
29	-	93	536
30	-	12	69
Média	17,32	36,70	211,36
Desvio Padrão	24,67	48,50	280,13
Mediana	1	21	-

TABELA 24 - Densidades ópticas (DO) para IgG anti-*Candida* em tres sítios do sulco gengival de pacientes controle através de reação ELISA. Resultados considerados já descontado o branco (DO 57).

PACIENTES	SÍTIO 1	SÍTIO 2	SÍTIO 3	MÉDIA
1	32	22	12	22,00
2	1	1	1	1,00
3	1	4	1	2,00
4	1	8	40	16,33
5	22	34	1	19,00
6	2	1	1	1,33
7	27	1	21	16,33
8	1	18	11	10,33
9	1	1	1	1,00
10	1	11	1	4,33
11	4	1	1	2,00
12	33	19	1	17,66
13	1	1	1	1,00
14	1	3	1	1,66
15	11	5	9	8,33
16	1	1	1	1,00
17	14	73	14	33,66
18	1	29	14	14,66
19	66	51	13	43,33
20	1	53	2	18,66
21	22	78	28	42,66
22	14	22	29	21,66
23	10	33	1	14,66
24	3	5	32	13,33
25	20	21	18	19,66
Média	11,64	20,24	10,20	13,90
Desvio Padrão	15,58	22,82	11,78	12,43
Mediana	-	-	-	14

TABELA 25 - Densidades ópticas (DO) para IgG anti-*Candida* em tres sítios do sulco gengival de pacientes com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 47). São também apresentados os percentuais de IgG encontrados nos pacientes com doença periodontal em relação a média dos controles.

PACIENTES	SÍTIO 1	SÍTIO 2	SÍTIO 3	MÉDIA	%
1	121	151	21	97.66	702
2	16	5	7	9.33	67
3	122	4	83	69.66	501
4	12	2	94	36.00	258
5	160	393	254	269.00	1935
6	272	151	51	158.00	1136
7	70	403	218	230.33	1657
8	61	34	150	81.66	587
9	32	108	142	94.00	676
10	184	44	289	172.33	1239
11	150	102	226	159.33	1146
12	228	89	132	149.66	1076
13	16	71	139	75.33	541
14	189	148	140	159.00	1143
15	175	313	206	264.66	1904
16	252	251	212	238.33	1714
17	33	55	132	73.33	527
18	748	946	399	697.66	5019
19	121	13	146	93.33	683
20	103	23	90	72.00	517
21	20	14	27	20.33	146
22	45	104	113	87.33	628
23	113	382	105	200.00	1438
24	10	80	21	37.00	266
25	93	170	67	110.00	791
26	59	160	24	81.00	582
27	9	142	143	98.00	705
28	125	113	391	209.66	1508
29	56	55	162	91.00	654
30	41	14	26	27.00	194
Média	121,20	151,33	140,33	138,73	998,10
Desvio Padrão	140,28	190,19	101,26	128,14	921,77
Mediana	-	-	-	96	-

TABELA 26 - Densidades ópticas (DO) para IgM anti-*Candida* em tres sítios do sulco gengival de pacientes controle através da reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 46).

PACIENTES	SÍTIO 1	SÍTIO 2	SÍTIO 3	MÉDIA
1	1	1	1	1.00
2	1	1	1	1.00
3	1	1	1	1.00
4	1	3	1	1.66
5	4	1	2	2.33
6	1	1	2	1.33
7	2	2	7	3.66
8	8	17	4	9.66
9	10	3	2	5.00
10	2	3	1	2.00
11	3	12	4	6.33
12	3	1	1	1.66
13	1	3	1	1.33
14	1	1	1	1.00
15	30	2	3	11.66
16	7	1	1	3.00
17	1	1	11	4.33
18	4	27	8	13.00
19	1	1	1	1.00
20	1	1	1	1.00
21	2	15	3	6.66
22	1	1	2	1.33
23	1	3	1	1.66
24	1	1	8	3.33
25	13	9	2	8.00
Média	4,04	4,48	2,80	3,75
Desvio Padrão	6,28	6,55	2,76	3,53
Mediana	-	-	-	2

TABELA 27 - Densidades ópticas (DO) para IgM anti-*Candida* em tres sítios do sulco gengival de pacientes com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 44). São também apresentados os percentuais de IgM encontrados nos pacientes com doença periodontal em relação a média dos controles.

PACIENTES	SÍTIO 1	SÍTIO 2	SÍTIO 3	MÉDIA	% de aumento
1	41	2	3	15.33	408
2	4	1	1	2.00	53
3	1	1	21	7.66	204
4	1	11	1	4.33	115
5	5	1	1	2.33	62
6	4	2	1	2.33	62
7	1	7	4	3.66	47
8	1	6	1	2.66	70
9	3	1	3	2.33	62
10	1	1	3	1.66	44
11	14	1	3	6.00	160
12	32	12	32	25.33	675
13	1	1	13	5.00	133
14	1	1	15	5.66	150
15	12	12	14	12.66	337
16	12	3	1	5.33	142
17	14	20	5	13.00	346
18	15	9	25	16.33	435
19	16	34	29	26.33	702
20	67	12	6	28.33	755
21	58	12	13	27.66	737
22	13	7	30	16.66	444
23	12	15	35	20.66	550
24	55	6	27	29.33	782
25	27	24	36	29.00	773
26	58	9	9	25.33	675
27	11	8	24	14.33	382
28	19	1	21	13.66	364
29	1	3	10	4.66	124
30	35	19	23	25.66	684
Média	17,83	8,06	13,66	13,17	349,23
Desvio Padrão	19,81	8,08	11,86	9,98	267,93
Mediana	-	-	-	13	-

TABELA 28 - Densidades ópticas (DO) para IgA anti-*Candida* em tres sítios do sulco gengival de pacientes controle através da reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 46).

PACIENTES	SÍMIO 1	SÍMIO 2	SÍMIO 3	MÉDIA
1	1	3	2	2.00
2	5	1	6	4.00
3	13	27	1	13.66
4	5	17	12	14.66
5	22	2	27	17.00
6	1	1	3	1.66
7	3	4	40	15.66
8	8	13	26	15.66
9	2	6	2	3.33
10	1	1	9	3.66
11	20	25	8	17.66
12	2	7	3	4.00
13	1	1	2	1.33
14	3	3	4	3.33
15	10	2	6	6.00
16	8	6	1	5.00
17	1	22	15	12.66
18	6	2	8	5.33
19	21	15	19	18.33
20	4	12	3	6.33
21	4	14	16	11.33
22	5	19	15	13.00
23	4	3	3	3.33
24	11	5	5	7.00
25	12	10	33	18.33
Média	6,92	8,84	10,76	8,97
Desvio Padrão	6,38	8,09	10,76	6,04
Mediana	-	-	-	6

TABELA 29 - Densidades ópticas (DO) para IgA anti-*Candida* em tres sitios do sulco gengival de pacientes com doença periodontal através de reação ELISA. Resultados considerados já descontados o branco (DO 46). São também apresentados os percentuais de IgG encontrados nos pacientes com doença periodontal em relação a média dos controles.

PACIENTES	SÍMIO 1	SÍMIO 2	SÍMIO 3	MÉDIA	% de aumento
1	1	6	3	3.66	40
2	3	5	2	3.33	37
3	2	15	11	9.33	104
4	13	10	21	14.66	163
5	48	37	33	39.33	438
6	33	7	17	19.00	211
7	7	26	10	14.33	159
8	33	28	44	35.00	390
9	39	26	32	32.33	360
10	29	18	32	26.33	293
11	17	33	27	25.66	286
12	22	14	10	15.33	170
13	15	32	38	28.33	315
14	35	8	9	17.33	193
15	7	18	5	10.00	111
16	2	1	1	1.33	14
17	2	2	13	5.66	63
18	14	39	12	20.66	230
19	18	18	16	17.33	193
20	6	1	1	2.66	29
21	1	13	60	24.66	274
22	33	23	6	20.66	230
23	2	6	1	3.00	33
24	2	2	6	3.33	37
25	18	15	6	13.00	144
26	1	1	6	2.66	29
27	1	1	1	1.00	11
28	1	1	4	2.00	22
29	3	13	12	9.33	104
30	11	4	5	6.66	74
Média	13,96	14,10	14,80	14,26	158,56
Desvio Padrão	13,91	11,74	14,79	11,03	123,00
Mediana	-	-	-	14	-

TABELA 30 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE na saliva, através de reação ELISA, em pacientes controles portadores de leveduras do gênero *Candida*, na cavidade bucal.

PACIENTES (n=6)	IgG	IgM	IgA	IgE
3	4	44	98	3
6	5	24	125	1
9	62	80	128	8
15	28	110	450	11
23	1	46	24	1
25	2	3	95	7
Média	17,00	51,16	153,33	5,16
Desvio Padrão	24,25	38,55	150,10	4,12

Tabela 31 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE na saliva, através de reação ELISA, em pacientes controles não portadores de leveduras do gênero *Candida*, na cavidade bucal.

Pacientes (n=19)	IgG	IgM	IgA	IgE
1	22	47	148	60
2	26	45	149	7
4	5	14	47	4
5	27	91	148	22
7	16	35	107	1
8	7	48	90	6
10	39	107	228	1
11	11	19	184	1
12	3	25	121	4
13	20	13	45	9
14	8	25	46	1
16	67	38	88	34
17	55	13	83	27
18	69	18	90	9
19	52	23	91	1
20	4	16	42	1
21	2	8	50	1
22	5	21	200	1
24	7	52	48	1
Média	23,42	34,63	105,53	10,05
Desvio Padrão	22,34	26,47	56,95	15,52

TABELA 32 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE na saliva, através de reação ELISA, em pacientes com doença periodontal e portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

PACIENTES (n=16)	IgG	IgM	IgA	IgE
1	261	273	238	6
3	461	287	92	24
4	513	297	157	8
6	1011	89	385	9
7	501	82	303	7
14	73	168	165	43
16	155	201	97	11
17	536	136	173	55
18	2493	159	807	1
19	118	21	254	7
20	348	160	248	1
21	462	67	210	1
23	1028	264	872	13
27	460	100	284	1
28	434	73	215	1
30	80	159	286	30
Média	558,37	158,50	299,12	13,62
Desvio Padrão	587,18	86,04	224,38	16,23

TABELA 33 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE na saliva, através de reação ELISA, em pacientes com doença periodontal não portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

PACIENTES (n=14)	IgG	IgM	IgA	IgE
2	1947	705	879	39
5	245	208	146	20
8	562	431	194	38
9	228	44	156	12
10	214	215	285	22
11	78	64	75	80
12	466	152	256	31
13	467	65	167	21
15	435	237	123	17
22	60	124	290	37
24	93	158	340	1
25	347	77	394	7
26	280	59	210	1
29	316	76	432	29
Média	409,86	186,78	281,93	25,36
Desvio Padrão	468,56	181,63	200,81	20,37

TABELA 34 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE no soro, através de reação ELISA, em pacientes controles portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

PACIENTES (n=6)	IgG	IgM	IgA	IgE
3	141	940	27	1
6	542	544	32	1
9	222	689	68	1
15	460	601	132	20
23	265	598	59	1
25	345	391	94	1
Média	329,17	627,17	68,66	4,17
Desvio Padrão	150,78	182,16	39,56	7,76

Tabela 35 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE no soro, através de reação ELISA, em pacientes controles não portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

Pacientes (n=19)	IgG	IgM	IgA	IgE
1	135	385	305	10
2	489	445	321	86
4	102	347	24	1
5	501	488	85	1
7	122	602	54	1
8	297	386	48	1
10	981	833	284	1
11	645	539	218	19
12	184	276	62	1
13	370	947	656	29
14	485	493	116	31
16	458	896	59	24
17	805	542	223	36
18	762	850	99	18
19	461	377	42	86
20	474	693	147	1
21	554	249	131	28
22	1032	990	117	1
24	685	954	92	42
Média	502,21	594,32	162,26	21,94
Desvio Padrão	271,92	247,13	150,99	26,51

TABELA 36 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE no soro, através de reação ELISA, em pacientes com doença periodontal e portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

PACIENTES (n=16)	IgG	IgM	IgA	IgE
1	376	298	106	1
3	424	718	99	53
4	903	776	88	1
6	261	354	65	1
7	701	450	302	1
14	609	502	336	41
16	1136	665	221	1
17	1048	596	386	1
18	1620	454	780	26
19	1329	422	250	41
20	1181	352	533	1
21	654	438	289	1
23	1613	857	679	28
27	717	453	73	22
28	783	290	81	118
30	1065	453	341	12
Média	901,25	504,87	289,31	21,81
Desvio Padrão	411,18	170,16	219,61	31,17

TABELA 37 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA e IgE no soro, através de reação ELISA, em pacientes com doença periodontal não portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

PACIENTES (n=14)	IgG	IgM	IgA	IgE
2	855	496	225	28
5	1320	294	334	1
8	967	569	853	1
9	263	243	53	1
10	921	316	305	13
11	799	286	69	88
12	1340	597	138	53
13	998	114	71	19
15	755	799	399	13
22	522	189	65	28
24	1008	337	301	205
25	1229	578	803	81
26	909	531	56	128
29	981	431	776	93
Média	919,07	412,86	317,71	53,71
Desvio Padrão	289,28	190,04	291,60	58,72

TABELA 38 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA no sulco gengival, através de reação ELISA, em pacientes controles portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

PACIENTES (n=6)	IgG	IgM	IgA
3	2.00	1.00	13.66
6	1.33	1.33	1.66
9	1.00	5.00	3.33
15	8.33	11.66	6.00
23	14.66	1.66	3.33
25	19.66	8.00	18.33
Média	7,83	4,77	7,72
Desvio Padrão	7,87	4,32	6,72

Tabela 39 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA no sulco gengival, através de reação ELISA, em pacientes controles não portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

Pacientes (n=19)	IgG	IgM	IgA
1	22.00	1.00	2.00
2	1.00	1.00	4.00
4	16.33	1.66	14.66
5	19.00	2.33	17.00
7	16.33	3.66	15.66
8	10.33	9.66	15.66
10	4.33	2.00	3.66
11	2.00	6.33	17.66
12	17.66	1.66	4.00
13	1.00	1.33	1.33
14	1.66	1.00	3.33
16	1.00	3.00	5.00
17	33.66	4.33	12.66
18	14.66	13.00	5.33
19	43.33	1.00	18.33
20	18.66	1.00	6.33
21	42.66	6.66	11.33
22	21.66	1.33	13.00
24	13.33	3.33	7.00
Média	15,82	3,43	9,36
Desvio Padrão	13,14	3,32	5,95

Tabela 40 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA no sulco gengival, através de reação ELISA, em pacientes com doença periodontal e portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

Pacientes (n=16)	IgG	IgM	IgA
1	97.66	15.33	3.66
3	69.66	7.66	9.33
4	36.00	4.33	14.66
6	158.00	2.33	19.00
7	230.33	3.66	14.33
14	159.00	5.66	17.33
16	238.33	5.33	1.33
17	73.33	13.00	5.66
18	697.66	16.33	20.66
19	93.33	26.33	17.33
20	72.00	28.33	2.66
21	20.33	27.66	24.66
23	200.00	20.66	3.00
27	98.00	14.33	1.00
28	209.66	13.66	2.00
30	27.00	25.66	6.66
Média	155,02	14,39	10,20
Desvio Padrão	161,66	9,13	7,96

Tabela 41 - Densidades ópticas (DO) para IgG, IgM, IgA no sulco gengival, através de reação ELISA, em pacientes com doença periodontal não portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

Pacientes (n=14)	IgG	IgM	IgA
2	9.33	2.00	3.33
5	269.00	2.33	39.33
8	81.66	2.66	35.00
9	94.00	2.33	32.33
10	172.33	1.66	26.33
11	159.33	6.00	25.66
12	149.66	25.33	15.33
13	75.33	5.00	28.33
15	264.66	12.66	10.00
22	87.33	16.66	20.66
24	37.00	29.33	3.33
25	110.00	29.00	13.00
26	81.00	25.33	2.66
29	91.00	4.66	9.33
Média	120,12	11,78	18,90
Desvio Padrão	76,01	11,05	12,45

TABELA 42 - Médias e desvio-padrão das densidades ópticas para as imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE na saliva e soro de pacientes controle e com doença periodontal (DP) de acordo com a presença ou não de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

GRUPOS	IgG	IgM	IgA	IgE
Saliva				
Controle COM <i>Candida</i> (n=6)	17,00 ± 24,25	51,16 ± 38,55	153,33±150,10	5,16 ± 4,12
Controle SEM <i>Candida</i> (n=19)	23,24 ± 22,34	34,63 ± 26,47	105,53± 56,95	10,05 ± 15,52
Periodontite COM <i>Candida</i> (n=16)	*/** 558,37 ±587,18	*/** 158,50 ± 86,04	** 299,12±224,38	13,62 ± 16,23
Periodontite SEM <i>Candida</i> (n=14)	*/** 409,86 ±468,56	*/** 186,78 ±181,63	** 281,93±200,81	*/** 25,36 ± 20,27
Soro				
Controle COM <i>Candida</i> (n=6)	329,17± 150,78	627,17 ± 182,16	68,66± 39,56	4,17 ± 7,76
Controle SEM <i>Candida</i> (n=19)	502,21± 271,92	594,32 ± 247,13	162,26±150,99	21,94 ± 26,51
Periodontite COM <i>Candida</i> (n=16)	*/** 901,25± 411,18	*/** 504,87 ± 170,16	*	21,81 ± 31,17
Periodontite SEM <i>Candida</i> (n=14)	*/** 919,07± 289,28	*/** 412,86 ± 190,04	*/** 317,71±291,60	* 53,71 ± 59,52

* Estatisticamente significativo ao nível de 5% em relação ao controle *COM Candida*.

** Estatisticamente significativo ao nível de 5% em relação ao controle *SEM Candida*.

TABELA 43 - Médias e desvio-padrão das densidades ópticas para as imunoglobulinas IgG, IgM e IgA no sulco gengival de pacientes controle e com doença periodontal, de acordo com a presença ou não de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal.

GRUPOS	IgG	IgM	IgA
Controle COM <i>Candida</i> (n=6)	7,83 ± 7,87	4,77 ± 4,32	7,72 ± 6,72
Controle SEM <i>Candida</i> (n=19)	15,82 ± 13,14	3,43 ± 3,32	9,36 ± 5,95
Periodontite COM <i>Candida</i> (n=16)	^{*/**} 155,02 ± 161,66	^{*/**} 14,39 ± 9,13	10,20 ± 7,96
Periodontite SEM <i>Candida</i> (n=14)	^{*/**} 120,12 ± 76,01	^{**} 11,78 ± 11,05	18,90 ± 12,45

* Diferença significativa ao nível de 5% em relação aos controles COM *Candida*.

** Diferença significativa ao nível de 5% em relação aos controles SEM *Candida*.

JORGE, A.O.C. *Presença de Candida e anticorpos anti-Candida na cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica do adulto*. São José dos Campos, 1995. 210p. Tese (Livre-Docência em Microbiologia e Imunologia) -- Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

RESUMO

A presença do gênero *Candida* e a produção de enzimas histolíticas pelas amostras isoladas, foram observadas na saliva e no fluido gengival de pacientes com periodontite crônica do adulto e em indivíduos com periodonto saudável. Foram também verificadas as quantidades de anticorpos anti-*Candida* as classes IgG, IgA, IgM e IgE na saliva e soro e das classes IgG, IgA e IgM no fluido do sulco gengival dos mesmos pacientes, através da reação ELISA. As leveduras do gênero *Candida*, principalmente *C.albicans* foram isoladas da saliva em maior número de pacientes com periodontite crônica do adulto em relação aos controles, com diferença estatisticamente significativa. A média da quantidade de UFC/ml de *Candida* isoladas, foram maiores para os pacientes com periodontite, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. As amostras de *Candida* isoladas de ambos os grupos, produziram enzimas histolíticas (hialuronidase, condroitin-sulfatase, proteinase e fosfolipase), que são

considerados fatores de patogenicidade na doença periodontal. Apenas uma amostra de cada grupo (*C.albicans*) não produziu nenhuma das quatro enzimas pesquisadas. Os níveis de imunoglobulinas anti-*Candida* das classes IgG, IgM e IgA na saliva, IgG e IgA no soro e IgG e IgM no fluido do sulco gengival foram estatisticamente superiores nos pacientes com periodontite crônica do adulto em relação aos indivíduos com periodonto saudável, sugerindo resposta imune humoral do organismo dos pacientes com periodontite às leveduras do gênero *Candida*.

Palavras chave: *Candida*, *Candida albicans*, Anticorpos anti-*Candida*, enzimas, periodontite.

JORGE, A.O.C. *Presence of Candida and antibodies against Candida in the oral cavity of adult chronic periodontitis patients*. São José dos Campos, 1995. 210p. Tese (Livre-Docência em Microbiologia e Imunologia) -- Faculdade de Odontologia, Câmpus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

ABSTRACTS

The presence of *Candida* and the production of histolytic enzymes by the isolated samples were observed in the saliva and gingival fluid in adult chronic periodontitis patients and health ones. It was also verified the quantity of antibodies against *Candida* (IgG, IgA, IgM and IgE) in the saliva and sera of the same patients through ELISA technique. Yeasts of the genus *Candida* mainly *C.albicans* were isolated from saliva in higher number from adult chronic periodontitis patients in relation to the controle with statistically significant difference. The mean of the quantity of isolated *Candida* (UFC/ml) were higher for periodontitis patients, although this difference was not statistically significative. Samples of *Candida* isolated from both groups produced hystolytic enzymes (hyaluronidase, condroitin sulfatase, proteinase, phospholipase) that are considered patogenicity factors in periodontal diseases. Only one sample of each group (*C.albicans*) didn't produce the four analysed enzymes. The antibodies levels against *Candida* (IgG, IgM and IgA in saliva, IgG and IgA in sera and IgG and IgM in

gingival fluid), were statistically higher in adult chronic periodontitis patients in relation to periodontically health individuals, suggesting humoral immune response by periodontitis patients to the yeasts of the genus *Candida*.

Keys words: *Candida*; *Candida albicans*; antibodies, *Candida*; enzymes, destructive periododental disease; periodontites.