

Este exemplar foi
devolvido de comiss. do
conforme resolução
CCPG/036/83
05/12/97
Höf/97

Daniella Moreira
Cirurgiã-Dentista

***“PREVALÊNCIA DE CANDIDA NA CAVIDADE BUCAL
DE ESCOLARES DE DIFERENTES CATEGORIAS SÓCIO-
ECONÔMICAS. AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS
CLÍNICOS, SALIVARES E MICROBIOLÓGICOS”***

Dissertação apresentada ao curso
de Pós-Graduação em Odontologia,
Área de Biologia e Patologia Buco-
Dental, Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas - UNICAMP -
para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Piracicaba
-1997-



UNIDADE	8C
N.º CHAMADA:	UNICAMP
V.	12/04/98
NUMERO DO	32523
PREC.	395/98
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	12/04/98
N.º CPD	

CM-00104805-6

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

M813p
 Moreira, Daniella.
 Prevalência de candida na cavidade bucal de escolares de diferentes categorias sócio-econômicas. Avaliação de parâmetros clínicos, salivares e microbiológicos/ Daniella Moreira. - Piracicaba : [s.n.], 1997.
 107f. : il.
 Orientador : José Francisco Höfling.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
 1. Candida. 2. Classes sociais. 3. Cárie dentária em criança.
 I. Höfling, José Francisco. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.
 19.CDD - 616.015

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Fungos

616.015



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Mestrado**, em sessão pública realizada em 27/11/97, considerou o candidato aprovado.

1. José Francisco Hofling

A stylized, geometric signature consisting of several intersecting lines forming a triangular shape.

2. Antonio Olavo Cardoso Jorge

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Antonio Olavo Cardoso Jorge".

3. Fernando Ricardo Xavier da Silveira

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Fernando Ricardo Xavier da Silveira".

Agradecimentos

Agradeço à todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Carlos Roberto Hope Fortinguerra**, e demais coordenadores do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP.

Ao Prof. Dr. **Lourenço Bozzo**, pela amizade e estímulo à iniciação científica.

Ao Prof. Dr. **Lourenço Correr Sobrinho**, pela amizade e solidariedade sempre recebidas.

À amiga, Prof^a. **Maria Tereza Callefe**, pela revisão da língua portuguesa e incentivo sempre constantes.

Aos Prof^{os}. Drs. **Antonio Marcos Moreira**, **José Vicente Moreira**, **Jozemar Pereira dos Santos** e **João Agnaldo do Nascimento**, do Departamento de Estatística da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), pela realização e orientação da análise estatística.

Ao Prof. Dr. **Marcelo de Castro Meneghim**, da Disciplina de Odontologia Preventiva e Saúde Pública da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela análise dos resultados referentes aos índices de cárie.

Ao Dr. **Aldo Eras**, por ter cedido o Laboratório Eras, durante a identificação de algumas amostras de *Candida*.

À amiga **Denise M. P. Spolidorio**, pelo exemplo de companheirismo e dedicação sempre transmitidos, nos momentos mais críticos da realização desta pesquisa.

Aos técnicos da disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, Sras. **Wilma C. Ferraz** e **Elza M. Tomazzini**, e Sr. **Anderson Laerte Teixeira** pela amizade e cuidadosa atenção dispensada durante a realização deste trabalho

Às amigas **Roselaine Palhares Alves** e **Renata Basanelli**, pelo companheirismo em todos os momentos deste trabalho e a todos os amigos do Curso de Pós-Graduação, pelo apoio e solidariedade sempre presentes.

Aos amigos da disciplina de Microbiologia e Imunologia **Edvaldo A. R. Rosa**, **Cássio V. Pereira**, cujo incentivo e auxílio sempre me surpreenderam, e **Alessandra S. Campos**, **Janaína A. O. Rodrigues**, **Ana Maria Sell** e **Cristina C. Rodrigues**, que sempre contribuíram para um ambiente de estudo agradável e por se mostrarem sempre solidários e participativos em todas as horas.

À Sra. **Heloísa M. Ceccotti**, bibliotecária da FOP-UNICAMP, pelo auxílio na realização das "Referências Bibliográficas".

À **CAPES**, importante entidade de apoio e fomento à pesquisa.

ÍNDICE DE FIGURAS

Gráfico 1	- Distribuição de <i>Candida</i> em relação as classes sócio-econômicas.	52
Gráfico 2	- Ocorrência das espécies de <i>Candida</i> nas diversas classes sócio-econômicas.	54
Gráfico 3	- Incidência de <i>Candida albicans</i> em associação com outras espécies no total de amostras analisadas.	54
Gráfico 4	- Índices de cárie nas respectivas classes sócio-econômicas.	56
Gráfico 5	- Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (A)..	58
Gráfico 6	- Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (B)..	59
Gráfico 7	- Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (C).	60
Gráfico 8	- Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (D).	61
Gráfico 9	- Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (E)..	62

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I	- Distribuição do número de indivíduos por classe social.	33
Tabela II	- Interpretação da Velocidade de Fluxo Salivar.	36
Tabela III	- Interpretação dos valores indicadores da Capacidade Tampão.	37
Tabela IV	- Características bioquímicas de microcultivo e formação de tubo germinativo de espécies do gênero <i>Candida</i>	44
Tabela V	- Distribuição e Frequência (UFC/mL) de <i>Candida</i> na saliva de escolares de diferentes categorias sócio-econômicas.	48
Tabela VI	- Distribuição conjunta dos valores (UFC/mL) de <i>Candida</i> , Capacidade Tampão e Fluxo Salivar em escolares de diferentes categorias sócio-econômicas, dependentes do sexo.	50
Tabela VII	- Distribuição conjunta dos valores de UFC/mL de <i>Candida</i> , Capacidade Tampão e Fluxo Salivar, em escolares de diferentes categorias sócio-econômicas, independentes do sexo.	51
Tabela VIII	- Distribuição das espécies de <i>Candida</i> segundo a classe sócio-econômica.	53
Tabela IX	- Média dos índices de cárie por categorias sócio-econômicas.	55

Gráfico 10 - Distribuição percentual de acometimento por lesões de cárie nas superfícies dentais dos 1^{os} molares permanentes nas classes sócio-econômicas de A a E. **63**

SUMÁRIO

RESUMO

INTRODUÇÃO..... 1

REVISÃO DA LITERATURA..... 5

MATERIAL E MÉTODOS..... 31

RESULTADOS..... 46

DISCUSSÃO..... 64

CONCLUSÕES..... 77

ANEXO..... 79

APÊNDICE..... 83

SUMMARY..... 86

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 89

RESUMO

RESUMO

Amostras salivares de escolares entre 6 e 9 anos de diferentes classes sociais, da região de Piracicaba, foram analisadas objetivando conhecer as espécies e a frequência de leveduras do gênero *Candida* nesses indivíduos, conjuntamente com parâmetros salivares (capacidade tampão, fluxo salivar) e clínicos (índices de cárie - CPOD, CPOS, ceod e ceos). Foram analisadas 239 crianças, distribuídas em 5 classes sociais distintas de A a E. As amostras de saliva concentradas foram analisadas inicialmente, medindo-se fluxo salivar, pH e capacidade tampão. Posteriormente, as mesmas foram diluídas em solução salina e semeadas em Agar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol. Após o crescimento característico, procedeu-se à contagem de UFC/mL, realizando, posteriormente, a identificação das espécies, através dos testes de produção do tubo germinativo, produção de clamidósporos, fermentação e assimilação de carboidratos. Os resultados demonstraram que, das crianças analisadas, 113 apresentaram *Candida*, totalizando 47,3% do total da amostra. A espécie mais isolada foi *C.albicans* em todas as categorias sócio-econômicas, seguida de *C.tropicalis*, *C.krusei* e *C.parapsilosis*. Os diversos parâmetros analisados - clínicos, microbiológicos e salivares - com ênfase no "Risco de Cárie", como, fluxo salivar, capacidade tampão e UFC/mL de *Candida*, não mostraram correlação estatisticamente significativa entre estas variáveis. Entre os parâmetros salivares, os testes de capacidade tampão da

saliva e fluxo salivar revelaram valores respectivamente normais, e acentuadamente diminuídos, prevalecendo em toda a amostra. Não foi constatada correlação estatisticamente significativa entre *Candida* e risco de cárie para a população estudada. Para os parâmetros clínicos, observou-se uma correlação positiva entre índices de cárie e classe sócio-econômica, revelada através do teste estatístico de Kruskal-Wallis. Os maiores índices de cárie (CPOD) foram registrados nas classes sócio-econômicas D e E, sendo 1,02 e 1,07, respectivamente, o que revela uma população de baixo risco de cárie. Os molares inferiores decíduos e os primeiros molares permanentes foram os mais acometidos por cárie, e as superfícies oclusais, as mais lesionadas por essa patologia.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Na cavidade oral, a *Candida albicans* integra-se a outros microrganismos aí existentes, como vírus, bactérias, fungos e protozoários. A compatibilidade da coexistência dessa população microbiana com a saúde bucal e individual envolve - desde o nascimento - mecanismos imunológicos e processos de adaptação e readaptação contínuos, pelos quais se estabelece vínculo biológico entre o organismo e os microrganismos que a cavidade oral abriga. Tal vínculo biológico garante a condição comensal desses microrganismos, pelo estabelecimento de um estado de equilíbrio biológico.

A boca, ao contrário de outras cavidades naturais, está constantemente exposta a fortes estímulos mecânicos, térmicos e químicos, em decorrência dos atos fisiológicos a ela inerentes, destacando-se a mastigação. Desta forma, a boca está propensa a apresentar, com muita precocidade, frequência e expressão, alterações decorrentes de modificações sistêmicas, sejam elas de fundo carencial, metabólico, ou de outra natureza, as quais poderão concorrer para o rompimento do equilíbrio biológico entre a população microbiana e o hospedeiro (LACAZ, 1980).

A ocorrência de *Candida* na cavidade bucal estabelece-se sob a forma comensal e constitui parte da microbiota bucal normal. As razões para o estabelecimento de infecções são fatores precipitadores tais como: queda de imunidade do hospedeiro, desordens endócrinas, lesões em

mucosas, higiene oral deficiente, tratamento prolongado com antibióticos, corticosteróides e outros. A variedade das manifestações clínicas da candidose bucal reflete a diversidade das inúmeras condições predisponentes.

RIPPON (1982) relata que, no estrito senso da palavra, não há leveduras essencialmente patogênicas. Aquelas que estão associadas às doenças humanas ou de animais são capazes de promover infecção em indivíduos normalmente saudáveis. Algumas alterações nas células de defesa do hospedeiro, na fisiologia ou na microbiota normal, precisam ocorrer antes da colonização, infecção e doença, produzidas por leveduras. A severidade da doença dependerá da quantidade de alterações apresentadas pelo hospedeiro, em comparação com várias propriedades patogênicas exibidas pelos fungos, ou seja, a gravidade da debilitação do hospedeiro precisa ser considerável para permitir a invasão desses microrganismos, considerados outrora saprófitos. As razões pelas quais portadores são albergam *C.albicans*, constituem, ainda, uma indefinição. Acredita-se que fatores nutricionais, interação com microbiota bacteriana e presença de anticorpos na saliva colaborem com a incidência desses organismos (STENDERUP,1990).

SILVEIRA *et al.* (1995) considera que a presença de leveduras na cavidade oral de pacientes saudáveis oscila, dependendo das condições utilizadas para detecção do microrganismo nos diferentes sítios da amostra,

como: técnica de coleta, idade, sexo e raça, assim como a metodologia empregada para quantificar e qualificar a interação levedura-hospedeiro.

De modo geral, as moléstias fúngicas têm sido investigadas sob vários pontos de vista: morfológico, fisiológico e patológico, sorológico, imunológico, clínico, genético-evolutivo, taxonômico, etc., no sentido de se conhecer melhor a interação desses microrganismos com o hospedeiro e o meio ambiente. Considerando-se que a presença de leveduras na saliva, muitas vezes, independe de fatores patológicos, mas que o conhecimento de sua incidência na cavidade bucal envolve o equilíbrio homeostático, parece oportuno avaliar a frequência e biotipos de *Candida* na saliva de portadores saudáveis, assim como o estudo das possíveis interações microbianas, com fatores clínicos e salivares, com ênfase na atividade cariogênica dessas populações, ao lado da obtenção de informações epidemiológicas desses microrganismos em populações, tendo como base os parâmetros sócio-econômicos, objetivo de inúmeras investigações recentes, relatadas na literatura disponível.

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

WHITAKER (1989) distinguiu cinco Reinos, entre eles, o Protista, Plantae, Animalia, Monera e o Fungi. O reino Monera abrigou os procariontes, organismos que não possuem organização nuclear típica, ou seja, a cromatina encontra-se dispersa no interior das células que usualmente são pequenas e não contêm mitocôndrias ou plastídeos. Seguindo-se em direção aos autotróficos encontra-se o reino Plantae e na direção oposta, o reino Animalia heterotrófico havendo entre eles um reino com características intermediárias, o reino Fungi. Esse grupo de microrganismos compreende o grande e diversificado grupo dos fungos, que, por sua vez, são considerados verdadeiros quando produzem hifas ou, como no caso de algumas leveduras somente blastósporos (*Saccharomyces cerevisiae*). Uma das características dos fungos verdadeiros é que a parede celular nunca contém celulose, mas usualmente quitina (glucosaminoacetato polimerizado), ausente também em algumas leveduras (*Schizosaccharomyces*). No reino fungi não se conhecem esporos sexuados móveis (PIZZIRANI-KLEINER *et al.*, 1994).

Os fungos filamentosos, os cogumelos e as leveduras fazem parte dos Mycobionta, com aproximadamente 70.000 espécies (CARLILE & WATKINSON, em 1994), apresentando núcleos (eucariontes), mas não

plastídeos (heterotróficos). Produzem esporos e corpos de frutificação, tendo como substância de reserva o glicogênio e lipídeos. A parede celular é rígida e constituída de quitina e celulose, ou ambas, sendo o corpo vegetativo formado de filamentos ramificados (raramente não o são), com crescimento apical chamado hifas. Quando se agrupam, as hifas formam micélios. Vivem em todos os climas da Terra e necessitam de compostos de carbono, nitrogênio, enxôfre, fósforo e íons metálicos, além da temperatura entre -10°C e $+60^{\circ}\text{C}$, umidade e pH situado entre 3,5 e 6,5. As quantidades de luz, CO_2 e O_2 podem influenciar na formação de esporos, nos corpos de frutificação e da multiplicação vegetativa. São saprófitas, parasitas obrigatórios ou facultativos.

As leveduras, como os bolores são fungos, mas deles se diferenciam por se apresentarem usual e predominantemente sob a forma unicelular. As leveduras não são uma entidade taxonômica natural, embora exibam uniformidade morfológica. Também são diferenciadas, menos de acordo com elementos da morfologia e mais de conformidade com características fisiológicas. Algumas não formam esporos e são consideradas fungos imperfeitos. Sua reprodução vegetativa se faz geralmente por gemulação. Como células simples, as leveduras crescem e se reproduzem mais rapidamente que os bolores. As leveduras também se diferenciam das algas por não efetuarem fotossíntese, e igualmente não são protozoários porque possuem uma parede celular rígida. São facilmente diferenciadas das

bactérias em virtude de suas dimensões maiores e de suas propriedades morfológicas. Algumas leveduras produzem esporos sexuados e, assim, apresentam clara relação com os ascomicetos ou com basidiomicetos.

A capacidade de atuar e modificar o ambiente faz com que os fungos desempenhem um destacado papel com importantes desdobramentos econômicos para o homem. Os fungos são benéficos pela capacidade de decomposição da matéria orgânica, reciclando seus elementos e eliminando resíduos indesejáveis para produzir humus, por exemplo. A presença de leveduras nas flores e frutos tem sido amplamente estudada por SANTOS *et al.*, (1996). Em relação aos alimentos, esses microrganismos são importantes pelo sabor, cor e textura que proporcionam (espécies de *Penicillium* em queijos Roquefort, Gorgonzola e Camembert). Os produtos fermentados produzidos pelos fungos como pão, o vinho e a cerveja, têm, de longa data, destacada importância econômica para o homem.

As leveduras do gênero *Candida* estão amplamente distribuídas na natureza, podendo algumas espécies viver em vida saprófita ou parasitária no organismo do homem e de outros animais de sangue quente (LACAZ *et al.*, 1980 e BUDTZ- JÖRGENSEN, 1990a). A *Candida* também é frequentemente encontrada como um comensal prejudicial no trato digestivo e vaginal e também constitui uma parte da microflora normal do hospedeiro (BUDTZ - JÖRGENSEN , 1990a). Estes fungos são encontrados também em indivíduos

sadios comportando-se como oportunistas. O estado portador sem exibir a patologia é vastamente pesquisado. ALLEN (1992) considera que, para muitos indivíduos, o próprio sistema imune e a competição com as demais bactérias orais mantém o organismo fúngico sob controle, e qualquer alteração neste equilíbrio resultaria em candidose.

O gênero *Candida* apresenta características dos fungos brancos imperfeitos, leveduras capazes de formar pseudohifas, e está entre a classe dos Deuteromycetos. Entre os gêneros, as espécies são caracterizadas pela morfologia colonial, utilização de carbono e fermentação (SHEPPERD *et al.*, 1985). VAN UDEN & BUCKLEY, (1970), descreve as leveduras do gênero *Candida* como células globosas ou ovóides, cilíndricas ou alongadas, - algumas vezes irregularmente formadas, - normalmente são ogivais, reproduzem-se por gemulação multipolar, apresentando ainda pseudomicélio diferenciado em pseudohifas e blastósporos. SANDVEN (1990), afirma que as espécies de *Candida* são distinguidas entre as demais classes dos Deuteromycetos pela habilidade de formar pseudohifas, sendo a *C. glabrata* a única exceção. Algumas vezes, existe ainda micélio verdadeiro, com a possibilidade de formação de clamidósporos e de produção de polissacarídeos extracelulares com reação positiva para o iodo, sendo que a maioria das espécies ainda possuem habilidade fermentativa e oxidativa. Essas leveduras não formam artrósporos ou teliósporo e não produzem pigmentos carotenóides.

De acordo com MEYER *et al.*(1984), *C. albicans* é um fungo dimórfico que na forma de levedura, apresenta-se como células globosas Gram positivas, ovaladas e alongadas, medindo em média 3 a 7 μm de largura por 3 a 14 μm de comprimento.

A importância médica das infecções por *Candida albicans* e o valor científico das leveduras como um modelo para desenvolvimento celular fúngico têm estimulado estudos com ênfase na epidemiologia, patogênese, genética e bioquímica das doenças que envolvem esses micorganismos. Existem 7 espécies de *Candida* de maior importância médica, sendo *C. albicans* a mais frequentemente isolada, acreditando-se também ser a mais virulenta para o ser humano (MCULLOUGH *et al.*,1996). As outras espécies de *Candida* encontradas nas infecções humanas são *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.stellatoidea*, *C. krusei* e *C.kefyr*, (SAMARANAYAKE & MACFARLANE, 1990). Devido à homologia de DNA relativamente alta entre *C. albicans* e *C.stellatoidea*, esta última tem sido reclassificada como sacarose negativa, sendo considerada uma variante da *C.albicans*. (MEYER *et al.*, 1984).

Tem sido relatado na literatura que muitas pessoas são portadoras de *Candida* em diferentes sítios do corpo humano, ODDS, (1987) e LYNCH (1984). Todavia, tem sido mostrado que muitos indivíduos podem abrigar mais que uma espécie de *Candida* ao mesmo tempo, e que em muitos pacientes hospitalizados e imunocomprometidos, a ocorrência é mais comum. A

existência intraoral na forma comensal ocorre em pelo menos 50% da população, e, se testes suficientemente sensíveis fossem desenvolvidos, possivelmente mais que 90% dos indivíduos saudáveis demonstrariam ser portadores deste microrganismo, (ODDS,1987). A associação de duas espécies microbianas pode ocorrer através da aderência de *Candida albicans* com certas espécies bacterianas ou por adicionar uma dieta rica em carboidratos ao substrato. Essa interação determina um importante aspecto na patogenicidade da *Candida albicans*.

O trato gastrointestinal é considerado o maior habitat de *Candida* sp comensal, porém quando presente em números suficientemente elevados, *Candida albicans* estende-se para o intestino humano causando fungemia, sugestivo de que o intestino é um ponto de origem da maioria das infecções causadas por *Candida*.

Tem sido relatado na literatura que a prevalência e densidade de *C.albicans* são maiores em pacientes edêntulos que fazem uso de prótese total dentária e que apresentam candidose eritematosa, quando comparados com indivíduos normais, sugerindo que prótese dentária pode encorajar o crescimento de *Candida* (MCCULLOUGH *et al.*, 1996). DAHLÉN *et al.*(1982) afirmam que a *Candida albicans* é um importante fator etiológico para o desenvolvimento de estomatite por prótese e queilite angular e que pode causar um agravamento na existência de leucoplasia e líquen plano. Os

autores revelam ainda que não é possível equacionar números específicos de *Candida* com saúde e doença, como previamente proposto (ARENDORF & WALKER, 1980). Similarmente, se um indivíduo apresenta o sistema imunológico comprometido causado por inúmeros fatores como leucemia, uso de corticosteróide, diabetes mellitus ou infecção por HIV, a *Candida* poderá proliferar e produzirá candidoses.

A habilidade da *Candida albicans* em se alterar fenotipicamente e adaptar-se às condições locais, assumindo a forma de hifas nos tecidos e em estruturas que resistam à fagocitose, provavelmente é a maior causa da patogenicidade desses microrganismos. Entretanto outras espécies de *Candida* são capazes de produzir candidoses. Entre elas estão *C. glabrata*, *C. guilliermondi*, *C. hamulonii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitane*, *C. novogensis*, *C. parapsilosis*, *C. viswanathiu* e especialmente *C. tropicalis*. Esta última tem predileção por pele e está frequentemente envolvida na difusão da erupção máculo papular (CRISSEY *et al.*, 1995).

Uma revisão na biologia e genética de *C. albicans* relata esta espécie como fungo imperfeito que não apresenta ciclo sexual. É diplóide, tendo perdido a habilidade de se submeter a meiose e formar uma levedura haplóide. As colônias de *Candida* crescem em Agar Sabouraud, e a espécie *albicans* é a que apresenta crescimento mais rápido, tornando-se colônias maduras em aproximadamente três dias. Ao exame macroscópico, as colônias

aparecem cremes, pastosas e enrugadas, o que as distingue das demais leveduras. Ao exame microscópico, a presença de hifas e pseudohifas pode vir acompanhada com pequenas blastoconídias, sempre arranjadas em cachos juntos com os elementos miceliais. Em Agar Fubá, o organismo produz clamidósporos terminais característicos, sendo a espécie *albicans* a única a produzir esta estrutura com exceção da *C.stellatoidea*, considerada uma variação da *C.albicans* (MCCULLOUGH *et al.* , 1996). De acordo com BUDTZ-JÖRGENSEN (1990b), para o diagnóstico de *Candida albicans* nas lesões, nem sempre a obtenção da biópsia do espécime é o mais importante. A obtenção de um raspado da lesão que forneça blastósporos e pseudohifas em abundância é o suficiente para caracterizar este microrganismo. As lesões que respondem pobremente ao tratamento antimicótico, a indicação de biópsia (exame histopatológico) pode detectar a possibilidade de alteração maligna do epitélio. De acordo com CRISSEY *et al.* (1995), na biópsia, os espécimes de tecidos corados, provenientes de candidose sistêmica, apresentam um infiltrado inflamatório agudo formado por neutrófilos e células mononucleares dispostas em microabcessos.

As causas da presença de *C.albicans* em portadores são não estão claramente definidas, porém, sugere-se que fatores nutricionais, interações com microbiota bacteriana e presença de anticorpos específicos na saliva possam contribuir, STENDERUP, (1990) e JENKINS (1977).

Candidose Bucal

SIXOUX *et al.* (1996) consideraram que as infecções por *Candida* são a principal causa de mortalidade entre pacientes imunossuprimidos. A cavidade oral é um grande reservatório desses microrganismos, tanto comensal quanto adquirido, os quais exarcebam a virulência nesses pacientes. Estudos revelam que ocorrem modificações na microbiota bucal assim como um aumento de leveduras, bacilos Gram negativos e estafilococos. SHAFFNER (1996) relata que *Candida* sp. são normalmente encontradas nas superfícies gastrointestinais e trato genital, sugerindo, ainda, o tratamento com fluconazol via oral.

A avaliação da imunidade mediada por células contra *Candida albicans* e outros antígenos pode ser importante nos pacientes com candidose crônica severa, principalmente para determinar o grau de imunocompetência e o prognóstico (BUTDZ-JÖRGENSEN, 1990b).

De acordo com SAMARANAYAKE (1992), a candidose oral pode se desenvolver em 1/3 a 1/2 dos indivíduos HIV-soropositivos. O aumento na prevalência de candidose superficial e invasiva tem sido atribuído também ao uso indiscriminado de antibióticos e agentes imunossupressores. A candidose está entre as manifestações orais mais prevalentes na Síndrome da

Imunodeficiência Adquirida, estando inclusive associada a um dos sinais precoces de HIV / AIDS, podendo apresentar-se conjuntamente com eritemas, hiperplasias, variações papilares e queilite angular (SAMARANAYAKE,1992). COATES *et al.* (1996), num estudo realizado em Adelaide, Austrália, - em pacientes portadores de HIV - constataram a presença de *Candida* oral em 32% dos indivíduos, leucoplasia pilosa em 24,1%, gengivite por HIV entre 18,5% e periodontite por HIV 33,3%.

De acordo com BUDTZ-JÖRGENSEN (1990a), os fatores que predispoem à candidose oral podem ser sistêmicos ou locais:

Fatores Sistêmicos:

- Fisiológicos: idade avançada, infância, gravidez
- Desordens Endócrinas: diabetes mellitus; hipotireoidismo;
- Deficiências nutricionais: ferro; folatos; vitamina B12;
- Doenças malignas: leucemia aguda; agranulocitose;
- Defeitos imunes ou imunossupressão: Aids; aplasia tímica; corticosteróides

Fatores Locais:

- Xerostomia;
- Síndrome de Sjögren; irradiação; quimioterapia;
- Antibióticos de largo espectro;
- Corticosteróides;
- Dieta rica em carboidratos
- Leucoplasia; cancer oral;
- mudanças nas condições de desenvolvimento: prótese total; traumas; falta de higiene em próteses;
- Fumar tabaco

O número de *Candida* porém, pode aumentar em pacientes imunodeprimidos e xerostômicos, pacientes portadores de aparelhos ortodônticos, próteses totais ou parciais, nas alterações endócrinas e carências nutricionais, OKSALA, (1990) e JORGE (1991). A xerostomia assume, assim, entre os fatores locais predisponentes às candidoses, particular importância, uma vez que os mecanismos de defesa primários ficam eventualmente bloqueados. A redução drástica do fluxo salivar pode ocorrer relacionada a fatores locais, bem como associadas as condições sistêmicas, como na Síndrome de Sjögren. O hábito de ranger os dentes (bruxismo) provoca constante atrito de áreas da mucosa bucal contra as superfícies dentárias a elas contíguas, representando apreciável fator mecânico predisponente ao

desenvolvimento à candidoses. A perda de dimensão vertical leva à formação de dobras na pele, adjacentes às comissuras labiais, que favorecem a ação patogênica de leveduras do gênero *Candida* (LACAZ, 1980). A investigação entre presença de *Candida* e Glossite Rombóide Mediana também foi amplamente avaliada por TOUYZ *et al.* (1987).

JORGE *et al.* (1997) avaliaram a presença de *Candida* em indivíduos, apresentando fatores predisponentes (prótese total, prótese parcial removível, periodontite crônica em adultos, respiração bucal, aparelho ortodôntico fixo e aparelho ortodôntico removível e aparelho extra-bucal), concluindo que houve maior porcentagem de pacientes positivos para *Candida* nos grupos com fatores predisponentes em relação aos controles. Houve predominância de isolamento de *C.albicans* em todos os grupos, porém, os pacientes com fatores predisponentes apresentaram maior diversidade de espécies. As manifestações clínicas das infecções orais por leveduras podem ser classificadas, de acordo com o quadro abaixo:

Formas de Candidoses Aguda:

- pseudomembranosa;
- eritematosa;

Formas Crônicas:

- Pseudomembranosa;
- eritematosa;
- semelhante a placa;
- nodular;

Lesões associadas à Candida:

- queilite angular (perlèche);
- estomatite por prótese total;
- glossite rombóide mediana

Fonte: HOLMSTRUP & AXELL (1990).

A candidose pseudomembranosa é a mais prevalente na infância e em senis debilitados. As condições que predispõem para candidose pseudomembranosa incluem malignidade (particularmente leucemia aguda), AIDS e diabetes. O mesmo pode ser observado em pacientes que sofreram radiação da cabeça e pescoço e nos usuários de inaladores esteróides aerossol e drogas psicotrópicas. A candidose pseudomembranosa é caracterizada por uma mancha cremosa, esbranquiçada ou pseudomembranosa que aparece no dorso da língua, boca, palato e mucosa labial, garganta e gengiva.

HOLMSTRUP & AXELL (1990) declaram que a candidose eritematosa é visível no dorso da língua, estando geralmente associada à

antibioticoterapia, caracterizando-se por áreas avermelhadas, com bordos irregulares e pouco delimitados. SLOTS (1992), entretanto, classifica a candidose eritematosa como Glossite Rombóide Mediana, caracterizada por lesões avermelhadas, que variam de vermelho intenso ao rosa leve, no centro do dorso da língua.

As formas crônicas de candidoses (pseudomembranosa e eritematosa) aparecem em pacientes imunodeprimidos ou que fazem uso de corticosteróides inaláveis. As lesões em "placa" são caracterizadas pela presença de placas brancas, geralmente firmes e persistentes, envolvidas por eritemas, localizadas preferencialmente no lábio, língua e bochechas (HOLMSTRUP & AXELL, 1990). A candidose crônica em placa ou nodular oral regride após tratamento antimicótico, podendo ser considerada como evidência circunstancial, porém é evidente que a mudança epitelial tem sido parcialmente induzida por leveduras (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1990b).

A candidose atrófica crônica pode induzir o aparecimento de queilite angular (perlèche), uma infecção por *C. albicans* que origina fissuramento na comissura labial resultando em insensibilidade e eritema. *Staphylococcus aureus* é frequentemente encontrado em associação com *Candida* nessas condições, SLOTS, (1992) e HOLMSTRUP & BESSERMAN (1983). Em pacientes com sinais clínicos indicativos de candidose aguda ou crônica, o diagnóstico é confirmado por culturas semiquantitativas ou

microscopia direta dos raspados. A biópsia e exame histológicos são indicados se a associação entre *Candida* e malignidade for suspeitada (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1990b).

Patogenicidade de Candida albicans

Embora a forte correlação entre os fatores predisponentes à prevalência de *Candida* seja inquestionável, devemos considerar as características microbiológicas, as estruturas antigênicas (sorotipos) e produção e atividade enzimática (proteínase e fosfolipase), que, aparentemente, modulam a virulência e a capacidade invasiva de *C. albicans* (BONIFÁCIO-SOUZA *et al.*, 1990 e LEHNER, 1967).

Segundo, MAC DONALD & ODDS, (1983), muitos fatores de virulência para *C. albicans* têm determinado com sucesso a colonização ou invasão do tecido hospedeiro). Sendo, os três fatores de virulência mais investigados são aqueles relacionados à parede celular, à adesão e à produção de enzimas proteolíticas (OLSEN,1990). A parede celular do organismo é essencial para o sucesso do patógeno, é a exigência para o crescimento, além de promover proteção contra os insultos osmóticos, principalmente por ser a região de contato entre o organismo e o meio ambiente. As ligações da superfície celular e receptores promovem a

colonização das células hospedeiras e tecidos, considerando que enzimas proteolíticas são envolvidas na penetração dos tecidos.(MAC DONALD & ODDS, 1980).

RÜCHEL (1984) e SILVEIRA *et al.*(1993) demonstram que a maioria das espécies de *Candida* são produtoras de proteinase. Outro mecanismo pelo qual a *C. albicans* pode causar dano aos tecidos é pela produção da enzima fosfolipase, o que possivelmente facilita a sua penetração nos tecidos. A fosfolipase é uma enzima que degrada fosfolipídios, comuns em todas as formas de vida e frequentemente encontrada em associação com membranas celulares. A fosfolipase, por sua vez, possui capacidade de lisar membranas biológicas, (PRICE & CAWSON 1977 e DENNIS 1983). A produção de proteinase por amostras de *C. albicans* confere às mesmas maior adesão ao epitélio bucal *in vitro* (BORG & RÜCHEL, 1990).

A espécie *C. albicans* pode apresentar afinidade não específica na ligação com resina acrílica (indução de Estomatite Dentária induzida por *Candida*) e outros plásticos (Candidose relatada por catéter), SHEPHERD *et al.*(1985). A adesão à superfície plástica é sempre induzida e promovida por açúcares, os quais podem ser fatores importantes na colonização de leveduras quase imediata à superfície dentária, vista após terapia anti-fúngica (ROTROSEN *et al.*, 1986 e BUTDZ - JORGENSEN, 1990b).

De acordo com LOTUFO *et al.*(1995) o uso de contraceptivos orais pelas mulheres não induz a presença de Candidose, embora promova um aumento na seletividade de espécies microbianas e um aumento no número de fungos.

Leveduras do gênero Candida e a cavidade oral

STENDERUP (1990) confirma a importância da *C.albicans* como agente etiológico de quase todas as infecções fúngicas da cavidade oral e ainda ressalta a associação da mesma com outras espécies microbianas. A associação de duas espécies microbianas pode ocorrer através da aderência de *Candida albicans* com certas espécies bacterianas ou por adicionar uma dieta rica em carboidratos ao substrato. Esta interação determina um importante papel na patogenicidade desse microrganismo.

ALLEN (1992), afirma que a *Candida albicans* é o fungo de maior ocorrência na cavidade oral, sendo que acima de 50% ou mais da população adulta normal e saudável, apresentam essa espécie como componente da microflora oral normal. EPSTEIN *et al.*(1990) relatam que pacientes sadios devem apresentar baixo percentual de leveduras orais. STENDERUP (1990), no entanto, afirma que a ocorrência de *Candida albicans* na cavidade bucal, representa 60 a 70% dos isolamentos, sendo que *C.glabrata* e *C.tropicalis* vêm

em sequência, seguido de outras espécies de *Candida* onde o gênero (*Rhodotorula* e *Saccharomyces*) são de ocorrência mais rara e transitória.

Segundo KOGA *et al.*(1993, 1995) a Síndrome do Respirador Bucal interfere com a presença do gênero *Candida* e as diferentes espécies que colonizam a cavidade bucal, propiciando ainda um aumento na prevalência de *Candida albicans* intra oral.

Os mecanismos pelos quais *C.albicans* causa doença em pacientes debilitados são pouco conhecidos. Vários fatores como a habilidade da *C. albicans* em formar hifas, capacidade de aderência à mucosa, presença de substâncias semelhantes a endotoxinas e secreção de enzimas hidrolíticas, têm sido sugeridos como fatores que contribuem para patogenicidade dessas leveduras, ODDS, (1979) e SHIMIZU (1988).

Nas últimas décadas, o registro de um aumento na prevalência de Candidose superficial e invasiva atribuído ao uso indiscriminado de antibiótico e agentes imunossupressivos, tem sido observado. Considerando-se que a *C.albicans* prolifera no trato alimentar de pacientes sob antibioticoterapia, a presença de endotoxina do fungo assume importância como fator patogênico. Com o aumento do número de leveduras, a endotoxina, produzida durante a sua reprodução e morte, pode causar irritação local e participar no dano à superfície dos tecidos (SEELIG, 1966).

As espécies de *Candida* assumem a causa de algumas doenças

humanas por invasão tecidual, por indução ao estado de hipersensibilidade ou por produzir potentes toxinas. Sua característica de aderência às superfícies epiteliais, a permite colonizar com sucesso e infectar a mucosa hospedeira (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1990b). SHIMIZU, (1990) e RUCHEL *et al.* (1982) afirmam que os fatores de virulência de *C.albicans* relacionam-se com a produção de hialuronidase, condroitin sulfatase, proteinase e fosfolipase, de forma conjunta, determinando inclusive a intensidade da virulência. SHIMIZU (1990) relata, ainda, não ter observado diferença na produção das enzimas entre amostras isoladas de pacientes clinicamente sadios e de pacientes com suspeita de candidose, assim como também não observou diferenças quanto à patogenicidade entre as amostras.

As leveduras podem ser identificadas pelas suas características morfológicas, porém metodologias atuais permitem o conhecimento mais diversificado desses microrganismos e de suas diversidades taxômicas. A *Candida albicans* pode ser tipificada (Tipo A e B) através da interpretação sorológica, por biotipagem, pela morfologia, por interpretação de sensibilidade a fatores "Killer", por cariotipagem eletroforética, fragmentos de DNA e "imunoblotting". Todos esses métodos, têm sido importantes no rastreamento epidemiológico (STENDERUP, 1990).

A interface Candida/Cárie

CLARIFKER (1960) salientou que as leveduras contaminam a região oral ao serem introduzidas na boca, oriundas do meio exterior, proveniente dos alimentos, água, ar ou, ainda, através do contato com superfícies corporais ou inanimadas, contaminadas. A prevalência desses microrganismos em processos cariogênicos ou em canais radiculares humanos foi avaliada por PASSOS (1961) e BERTOLINI (1964). Também BARTELS & BLECHMAN (1962) ressaltam a frequência e distribuição de leveduras na cavidade oral de indivíduos normais, ou de usuários de próteses dentárias (DAVENPORT, 1970), enquanto que, nas candidoses e nas estomatites causadas por prótese total, há predominância de *C. albicans*, sorotipo A (MARTIM *et al.*, 1982). A presença de leveduras do gênero *Candida* também foi constatada no periodonto, e isoladas em maior número na saliva de pacientes com periodontite crônica quando comparados com o periodonto saudável (JORGE, 1995).

FOSDICK & HANSEN (1937) foram uns dos primeiros a sugerir a possível correlação entre leveduras e produção de ácidos na cavidade oral. Tal fato foi verificado após a realização da incubação "*in vitro*" de esmalte dental com saliva. Esses autores observaram que, quando a saliva continha *Lactobacillus acidophilus* somente, o esmalte não era dissolvido, porém,

quando leveduras isoladas da cavidade oral foram adicionadas, a produção de ácido era suficiente para dissolver o esmalte, concluindo que dos organismos bucais testados, leveduras e *L.acidophilus* foram os mais ativos que outros na redução do ácido pirúvico para ácido láctico. A correlação positiva de lactobacilos e leveduras intra-orais, com o aumento de lesões cariosas, foi avaliada e discutida também por PIENIHÄKKINEN (1987b). A associação entre contagem de fungos com a atividade de cárie foi amplamente estudada por GLASS (1985), RUSSEL (1987), PIENIHÄKKINEN (1987a) e RUSSEL *et al.* (1991), demonstrando o aparecimento das espécies de *Candida* nas cáries dentais e estruturas ao redor (gengiva, placa e canal radicular). Esses autores, a fim de avaliar a correlação de leveduras com o risco de cárie, constataram uma elevada frequência de *Candida* nas lesões de cárie, sugerindo que as lesões de cárie funcionem como um reservatório de leveduras. Conseqüentemente, outras estruturas orais podem ser colonizadas por espécies de *Candida* provenientes desses locais.

Durante o período neonatal, a condição predisponente da instalação de leveduras está provavelmente na imaturidade do sistema imune e condições estruturais da microflora oral (OKSALA, 1990). Tal fato é também demonstrado na literatura por LAY & RUSSEL, (1977) e RUSSEL & LAY (1973), os quais afirmam que 5 a 7 % das crianças, nas primeiras horas após o nascimento, apresentam *Candida albicans* e após uma semana estes valores

chegam a 14,21% . A presença ainda de *Candida*, em 49% das crianças de 3 a 5,5 anos e em 65% nas de 6 a 12 anos foi constatada por BERDICEVSKY *et al.* (1984).

Segundo SANTOS e LONG (1994), a avaliação do risco de cárie, através da determinação do índice ceo e testes salivares (fluxo Salivar e Capacidade Tampão), em crianças de 3 a 6 anos de idade, revelou que, quanto menor o fluxo salivar, maior o índice ceo. PIENIHÄKKINEN (1987a), correlacionou lesões de cáries incipientes, capacidade tampão, lactobacilos e leveduras como combinação para estabelecer prognóstico de cárie, distinguindo ainda os indivíduos de baixa e alta prevalência. Um estudo longitudinal, realizado ainda por PIENIHÄKKINEN (1988), comparou os resultados obtidos anualmente de avaliações da presença e quantidade de lactobacilos salivares e leveduras, em uma mesma amostra, para distinguir indivíduos de alta ou baixa suscetibilidade à cárie. Esses resultados demonstraram, que, como teste de atividade de cárie separadamente, a presença de leveduras possui mais significado para o prognóstico de cárie do que a avaliação do número de lactobacilos, projetando o aumento de cárie em 3 anos. Assim, os indivíduos que possuem mais de 400 UFC/mL de leveduras na saliva apresentam atividade de cárie acentuada. OLSEN & STENDERUP (1990) afirmaram também que os pacientes com mais 400 UFC/mL de *Candida* na saliva possuam candidose crônica ou aguda.

Microbiota bucal / fatores exógenos e outros

A condição sócio-econômica, associada aos hábitos de higiene, à alimentação e a aspectos culturais, tem modificado sensivelmente a prevalência dos microrganismos orais, despertando, portanto, a atenção dos pesquisadores em relação a esses fatores (SPOLIDORIO,1997). A condição social e a ocupação podem afetar os hábitos bucais e dietéticos, assim como as doenças sistêmicas podem alterar o fluxo salivar. SANTOS & LONG (1994) afirmam, ainda, que o fluxo salivar tende a aumentar com o passar da idade e que não houve prevalência do fluxo salivar com relação ao sexo na faixa etária de 3 a 6 anos de idade.

JORGE *et al.* (1987), avaliando 266 indivíduos na faixa etária de 7 a 25 anos demonstraram que a presença de aparelho ortodôntico, propiciou um aumento no número de portadores de *Candida albicans* na saliva e ainda que o grau de higiene contribuiu diretamente com a presença do microrganismo intra-oral, ao passo que indivíduos com higienização mais eficiente, demonstraram percentuais menores de isolamento de *C.albicans*.

As diferenças sócio-econômicas revelam, ainda, alterações significativas na microbiota oral (ARENDORF *et al.* , 1979). Há evidências de que a má nutrição pode influenciar a microbiota oral, sendo que BASU *et al.* (1961) encontraram uma taxa elevada de leveduras nestes indivíduos.

SAMARANAYAKE (1986), afirma que uma variedade de fatores nutricionais, incluindo deficiências de Ferro, ácido fólico e vitaminas A,B,C,K e Zinco, além de uma dieta rica em carboidratos, têm sido relacionados com a patogênese das infecções orais por *Candida*. A deficiência nutricional em ferro ou ácido fólico pode facilitar a invasão epitelial por hifas de *C. albicans* (JENKINS *et al.*, 1977). FREITAS & BIRMAN (1989) afirmam que, em bocas clinicamente normais, a porcentagem de portadores de *Candida* é cerca de 33% a 40% . Da mesma forma, LILIENTHAL (1950) constatou que na saliva de indivíduos sadios a presença de *Candida* ficou ao redor desse percentual. A análise da frequência desses microrganismos intra-orais foi amplamente avaliada também, por WILLIANSO (1972b), o qual observou variação diurna com pico matinal entre os indivíduos dentados e inversão da curva em indivíduos portadores de prótese.

O hábito de fumar tem demonstrado aumentar o número de portadores de *C. albicans* (ARENDORF, 1979). Um estudo de portadores de leveduras intra-orais e *C. albicans* em adultos registrou um aumento de portadores de leveduras com a idade em paralelo com a prevalência crescente de fumantes (ARENDORF *et al.*, 1986). Também, BASTIAAN & READE (1982) correlacionaram a prevalência de *C. albicans* na boca, com sexo, idade, queratinização e hábito de fumar, demonstrando que a prevalência é maior nas mulheres e principalmente nas mais idosas. O efeito do fumo

(Tabaco) na prevalência intra-oral de leveduras foi estudado por OLIVER & SHILLITOE (1984) e também ARENDORF *et al*, (1983). DARLING *et al*. (1990) avaliaram também os efeitos do uso da maconha sobre a flora oral. Em ambos os casos, constatou-se um aumento na incidência de *Candida* nesses indivíduos, principalmente da espécie *C.albicans*. Assim, a intenção de correlacionar esses microrganismos com os vários processos patológicos que envolvem a cavidade oral, presentes na cárie dentária, canais radiculares, periodonto, mucosas, etc., ao lado de outros fatores exógenos ou não, como condição sócio-econômica, doenças sistêmicas, higiene oral, idade, sexo, fluxo salivar, entre outros, parecem estar determinando as diversas pesquisas recentes - presentes na literatura disponível - demonstrando a importância desses organismos em pesquisas que envolvem o ecossistema bucal.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Perfil da Amostra

A amostragem envolveu alunos de escolas públicas e particulares da município de Piracicaba - SP, região sudeste do Brasil. A coleta de dados foi feita através da rede pública de ensino sob permissão da Delegacia Regional de Ensino de Piracicaba e prosseguiu nas escolas particulares, após autorização dos respectivos Diretores e, posteriormente, dos pais de alunos (APÊNDICE 1).

Participaram desse estudo escolares de ambos os sexos, sem distinção de raça ou cor, com faixa etária variando de 06 a 09 anos, de acordo com a idade em anos completos no último aniversário. Os participantes foram convocados para participar deste estudo, independente dos hábitos de higiene bucal ou alimentação. Os únicos critérios relevantes para excluir o escolar da amostra foram a presença de aparato ortodôntico fixo ou móvel, tratamento com antibiótico a nível sistêmico ou outros medicamentos que pudessem alterar o fluxo salivar, interferindo, portanto, na apuração dos dados. Para detectar tais fatos, enviou-se questionário aos pais, visando obtenção desses dados (APÊNDICE 2).

3.1.2 Determinação da Amostra

A amostra constou de 239 crianças de classes sociais distintas, tomadas independentemente das escolas em que estudavam, obedecendo aos critérios estatísticos de amostragem, garantindo uma boa representatividade da população. A classificação dos escolares, segundo a classe sócio-econômica, foi feita de acordo com os critérios adotados pela Associação Brasileira de Anunciantes e do Instituto de Pesquisa de Mercado (ABA/ABIPEME) (ANEXO1). Tal classificação consiste em um questionário que foi aplicado de forma específica e individual a cada criança, sendo esta enquadrada na respectiva classe sócio-econômica correspondente A,B,C,D ou E.

A amostra quantificou-se em relação à classe sócio-econômica da seguinte forma:

Tabela I: Distribuição do número de indivíduos por Classe Social

<i>CLASSE SÓCIO- ECONÔMICA</i>	<i>Nº DE ÍNDIVÍDUOS</i>
A	48
B	60
C	40
D	48
E	43

3.2 Avaliação Bucal

Exames clínicos foram realizados em todos os participantes antecedendo a coleta da saliva para análise. Para tais procedimentos, utilizou-se sonda exploradora nº 5 e espelho plano, sob luz natural, após secagem prévia do elemento dental com gaze. Nenhuma recomendação foi dada, quanto à dieta e higienização, previamente ao exame.

Os exames clínicos foram executados exclusivamente por um único examinador, objetivando-se obter índices de cárie CPOD, CPOS, ceo, ceos, segundo PINTO (1989).

3.3 Determinação dos Índices de Cárie

De acordo com PINTO (1989), foram determinados os índices de cárie aplicados à amostra.

O índice CPO-D mede o ataque de cárie dental à dentição permanente. Suas iniciais representam respectivamente: dentes cariados (C), perdidos (P), obturados (O) e a medida de unidade que é o dente (D). Os perdidos subdividem-se em extraídos (E) e extração indicada (Ei). O índice ceo é o correspondente ao CPO-D em relação à dentição temporária e inclui somente os dentes cariados (c), com extração indicada (e) e obturados (o). Exclui os extraídos, levando-se em conta as dificuldades de

separar os dentes perdidos devido à cárie ou pelo processo natural de esfoliação dentária.

O CPOD médio e ceo, para um determinado grupo, são obtidos pela divisão de todos os dentes atacados pelo número de indivíduos examinados. Os índices de cárie CPOS e ceos são uma alternativa mais refinada para avaliação do acometimento de cárie, cuja unidade de medida é a superfície dental (s), e os critérios de avaliação são similares aos do índice CPO-D (ANEXO 2).

3.4 Coleta do Material

A coleta da saliva total estimulada foi realizada no período da manhã, entre 8:00 e 9:00 hs na maioria das crianças (WILLIANSO *et al*, 1972a) e, eventualmente, no período vespertino, entre 13:30 e 14:30 hs, de acordo com o período escolar.

3.5 Determinação da Velocidade de Fluxo Salivar (V.F.S.)

Para determinação da Velocidade de Fluxo Salivar foi dado a cada criança um pedaço de goma-base de aproximadamente 1,5 g para estimular a produção de saliva. As mesmas foram instruídas a reterem a

goma base na boca, mastigando-a por 01 minuto, sendo deglutida a saliva acumulada nesse período. O cronômetro foi registrado para 05 minutos e, a partir do seu acionamento, o processo de coleta salivar foi iniciado. A saliva foi coletada em tubos estéreis com rosca até a obtenção de 3,0 mL do conteúdo salivar mínimo, para execução das análises salivares e microbiológicas. (KLOCK & KRASSE, 1977).

A Velocidade do Fluxo Salivar foi medida de acordo com KRASSE (1988), calculando-se a razão entre o volume total de saliva produzido e o intervalo de tempo de secreção em minutos (mL/min.), conforme mostra a Tabela II.

TABELA II: Interpretação da Velocidade de Fluxo Salivar

<i>Quantidade de Saliva (mL/min.)</i>	<i>Interpretação</i>
Abaixo de 0,1 mL/min.	Xerostomia
0,1 ─ 0,7	Acentuadamente diminuído
0,7 ─ 1,0	Baixo Fluxo Salivar
1,0 ─ 2,0	Fluxo Salivar Normal
Acima de 2,0 mL/min.	Alto Fluxo Salivar

Fonte: Bo Krasse (1988)

3.6 Determinação do pH salivar e Capacidade Tampão (CTS)

Em adição aos parâmetros estudados, mediu-se inicialmente o pH salivar antes de se determinar a Capacidade Tampão. Para tal procedimento, mediu-se o pH de 2,0 mL da saliva estimulada, através do eletrodo de pH Ingold e potenciômetro Orion 701A, previamente calibrados com padrões de pH 7,00 e 4,00. A Capacidade Tampão da saliva foi determinada com 0,5 mL de saliva coletada em tubos de ensaio, contendo 1,5 mL de HCL 5mM. Agitaram-se os tubos e, após 10 minutos, o pH foi medido pelo mesmo medidor de pH (ERICSSON, 1959). Os valores obtidos foram interpretados de acordo com a tabela abaixo:

TABELA III: Interpretação dos valores indicadores da Capacidade Tampão da saliva.

<i>pH</i>	<i>Valores</i>
pH 5 a 7	Capacidade Tampão Normal
pH 4 a 5	Valores Limites
pH <4	Capacidade Tampão Baixa

Fonte: Krasse (1988)

3.7 Processamento do Material

3.7.1 Homogeneização e Diluição

O restante dos tubos contendo saliva foram submetidos a 30 segundos de vibração em agitador de tubos (PHOENIX -AT-56), visando a obtenção de uma suspensão uniforme. Após este processo, a saliva foi diluída em séries decimais de 10^{-1} a 10^{-3} em Tampão Fosfato 0,05M pH 7,3 (SORENSEN ,1912).

3.7.2 Semeadura do Material

Para o cultivo de saliva, visando a obtenção de células leveduriformes, do gênero *Candida*, alíquotas de 25uL de saliva pura e de cada diluição foram inoculadas em placas de Petri, contendo meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, acrescido de 0,1 mg/mL de cloranfenicol (Quemicetina Succinato/Carlos Erba), e incubadas a 37° C por 2 a 4 dia (SANDVEN,1990).

4.8 Identificação das Células Leveduriformes

4.8.1 Morfologia Colonial

Após o crescimento das colônias com características de células leveduriformes, foi feita a contagem das UFC/mL do inóculo. A morfologia colonial característica desses microrganismos foi confirmada com o auxílio de lupa estereoscópica e, para as colônias distintas, foram feitos esfregaços, corados pelo método de Gram a fim de se conhecerem os tipos morfológicos das células.

As colônias, cujas características microscópicas apresentavam morfologia ovalada, coloração de Gram positivas e células gemulantes, foram classificadas como colônias sugestivas de *Candida*. Para a execução de uma identificação mais precisa, pelo menos 03 colônias de cada amostra, com características morfológicas macroscopicamente distintas, foram reinoculadas em Agar Malte a 2%. Após a incubação e crescimento, as culturas foram analisadas micro e macroscopicamente (características morfológicas e culturais) a fim de se confirmar a presença de células leveduriformes características. Posteriormente, as colônias em Agar Malte a 2% foram estocadas em geladeira a 4°C e mantidas até a identificação bioquímica das espécies.

3.8.2 Identificação das Espécies de Candida

Para o processo de identificação das espécies de leveduras amostradas, foram feitos os seguintes testes abaixo, conforme descrito por SANDVEN (1990).

A- Formação de Tubo Germinativo

B- Produção de clamidósporos /Hifas e Pseudohifas

C- Provas Bioquímicas

* *Fermentação de Carboidratos*

** *Assimilação de Carboidratos*

A- Formação de Tubo Germinativo

Para visualizar a formação do Tubo Germinativo microscopicamente, alguns procedimentos prévios foram realizados: a)- Preparação de cultura de 24 horas da amostra a ser testada b)- Inoculação de uma alçada da cultura em 0,5 mL de soro estéril de coelho. c)- Incubação da suspensão em B.M. (Banho-Maria) a 37°C de 2 a 3 horas. Neste período de incubação, uma gota da suspensão foi colocada sobre lâmina e lamínula

e examinada ao microscópio óptico. Para a verificação do tubo germinativo, observou-se um crescimento prolongado das células leveduriformes sem constrição da base da célula, caracterizando, portanto, a espécie de *Candida albicans*.

B- Produção de Clamidósporos/Hifas e Pseudohifas

Para a realização deste teste, foi utilizado o meio Agar Fubá Tween 80 (pH 5,6), de composição específica (ANEXO 3).

Após a dissolução do fubá em 800 mL de água destilada, a mistura permaneceu 01 hora em B.M., sendo posteriormente filtrada (Wathman nº40) a vácuo. O agar foi fundido com os 200 mL de água destilada restante, adicionando-se a esta mistura o filtrado de fubá e 10 ml de Tween 80. O meio foi autoclavado, resfriado e mantido em geladeira (-20°C). Concluída a preparação do meio, iniciou-se a prova, distribuindo-se o meio sobre uma lâmina de vidro no interior de uma placa de Petri. Sobre o meio, foi semeada uma única estria da amostra a ser identificada. Para promover a umidade relativa e evitar que o meio se ressecasse, manteve-se o material em câmara úmida (Placa de Petri), por 72 horas, em temperatura ambiente. Após este período, retirou-se a lâmina do conjunto e observaram-se, ao microscópio óptico, as estruturas características de clamidósporos, hifas e pseudohifas.

C- Provas Bioquímicas:

**** Fermentação de Carboidratos***

Para execução das provas bioquímicas, utilizou-se o meio de cultura Caldo Vermelho de Fenol (Difco). Após o preparo, o meio foi vertido em tubos de ensaio, adicionados de tubos tipo “Durhan” no seu interior. Os carboidratos (glicose, maltose, sacarose, lactose) foram preparados numa concentração de 1% , vertidos aos tubos e, posteriormente, autoclavados. Após o resfriamento, uma alçada da cultura pura de células leveduriformes de 24 horas foi inoculada ao Caldo com os respectivos açúcares. A interpretação da prova foi feita após 72 horas, observando-se a produção de ácido e gás através da viragem de pH e produção de gás dentro dos tubos de “Durhan”, respectivamente. Esta prova consiste em umas das etapas no processo de identificação das espécies de *Candida*.

*****Assimilação de Carboidratos***

Para a prova de assimilação de Carboidratos preparou-se um meio de composição definida (ANEXO 3).

O meio foi dissolvido em B.M., sendo a seguir autoclavado a 120°C por 20 minutos. Para a amostra ser identificada, foi realizada uma cultura de 24 hs em meio de Agar Sabouraud Dextrose. Em seguida, preparou-se uma suspensão da referida cultura em solução fisiológica estéril até atingir uma concentração equivalente ao tubo nº 10 da escala de "Mc Farlane". Posteriormente, adicionou-se 0,1 mL da suspensão sobre a placa de Petri esterilizada, contendo o meio previamente liquefeito e resfriado. Discos de papel de filtro esterilizados foram embebidos nas soluções de açúcares a 10% . Após a solidificação do meio para assimilação, os discos de filtros foram sobrepostos sobre o mesmo, e distribuídos regularmente. Após este procedimento realizou-se a incubação a 37°C por 72 hs. A leitura dos resultados foi feita após este período de tempo, observando-se a formação de um halo de assimilação de açúcar para prova positiva e ausência do mesmo na prova negativa.

A Tabela IV registra as características de comportamento das espécies de *Candida* frente às Provas de Identificação que serviram de base para a análise dos resultados, com ênfase na classificação desses microrganismos.

Tabela IV - Características bioquímicas, de microcultivo e formação de tubo germinativo de espécies do gênero *Candida*

ESPÉCIES DE <i>Candida</i>	FERMENTAÇÃO				ASSIMILAÇÃO					Tubo germ.	Clamid.	Pseudo ou Hifa verd.
	Glic.	Sac.	Malt.	Lact.	Glic.	Gal.	Sac.	Malt.	Lact.			
<i>C. albicans</i>	AG	A/-	AG	-	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>C. guilliermondii</i>	AG	A/AG	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>C. krusei</i>	AG	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. lipolytica</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. lusitaniae</i>	AG	AG	-/-	-/-	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	AG	-/-	-/-	-/-	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>C. kefyr</i>	AG	AG	-/-	AG	+	+	+	-	+	-	-	+
(<i>C. pseudotropicalis</i>)												
<i>C. rugosa</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	+	+	-	-	-	-	-	+
<i>C. stellatoidea</i> *	AG		AG	-/-	+	+	-	+	-	V	V	+
<i>C. tropicalis</i>	AG	AG	AG	-/-	+	+	+	+	-	-	V	+
<i>C. glabrata</i>	AG	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. famata</i>	AG(V)	-/-	-/-	AG(V)	+	+	+	+	+	-	-	-

* Considerada como uma variante de *C. albicans*

Baseado em SAMARANAYAKE e MacFARLANE, 1990 e SANDVEN, 1990

A = produção de ácido

G = produção de gás

V = variável (+ ou -)

3.9 Métodos de Análise Estatística

Os métodos estatísticos utilizados na análise dos dados obtidos pertenceram ao “pacote” estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Science), NORUSIS, (1992), consistindo nas seguintes etapas: Inicialmente, foi gerado um banco de dados no SPSS, introduzindo as variáveis de interesse e seus valores observados na amostra, possibilitando a realização de uma análise exploratória dos dados. Essa análise permitiu a determinação das distribuições de frequência, cruzamentos das variáveis, cálculo da média e desvio padrão de acordo com as características das variáveis. De posse dos dados obtidos, foram elaborados os gráficos e tabelas apresentados neste trabalho. Foram utilizados os testes de significância Qui-Quadrado (X^2) e o de “Kruskal-Wallis”, respeitando as condições pertinentes ao uso destes testes, ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Amostras da saliva de escolares foram coletadas, processadas, e o número de UFC/mL de células leveduriformes foi mensurado - assim como a identificação das espécies - em conjunto com a aquisição de dados bioquímicos, como Fluxo Salivar e Capacidade Tampão. Concomitantemente, obtiveram-se dados clínicos provenientes dos índices de cárie (CPOD, CPOS, ceo, ceos) com ênfase nas categorias sócio-econômicas.

Em relação ao número de indivíduos portadores de *Candida* e à respectiva porcentagem desses microrganismos por classes sócio-econômicas, a Tabela V apresenta os resultados dos 239 escolares, divididos em suas respectivas classes sócio-econômicas. Do total da amostra masculina (116), 28,4% dos indivíduos pertencem à classe sócio-econômica "B", e as demais classes sócio-econômicas apresentaram valores de 20,7%, 19%, 16,4% e 15,5%, para as classes E, D, A e C, respectivamente. Entretanto, com relação ao sexo feminino (123), pôde-se constatar que 23,6% foram representados por indivíduos pertencentes à classe sócio-econômica A, e as demais apresentaram percentuais de 22%, 21,1%, 17,9% e 15,4% para as classes sócio-econômicas B, D, C e E, respectivamente.

A presença de *Candida* foi constatada em 113 indivíduos, (47,3%) do total analisado, não havendo prevalência desse microrganismo

em nenhum dos sexos (Tabela V). Este dado foi confirmado pela análise estatística através do teste de Qui-Quadrado aplicado à tabela de contingência (*Candida* x Sexo), para testar a independência destas variáveis, mostrando que, para a amostra estudada, o resultado observado não foi estatisticamente significativo ao nível de 5%.

Tabela V. Distribuição e Frequência (UFC/mL) de *Candida* na saliva de crianças nas diferentes categorias sócio-econômicas.

		Sexo das crianças				Total	
		Masculino		Feminino			
		n	%	n	%	n	%
Classe Sócio-Econômica	"A"	19	16,4	29	23,6	48	20,1
	"B"	33	28,4	27	22,0	60	25,1
	"C"	18	15,5	22	17,9	40	16,7
	"D"	22	19,0	26	21,1	48	20,1
	"E"	24	20,7	19	15,4	43	18,0
	Total	116	100	123	100	239	100
<i>Candida</i>	Presença	55	47,4	58	47,2	113	47,3
	Ausência	61	52,6	65	52,8	126	52,7
	Total	116	100	123	100	239	100

A Tabela VI refere-se aos dados conjuntos obtidos da distribuição e frequência das crianças - por sexo - em associação com os valores de Fluxo salivar, Capacidade Tampão e UFC/mL de *Candida*. Constatou-se que 46,6% (111) indivíduos, 22,7% (54) e 26,1% (62) apresentaram valores de fluxo salivar de 0,1 a 0,7mL/min., 0,7 a 1,0 mL/min.

e 1,0 a 2,0 mL/min. respectivamente, sendo que somente 4,6% demonstraram valores acima de 2,0 mL/min.. Pôde-se verificar também que a frequência de crianças xerostômicas foi nula em toda a amostragem. Nos resultados obtidos para Capacidade Tampão, verificou-se que 47,7% (112) crianças analisadas, apresentaram valores considerados normais de pH, ou seja, pH entre 5 e 7, sendo que 37,4% (88) apresentaram valores limites de pH entre 4 e 5.

Os resultados demonstrados na Tabela VI revelam ainda que, entre os indivíduos que apresentaram *Candida*, 20,1% (48) demonstraram valores de UFC/mL > 400, - considerados acentuados - 15,9% (38) apresentaram valores de UFC/mL de *Candida* < 100 e 11,3% (27) valores de UFC/mL de 100 a 400, sendo que em 52,7% (126) não se detectou esse microrganismo na saliva.

Tabela VI - Distribuição conjunta dos valores (UFC/mL) de *Candida*, Capacidade Tampão e Fluxo Salivar em escolares de diferentes categorias sócio-econômicas, dependentes do sexo.

			Sexo das crianças				Total	
			Masculino		Feminino			
			n	%	n	%	n	%
Fluxo salivar	0,1—0,7	Acent. Dim.	50	43,1	61	50,0	111	46,6
	0,7—1,0	Baixo	24	20,7	30	24,6	54	22,7
	1,0—2,0	Normal	35	30,2	27	22,1	62	26,1
	>2,0	Alto	7	6,0	4	3,3	11	4,6
	Total		116	100	122	100	238	100
Capacidade Tampão	>4	Baixa	14	12,3	21	17,4	35	14,9
	4—5	Valores Limites	34	29,8	54	44,6	88	37,4
	5—7	Normal	66	57,9	46	38,0	112	47,7
	Total		114	100	121	100	235	100
UFC/mL <i>Candida</i>	Zero		61	52,6	65	52,8	126	52,7
	0,0—100		18	15,5	20	16,3	38	15,9
	100—400		17	14,7	10	8,1	27	11,3
	> 400		20	17,2	28	22,8	48	20,1
	Total		116	100	123	100	239	100

A Tabela VII apresenta os dados obtidos da distribuição e frequência do número de UFC/mL de *Candida*, em associação com os valores de Fluxo Salivar e Capacidade Tampão, independentemente do sexo. Pôde-se constatar que 49,6% (56) eram portadores de *Candida* na saliva e possuíam Fluxo Salivar acentuadamente diminuído (0,1 - 0,7 mL/min.). Para os indivíduos que apresentaram valores acima de 2 mL/min. (alto), observou-se que apenas 3,5% (4) continham esse microrganismo.

Tabela VII - Distribuição conjunta dos valores de UFC/mL de *Candida*, Capacidade Tampão e Fluxo Salivar, em escolares de diferentes categorias sócio-econômicas, independente do sexo.

			<i>Candida</i>				Total			
			Presença		Ausência		n		%	
			n	%	n	%				
Fluxo salivar	0,1—0,7	Acent. Dim.	56	49,6	55	44,0	111	46,6		
	0,7—1,0	Baixo	28	24,8	26	20,8	54	22,7		
	1,0—2,0	Normal	25	22,1	37	29,6	62	26,1		
	>2,0	Alto	4	3,5	7	5,6	11	4,6		
	Total		113	100	125	100	238	100		
Capacidade Tampão	>4	Baixa	22	19,8	13	10,5	35	14,9		
	4—5	Valores Limites	43	38,7	45	36,3	88	37,4		
	5—7	Normal	46	41,4	66	53,2	112	47,7		
	Total		111	100	124	100	235	100		
UFC/mL <i>Candida</i>	Zero		-	-	126	100	126	52,7		
	0,0—100		38	33,6	-	-	38	15,9		
	100—400		27	23,9	-	-	27	11,3		
	> 400		48	42,5	-	-	48	20,1		
	Total		113	100	126	100	239	100		

A Figura 1 expressa o percentual de indivíduos portadores de *Candida*, em relação às categorias sócio-econômicas de (A - E), no total de amostras analisadas. Pôde-se constatar um aumento no percentual de indivíduos portadores de *Candida* na classe sócio-econômica "C". A análise estatística demonstrou, no entanto, que o teste de Qui-Quadrado aplicado à

tabela de contingência (*Candida* x Classe Social) mostrou não significância ao nível de 5%, indicando que a presença de *Candida* independe da classe sócio-econômica.

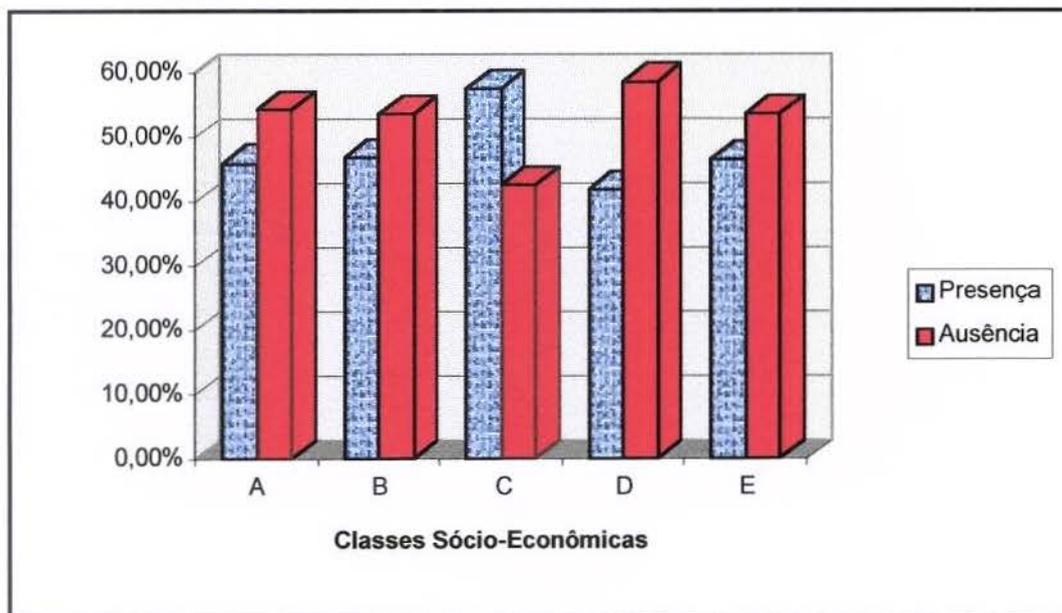


Fig.1 - Distribuição de *Candida* em relação às classes sócio-econômicas.

Os dados obtidos na identificação das espécies de *Candida*, com base nas categorias sócio-econômicas, acham-se expressos na Figura 2. Observou-se que, nos indivíduos que apresentaram *Candida*, a espécie predominante foi *Candida albicans* seguido de *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e *Candida parapsilosis*. Esta frequência também foi constatada em todos os níveis sócio-econômicos (Tabela VIII).

Tabela VIII. Distribuição das espécies de *Candida* segundo a classe sócio-econômica.

Classes Sociais	ESPÉCIE DE <i>Candida</i>							
	<i>albicans</i>		<i>tropicalis</i>		<i>krusei</i>		<i>parapsilosis</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%
A	22	19,5	1	33,3	1	50,0	—	—
B	28	24,8	—	—	—	—	1	100
C	23	20,4	1	33,3	1	50,0	—	—
D	20	17,7	—	—	—	—	—	—
E	20	17,7	1	33,3	—	—	—	—
Total	133	100	3	100	2	100	1	100

A Figura 2 demonstra que entre aqueles que, apresentaram *Candida* (47,3%), a espécie *C.albicans* apareceu isoladamente em 95% desses indivíduos. A associação de duas espécies distintas ocorreu em 5 % dos escolares, revelando a presença de *Candida albicans* com outras espécies, na seguinte frequência: *C. albicans* + *C. tropicalis* (2,52%), *C. albicans* + *C. krusei* (1,68%) e *Candida albicans* + *C. parapsilosis* (0,84%), em ordem decrescente de ocorrência.

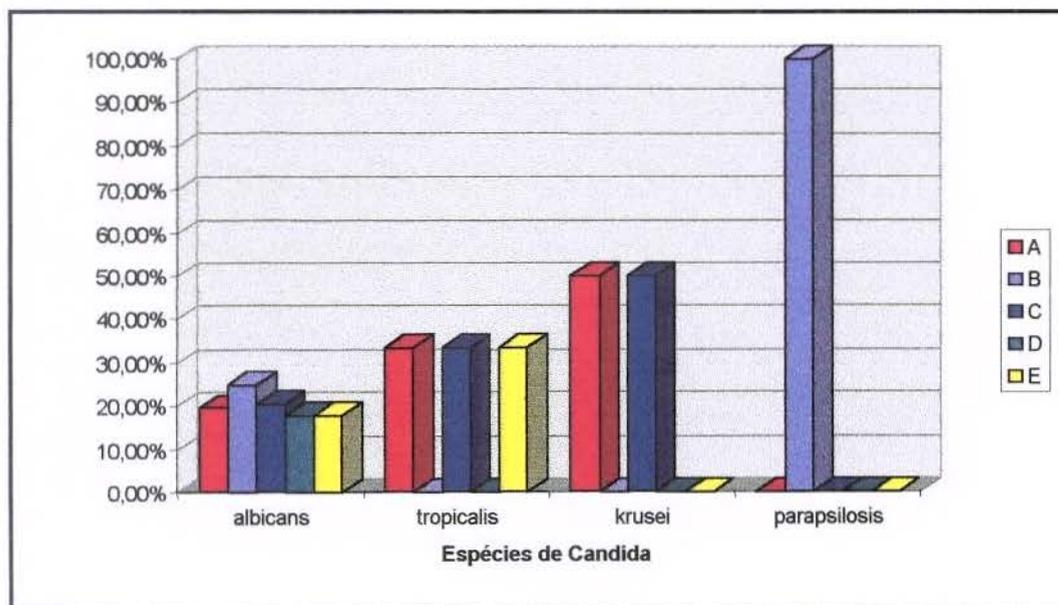


Fig.2 - Ocorrência das espécies de *Candida* nas diversas classes sócio-econômicas.

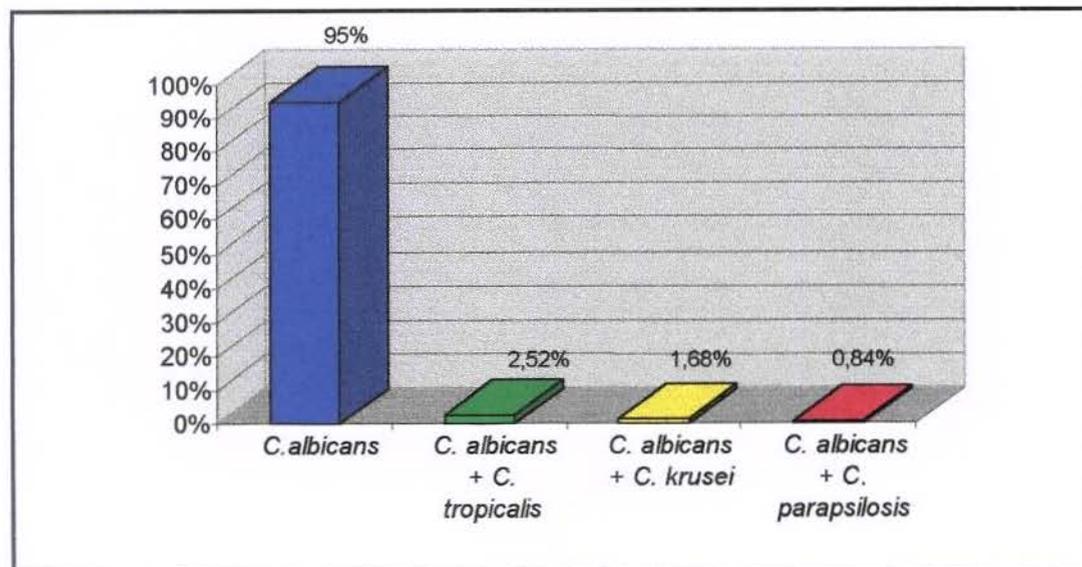


Fig.3- Incidência de *Candida albicans* em associação com outras espécies no total de amostras analisadas.

A Tabela IX expressa os resultados obtidos nos índices de cárie (CPOD, CPOS, ceo, ceos), com base nas categorias sócio-econômicas. As maiores médias foram encontradas nas classes E e D, apresentando valores crescentes nas classes de A a E, respectivamente. O teste de Kruskal-Wallis, aplicado às variáveis CPOD, ceo, CPOS, ceos, individualmente, foi significativo ao nível de 5%, evidenciando as diferenças entre as categorias sócio-econômicas analisadas.

Tabela IX - Média dos índices de cárie por categorias sócio-econômicas.

Classe Social	CPOD		ceo		CPOS		ceos	
	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>
"A"	0,48	1,05	2,63	2,89	0,65	1,59	4,77	6,58
"B"	0,50	1,00	2,57	2,55	0,63	1,35	4,92	6,50
"C"	0,63	1,05	2,63	2,98	0,88	1,94	6,40	10,93
"D"	1,02	1,42	4,38	4,80	1,27	2,04	8,10	8,72
"E"	1,07	1,45	3,91	3,82	1,14	1,60	9,81	12,23

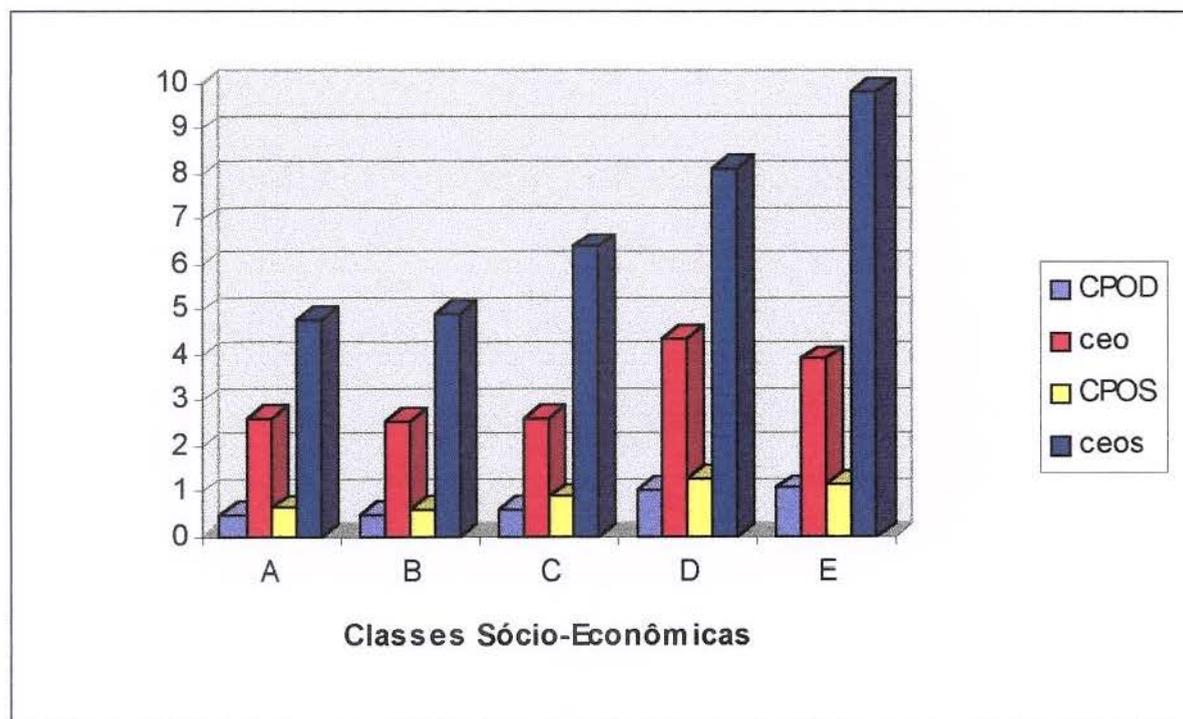


Fig.4 - Índices de cárie nas respectivas classes sócio-econômicas.

As Figuras de 5 a 9 apresentam os valores obtidos - por superfície - dos dentes decíduos mais acometidos por cárie. Os dados obtidos revelam que os dentes 54 e 55, ou seja, 1º e 2º molares decíduos superiores direito sofreram uma variação nos percentuais de cárie, na superfície oclusal. Os valores tenderam a 0% nos dentes 54 da classe A e a 23% nos mesmos dentes em indivíduos pertencentes à classe E. O dente 55 (2º molar direito) apresentou um índice superior a 4 % nas classes sociais A e B e superiores a 25% em C, D e E. Os 1º e 2º molares decíduos superiores esquerdo (64 e 65), com relação à cárie na superfície oclusal, apresentaram percentuais variados no dente 64, acima de 2% para as classes A, B e C, e acima de 15% para as classes D e E. O dente 65 tendeu

a 0% na classe sócio-econômica A , acima de 12% para as classes B e C e valores superiores a 25% em D e E.

Nos molares decíduos inferiores esquerdo, os valores constatados para o dente 74 foram superiores a 10% nas superfícies oclusais nas classes A e B e superiores a 15% em C, D e E. Nos 2º molares decíduos esquerdo foram superiores a 6% em A e B e superiores a 20% em C, D e E. A média de dentes acometidos por cárie nos 1º e 2º molares decíduos direito (84 e 85) foi superior a 10% na superfície oclusal, com exceção das superfícies lingual e distal do dente 85 da classe A que apresentaram um percentual de aproximadamente 8%. Observa-se em todos os gráficos a seguir que a superfície dental mais destruída pela cárie é indiscutivelmente a oclusal, considerando as diversas classes sócio-econômicas. Da mesma forma, os maiores índices CPO registrados foram encontrados nas classes de E, D, C, B e A respectivamente, em ordem decrescente.

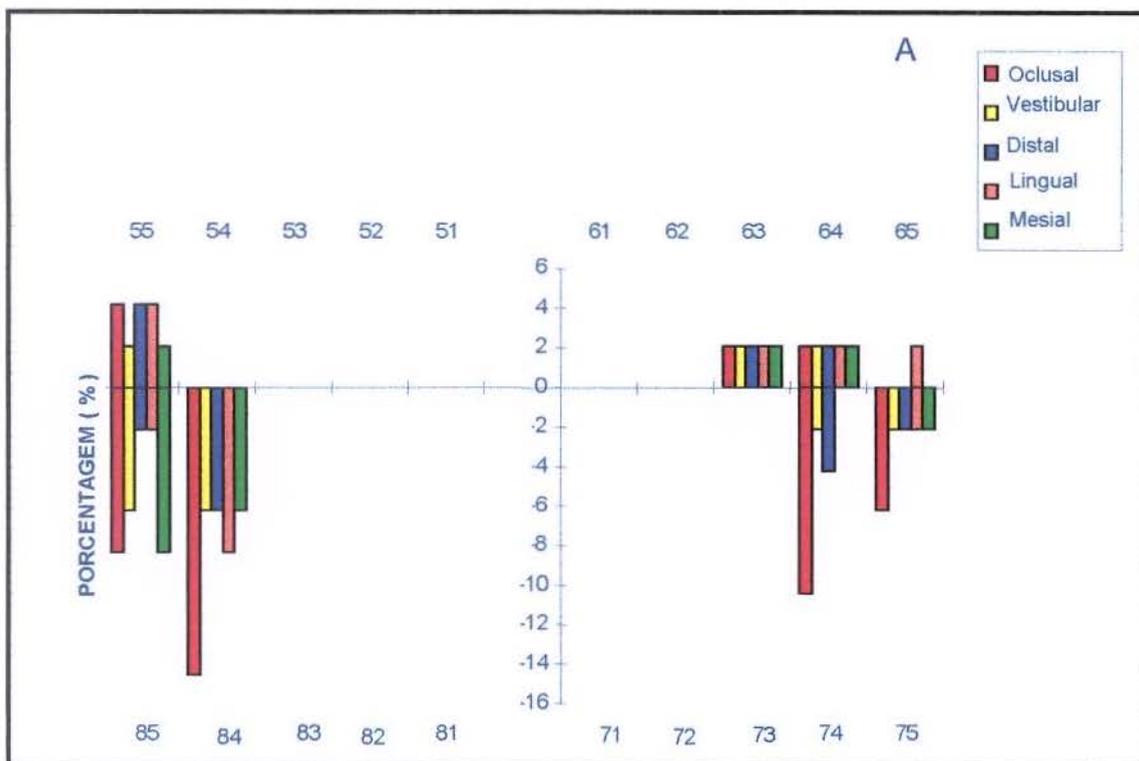


Fig. 5 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (A).

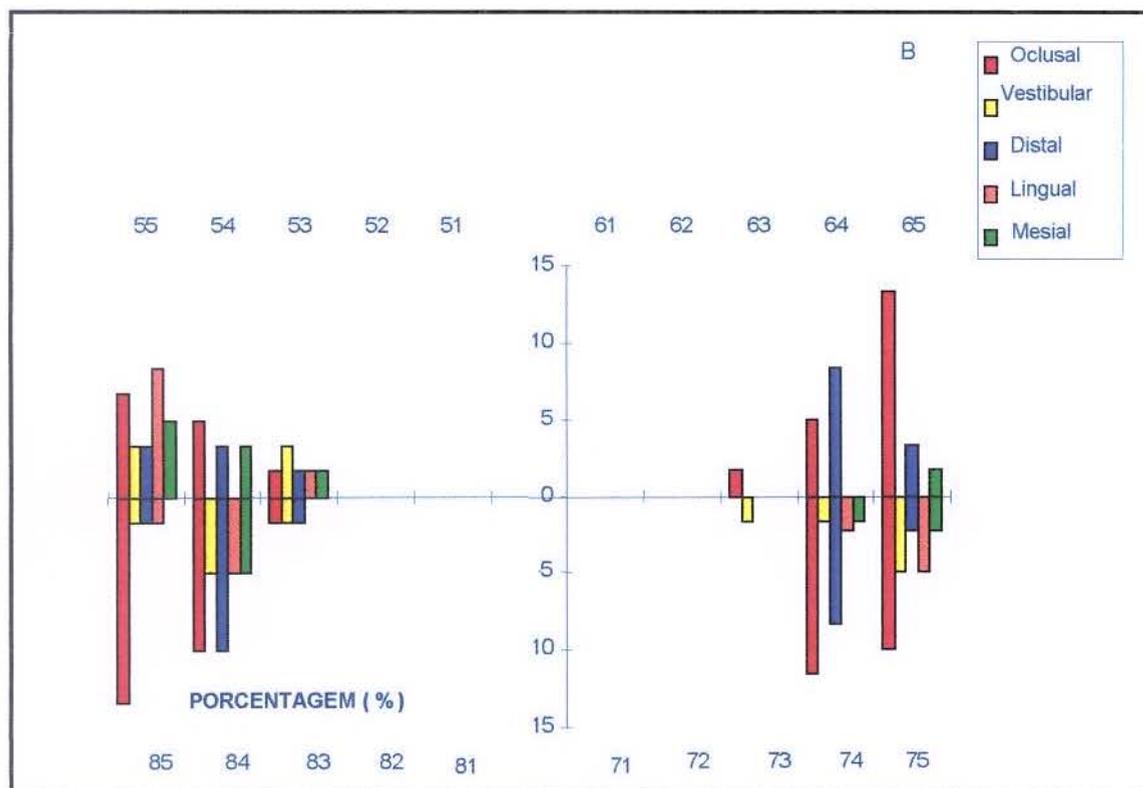


Fig. 6 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (B).

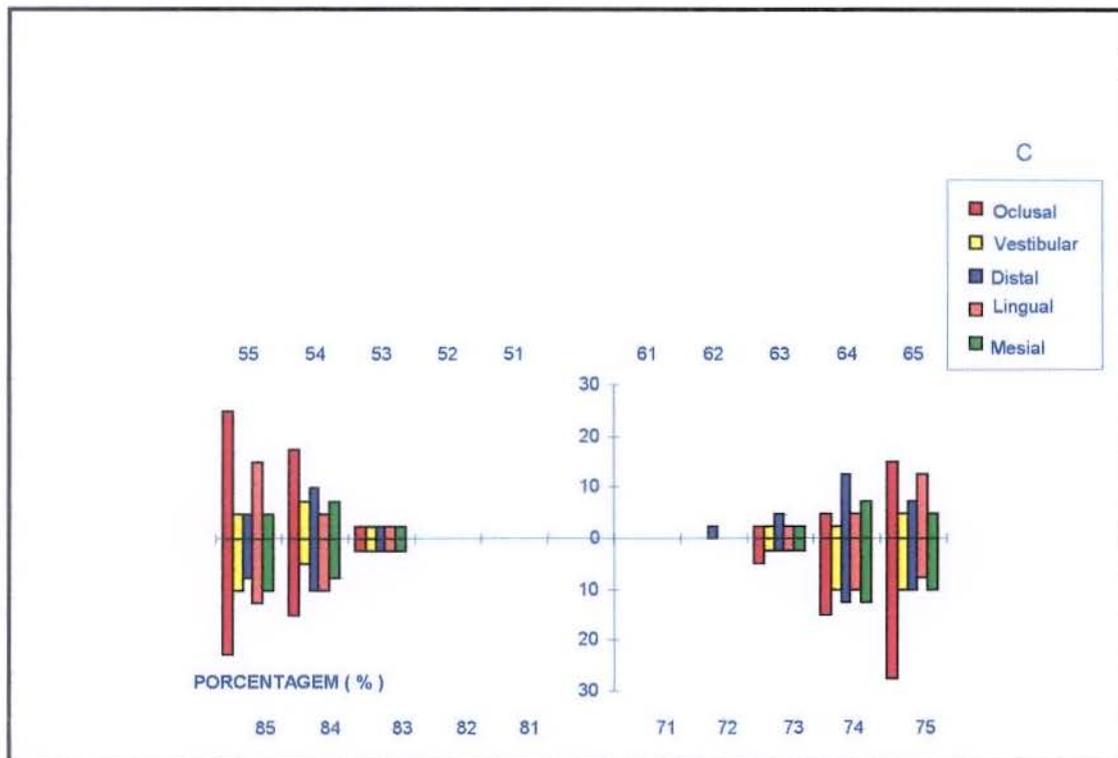


Fig. 7 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (C).

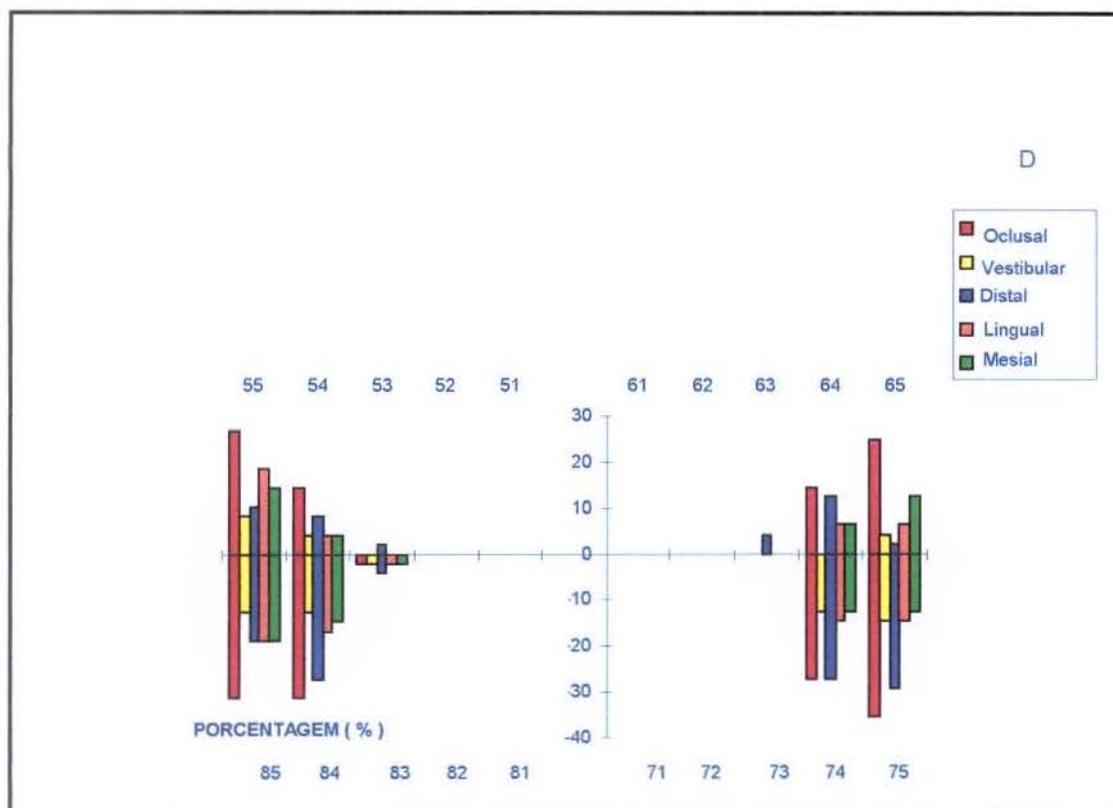


Fig.8 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (D).

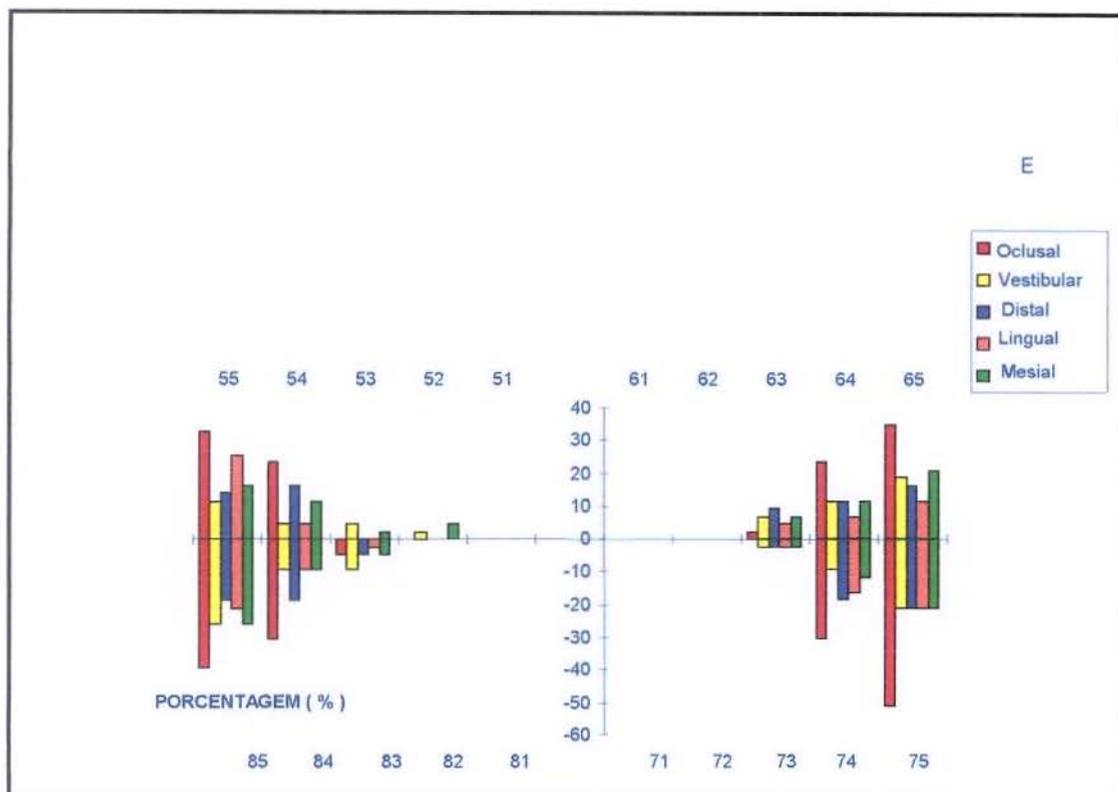


Fig.9 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças de nível sócio-econômico (E).

Na figura 10 estão expressos os valores obtidos das superfícies mais acometidas por cárie nos dentes permanentes. Os dados obtidos revelam (categorias sociais E e D) valores superiores a 10 % e 15% para o acometimento dos primeiros molares superiores (16 e 26) e valores superiores a 12% e 25% para os primeiros molares inferiores (36 e 46), sendo a superfície oclusal a mais acometida por cárie. Para as demais categorias (A, B e C) obtiveram-se valores superiores a 5% para os primeiros molares inferiores, sendo as superfícies oclusal e lingual nos

molares superiores, e superfícies oclusal e vestibular, nos primeiros molares inferiores, as mais acometidas por cárie.

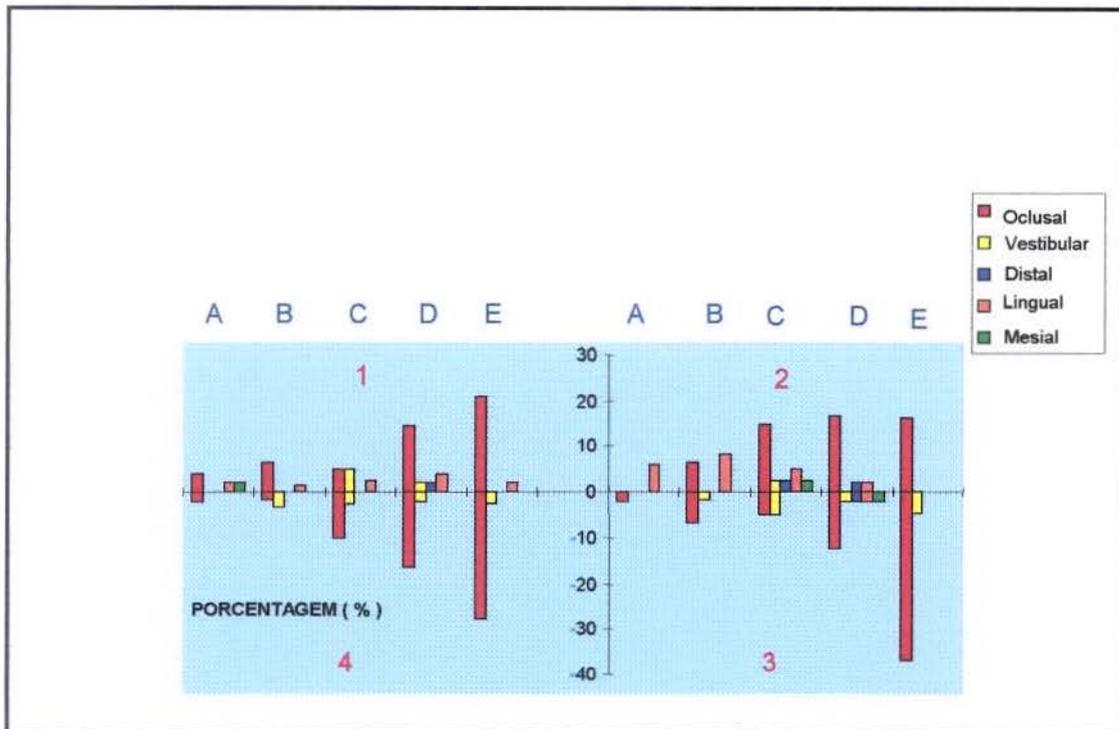


Fig. 10 - Distribuição Percentual de acometimento por lesões de cárie nas superfícies dentais dos 1º molares permanentes nas classes sócio-econômicas de A a E.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

As espécies e a frequência de leveduras do gênero *Candida* em escolares de diferentes classes sócio-econômicas, em associação com parâmetros clínicos e salivares, foram investigadas. Os dados obtidos, após análise da frequência de *Candida* sp na cavidade oral (Tab. V), revelam que 47,3% da amostra analisada apresentam o microrganismo, sendo que não ocorreu prevalência de *Candida* em nenhum dos sexos. Esses resultados estão de acordo com ODDS (1987), que relata a existência intra-oral de *Candida* em pelo menos 50% da população saudável, porém, menor que o obtido por JORGE *et al.* (1997), que encontrou um percentual de 41,55% para crianças saudáveis de 3 a 14 anos. As causas para a presença de *C.albicans* em portadores são não estão claramente definidas, segundo STENDERUP (1990). Em condições normais, fatores como dieta, higiene oral deficiente, alterações no fluxo salivar, desordens sistêmicas e locais parecem colaborar com o aparecimento desses microrganismos intra-oralmente.

Os resultados apresentados na tabela VI descrevem os valores obtidos através dos testes salivares de fluxo salivar, capacidade tampão, quantificação do número de UFC/mL de *Candida* e sua distribuição em relação ao sexo dos indivíduos. Os dados demonstram que os maiores

percentuais da amostra, em relação à velocidade de fluxo salivar, concentraram-se nos intervalos entre 0,1 a 0,7 mL/min., considerados acentuadamente diminuídos para ambos os sexos. No sexo feminino, a capacidade tampão apresentou maior percentual nos intervalos de pH de 4 a 5, enquanto no sexo masculino houve maior prevalência nos intervalos de 5 a 7, considerados normais, de acordo com KRASSE (1988). Pode-se constatar também a ocorrência de um decréscimo nas frequências de crianças com relação aos valores de fluxo salivar, ou seja, à medida que os valores dos intervalos de fluxo salivar aumentam, o número de crianças diminui proporcionalmente. Além disso, o percentual de crianças xerostômicas foi nulo em toda a amostragem. Esses dados concordam com os obtidos por KLOCK & KRASSE, (1977), os quais constataram que não houve diferença entre os parâmetros salivares de capacidade tampão e fluxo salivar, quando analisados em relação ao sexo.

O importante papel desempenhado pelo fluxo salivar como atenuante da cárie dentária foi investigado por (DAVENPORT,1990). Esse autor e outros são unânimes em afirmar que a ausência de saliva (xerostomia) pode resultar em um aumento pronunciado no risco de cárie (HUNTER,1988 e KRASSE,1988). De acordo com THYLSTRUP & FEJERSKOV (1995) não se pode prever a extensão com que inúmeras variáveis biológicas interagem com as outras na prevalência de cárie. Todavia, é óbvio que, se considerarmos uma variação extrema de um determinante, como por exemplo xerostomia, esta poderá influenciar

grandemente o risco de desenvolvimento da lesão cáriosa, ao passo que a mera hipossalivação (embora seja um fator contribuinte) não pode, por si só, ser responsabilizada, para explicar o aumento da doença cárie. Segundo GAVAZZI (1993), as correlações significativas observadas entre os fatores salivares e microbiológicos com o incremento de cárie, levadas a efeito com escolares de Piracicaba, submetidos ou não a programas preventivos, não permite incluí-los como previsores do desenvolvimento de cáries, tendo em vista a não consistência do fenômeno. Essas informações, quando analisadas em conjunto, indicam a importância da interação de todas as outras variáveis como previsores do incremento futuro de cárie.

O número de UFC/mL de leveduras do gênero *Candida* (Tabela VI) demonstrou maior frequência entre os valores maiores de 400 UFC/mL, considerados acentuados, segundo PIENIHÄKKINEN (1988), observando-se estes valores similarmente em ambos os sexos. Nossos resultados estão em desacordo com LACAZ (1980), que relata maior frequência de *Candida* no sexo feminino. No entanto, devem-se ressaltar os fatores predisponentes que contribuem para esta variabilidade e provavelmente a faixa etária estudada que não foi a mesma quando comparada.

Nas últimas décadas, a associação entre valores de UFC/mL de *Candida* e algumas patologias da cavidade bucal têm sido investigadas. De acordo com PIENIHÄKKINEN (1988), indivíduos com 400UFC/mL de *Candida* na saliva, apresentam atividade de cárie acentuada. Considerando que o agente etiológico *C. albicans* é usualmente encontrado na maioria das

formas clínicas de candidíases e em algumas condições menos comuns, devemos ressaltar a prevalência de *C.albicans* e demais espécies deste gênero, como microrganismos que - em pequeno número - compõem o trato digestivo e regiões mucocutâneas normais do ser humano, sem, no entanto, estabelecer um elo patogênico. Da mesma forma, OLSEN & STENDERUP (1990) relacionam a presença de candidose crônica ou aguda em pacientes que possuem mais de 400 UFC/mL de *Candida*. Muito embora, em nossa amostragem, a maioria dos portadores de *Candida* apresentem valores de UFC/mL maiores que 400, não se observaram manifestações orais sugestivas de candidíases, pelo menos, no momento da obtenção dos dados. Tal fato também foi verificado por KOGA (1995), a qual não constatou qualquer relação clínica de candidose bucal em pacientes que apresentaram esta concentração de leveduras na saliva, ao quantificar a microbiota cariogênica e fúngica na saliva de respiradores bucais. Tais resultados aparentemente discordantes, sugerem que estudos dessa natureza necessitam, ainda, maiores investigações, onde se incluiriam amplas populações, diversificadas na sua origem, faixa etária, níveis sócio-econômicos, associados a fatores predisponentes ou não.

Os dados apresentados na Tabela VI correlacionam a presença de leveduras com parâmetros salivares, tais como fluxo salivar e capacidade tampão, nos quais pode se constatar, que indivíduos portadores de *Candida* e não portadores apresentam resultados semelhantes, ou seja, fluxo salivar acentuadamente diminuídos e valores normais de capacidade

tampão. Portanto, os parâmetros salivares analisados para esta população demonstraram não estar associados necessariamente, à ocorrência de *Candida* na cavidade bucal, ou aos valores desse microrganismo encontrado nas amostras.

Com relação à distribuição de *Candida* nas diversas categorias sócio-econômicas (A a E), a Figura 1 demonstra que o percentual de *Candida* na classe sócio-econômica C é ligeiramente superior às demais, porém não significante estatisticamente. Tais resultados sugerem – em princípio - que a presença de leveduras pode não se estabelecer por fatores sociais. A escassez de pesquisas dessa natureza, relacionadas à presença de leveduras nos diversos estratos sociais, em nosso país, de certa forma, limita maiores especulações a respeito.

A caracterização morfológica e bioquímica de leveduras do gênero *Candida*, de acordo com MEYER *et al.*(1984) e SANDVEN (1990), possibilitou a identificação de 293 cepas de leveduras do gênero *Candida*, distribuídas em espécies distintas, originadas da amostra de 239 escolares de diferentes categorias sócio-econômicas (A a E). A Tabela VIII e as Figuras 2 e 3 apresentam a distribuição dessas espécies de *Candida*, segundo essas categorias sócio-econômicas. Os dados obtidos demonstram que a maioria das cepas isoladas foram identificadas como sendo *C.albicans* (95%). Essa frequência é superior à relatada por STENDERUP (1990), que constatou um percentual de 60 a 70% de *Candida albicans* isolada da cavidade oral. JORGE *et al.* (1987) relatam também a presença de

C. albicans em 73,75% dos indivíduos saudáveis. Segundo ARENDORF & WALKER (1979), a metodologia utilizada para coleta do material clínico da cavidade oral ("swab", bochechos, "imprint" e coleta de saliva) pode promover variações na frequência de isolamento desse microrganismo. No presente estudo, a espécie *C. albicans* prevaleceu em todas as classes sociais investigadas, o que sugere – em princípio – que estes valores podem ser superiores aos encontrados pelos autores citados. Com relação à frequência de isolamento de espécies múltiplas, a associação fúngica oral de *C. albicans* com as demais espécies do mesmo gênero ocorreu em 5% das amostras, revelando esta espécie em associação com *C. tropicalis*, *C. krusei*, e *C. parapsilosis*, respectivamente. Não foi constatado o aparecimento exclusivo de nenhuma dessas espécies nos indivíduos isoladamente. Este dado sugere, talvez, que a faixa etária estudada pode ser um fator restritor da diversidade dessas espécies, ao lado de outros fatores predisponentes previamente avaliados e excluídos da amostra, como, aparato ortodôntico, tratamento antibiótico e patologias sistêmicas. Esses dados parecem indicar, preliminarmente, que a associação das espécies mencionadas pode não ser determinada por mecanismos ou processos conhecidos, ocorrendo, portanto, - em princípio - ao acaso, ou dependente de fatores microbiológicos, tais como comensalismo, simbiose, sinergismo ou anfibiose. Com relação aos indivíduos multicolonizados, é impreciso afirmar, ainda, que haja predominância entre os sexos e as diversas categorias sociais, já

que os dados obtidos por serem pouco expressivos e por estarem ausentes na literatura disponível, não permitem maiores considerações.

Em relação aos parâmetros clínicos analisados, os resultados obtidos na Tabela IX expressam os dados obtidos dos índices de cárie (CPOD, CPOS, ceo e ceos) da população amostrada, com base nas diversas categorias sócio-econômicas, mostrando que os maiores índices de cárie foram registrados nas classes E e D, respectivamente, confirmados pela análise estatística. Diferenças na atividade cariogênica de populações diversificadas sócio-economicamente parece ser um fato que tem estado presente em investigações dessa natureza, sugerindo que medidas preventivas e profiláticas devem ser aplicadas no ambiente odontológico, e que hábitos alimentares saudáveis, acesso a tratamento odontológico e uma educação permanente nesse sentido não devem ser privilégio de uma classe social mais abastada, o que inquestionavelmente favorece uma saúde bucal mais adequada. Segundo FREIRE *et al.* (1996), as disparidades dos índices de cárie em crianças de diferentes classes sócio-econômicas, submetidas a tratamento particular, demonstram que a prevalência de cárie em creches públicas é superior à de em particulares. Enquanto crianças de creches públicas apresentam CPOD mais alto, decorrente de cáries não tratadas, nas creches privadas foi constatado maior número de dentes restaurados. De qualquer forma, os resultados indicam que desigualdades sociais existem, estão presentes em nosso país e podem influenciar, portanto, o desenvolvimento de cáries dentais nas diversas populações.

Esses dados demonstram - mais uma vez - a necessidade de programas de Saúde Pública que enfatizem medidas preventivas em Odontologia e não somente curativas.

SPOLIDORIO (1997), investigando os biotipos de estreptococos e lactobacilos em populações diversificadas, em associação com parâmetros clínicos e salivares, constatou que os indivíduos pertencentes a grupos de níveis sociais menos favorecidos são, frequentemente, os que apresentam maior número de microrganismos cariogênicos, confirmando as nossas considerações anteriores. A anamnese, realizada concomitantemente à coleta de dados clínicos e salivares de nossas amostras, mostra que os indivíduos pertencentes às classes sócio-econômicas menos favorecidas (D e E), apresentam higiene oral incompatível com níveis de saúde bucal satisfatória, inclusive com um menor número de escovações dentais diárias. A ausência de escovas dentais e dentifrícios, seja por fatores econômicos (menos prováveis) ou por ausência de uma educação permanente odontológica, conjuntamente com a ingestão frequente de carboidratos, acentuam o quadro, possibilitando o desenvolvimento de cáries dentais em maior proporção e num tempo mais curto. A utilização de escova familiar coletiva foi relatada por vários escolares, pertencentes as essas categorias, o que sugere a transmissibilidade dos microrganismos cariogênicos via escova dental, e, conseqüentemente, ampliação desse evento biológico.

Em 1995, GAVAZZI *et al.*, ao avaliarem o risco de cárie na dentição mista de escolares de Piracicaba, verificaram que o índice médio de cárie para os dentes decíduos (ceos) foi de 4,94 - considerados relativamente baixos - em escolares de 6 a 9 anos de idade em Piracicaba, SP. Os dados que obtivemos, no entanto, apresentam valores superiores para a população amostrada, apresentando índice ceos médio, equivalente a 6,82 . Os valores obtidos, também para o índice CPOD nas categorias sócio-econômicas de A a E, foram de 0,48 a 1,07, os quais são considerados de baixa prevalência à cárie, por PINTO (1989) e CHAVES (1987). Esses dados concordam com os dados recentemente obtidos por BASTING *et al.* (1997), os quais revelam índices CPOD médios de 0,66 em crianças de Piracicaba, na faixa etária de 6 a 7 anos, ou seja, a dentição permanente, recentemente erupcionada, apresenta-se pouco acometida por cárie . Em nossos estudos não foi possível estabelecer uma correlação positiva entre *C.albicans* e cárie dentária, pois os maiores índices de cárie CPOD, ocorreram nas categorias sócio-econômicas menos favorecidas D e E e a ocorrência de *Candida* apresentou-se regularmente distribuídas nas classes sócio-econômicas de A a E, portanto, não se pode afirmar que presença de leveduras na cavidade oral seja inerente à população que apresenta maiores índices de cárie.

CROSSNER & HOLM (1975) afirmam que o fator sócio econômico de uma determinada população, particularmente o nível educacional da família, influencia diretamente os hábitos alimentares e

higiênicos desses indivíduos e, conseqüentemente, a saúde bucal dos mesmos. Nos países do terceiro mundo, e em alguns países desenvolvidos, tem se verificado que as classes sócio-econômicas menos favorecidas são as mais acometidas pela cárie dental, fato esse observado também por VILLA & GUERRERO (1996), onde se constatou, com crianças de diferentes níveis sócio-econômicos, uma elevada prevalência de cárie naquelas que possuíam menor poder aquisitivo. Na Arábia Saudita, também se avaliou a prevalência de cárie em pré-escolares de diferentes classes sócio-econômicas, constatando-se índices superiores nos escolares de baixo nível sócio-econômico, AL-MOHAMMADI *et al.* (1997). VASCONCELLOS *et al.* (1993) e SCHOU & VITENBROEH (1995) constataram, ainda, que cárie dentária em crianças parece estar associada à classe social, quando esta é caracterizada pelo nível de ocupação dos pais. Assim sendo, tem sido demonstrada claramente, a associação existente entre cárie dentária e vários fatores como: hábito alimentar, flúor, dieta rica em sacarose, fatores sócio-econômicos e culturais. como também o acesso ao serviço odontológico, presente em várias investigações levadas a efeito por MAZENGO *et al.* (1996), HUNTER (1988), MAAS *et al.* (1993), MOREIRA *et al.* (1983), RODRIGUES (1989), KLEIN & PALMER (1937), KLOCK & KRASSE (1987), MÍLEN (1987), TREASURE & DEVER (1994), RUSSEL *et al.* (1991).

A *C. albicans* possui características acidogênicas e heterofermentativas, particularmente sob condições ricas em carboidratos, podendo participar desse modo, do processo de cárie dental

(SAMARANAYAKE *et al.*,1986). OLLILA *et al.* (1997) afirmam que lactobacilos orais e leveduras são resultado do número de sítios retentivos na cavidade oral. Tanto lactobacilos quanto as leveduras são considerados acidúricos e também desfavorável a saúde bucal, o que justificaria, talvez, uma participação efetiva desses microrganismos no processo cariogênico. A avaliação da presença desse microrganismo e *Lactobacillus* na cavidade oral tem sido objeto de estudos nessa área, no sentido de elucidar possíveis interações desses microrganismos e sua relação com a multifatorialidade desse evento na cavidade bucal, particularmente com ênfase no “Risco de Cárie”. Tal aspecto, embora não tenha sido objeto específico de nossos estudos, sugere ser um campo de atividade de pesquisa que deva ser ampliado, particularmente, como objeto de interesse científico próximo.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos na presente pesquisa permitem emitir as seguintes conclusões:

1. A ocorrência de *Candida* apresenta menor prevalência nas classes sócio-econômicas B e C, porém, este dado mostrou-se não significativo estatisticamente ao nível de 5%, o que permite concluir que a presença de *Candida* independe da classe sócio-econômica.
2. Entre as espécies de *Candida*, *C.albicans* é a que mais prevalece em todas as categorias sócio-econômicas.
3. Apenas 5% da amostra apresenta mais de uma espécie de *Candida* intraoralmente, revelando a presença de *C. albicans* associada à *C .tropicalis*, *C.parapsilosis* ou *C. krusei*.
4. Há uma correlação estatisticamente significativa entre categorias sócio-econômicas e índice de cárie, quando esses fatores são comparados.

5. As classes sócio-econômicas de A a E, quando comparadas, apresentam índices de cárie crescentes. Entretanto a amostra estudada é considerada de baixo risco de cárie.

6. Não há uma correlação positiva entre *Candida* e risco de cárie, quando esses fatores são comparados.

7. Na dentição decídua, os primeiros e segundos molares são os que apresentaram maiores índices de cárie. Na dentição permanente, a lesão de cárie é mais observada no primeiro molar inferior. Em ambas as dentições, a superfície oclusal é a mais comprometida por essa patologia.

ANEXOS

ANEXOS

1. Critério de Qualificação – Questionário

Definição das classes sociais

CRITÉRIOS DE QUALIFICAÇÃO

ÍTEM DE CONFORTO	NÃO TEM	SISTEMA DE PONTOS					
		TEM					
		1 mais	2	3	4	5	6 e
Televisor	0	2	4	6	8	10	12
Rádio	0	1	2	3	4	5	6
Banheiro	0	2	4	6	8	10	12
Automóvel	0	4	8	12	16	16	16
Empregada	0	6	12	18	24	24	24
Aspirador de pó	0	5	5	5	5	5	5
Máquina de lavar	0	2	2	2	2	2	2

GRAU DE INSTRUÇÃO DO CHEFE DE FAMÍLIA	Nº DE PONTOS	DEFINIÇÃO DAS CLASSES	
		CLASSES	PONTOS
até o primário incompleto	0	A	35 OU MAIS
até o ginasial incompleto	1	B	21 a 34
até o colegial incompleto	3	C	10 a 20
até o superior incompleto	5	D	5 a 9
com superior completo	10	E	até 4

2. Índices de Cárie

Critérios clínicos utilizados para obtenção dos índices CPOD

e ceod

<p>Cariado</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Esmalte socavado (penetração do explorador). -Sulcos ou fissuras, onde o explorador se prende, desde que haja opacidade do esmalte ou manchas de cárie ou ainda presença de tecido amolecido. -Penetração entre o dente e o explorador. -Restauração onde estejam presentes os critérios acima. -Em caso de dúvida entre cariado e extração indicada, o dente é considerado cariado.
<p>Obturado</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Quando o dente apresentar-se restaurado com material definitivo, desde que não se consiga inserir o mexplorador entre a restauração e o dente. -Em caso de dúvida entre obturado e cariado, o dente é considerado obturado.
<p>Extraído</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Quando o dente foi extraído devido à cárie dentária.
<p>Extração Indicada</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Quando o dente apresenta uma lesão que atingiu a câmara pulpar.
<p>Hígido</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Quando inexistir cárie ou restauração. -Em caso de dúvida entre hígido e cariado, o dente é considerado hígido.
<p>Exclusões</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Dentes extraídos por outras causas que não a cárie dental, fraturas, doença periodontal, correção ortodôntica.

3. Meios de Cultura

3.1 Meio Agar Fubá Tween 80:

- Fubá _____ 40 g
- Agar (Difco) _____ 20 g
- Tween 80 _____ 10 mL
- Água destilada _____ 1000mL

3.2 Meio para prova de Assimilação de Carboidratos:

- Sulfato de amônia $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_2]$ _____ 5,0 g
- Sulfato de magnésio (MgSO_4) _____ 0,5 g
- Fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) _____ 1,0 g
- Agar (Difco) _____ 20 g
- Água destilada _____ 1000 mL

APÊNDICES

APÊNDICE

1. Escolas

As escolas autorizadas pela Delegacia Regional de Ensino de Piracicaba para estudo e coleta de saliva das crianças foram as seguintes:

E.E.P.S.G. "Prof. Honorato Faustino"

E.E.P.S.G. "Prof. Elias de Melo Ayres"

E.E.P.G. "Prof. Francisca Elisa"

E.E.P.G. "Prof. Francisco Mariano da Costa"

E.E.P.G. "Prof. Carlos Soderó"

Colégio Alphaville

Liceu Colégio "Albert Einstein"

2. Ficha de Anamnese

Identificação:

Nome:.....

Idade:.....Sexo:.....

Endereço:.....

Telefone:.....

Avaliação Clínica:

É diabético:..... Sim ().....Não ().....

Esteve doente recentemente:.....Sim ().....Não ().....

O que apresentava?.....

Procurou auxílio médico?.....Sim ().....Não ().....

Esteve em ambiente hospitalar?.....

Toma algum medicamento diariamente?.....

Faz ou fez uso de algum antibiótico recentemente?

Qual?.....

Usa aparelho ortodôntico, fixo ou removível?.....

Fez tratamento odontológico recentemente?.....

Observações.....

SUMMARY

9. SUMMARY

Saliva samples of Brazilian schoolchildren aging from 6 to 8 years old belonging to different socio-economic classes, were analysed in an attempt to identify the species and frequency of *Candida* yeast cells in this population in correlation to other saliva parameters as buffer capacity, salivary flow and clinical investigations (decay index – DMFT, DMFS, dmft and dmfs). Two hundred and thirty nine children were analysed, distributed into five distinct socioeconomic categories (A to E). The concentrated saliva samples were preliminary analysed measuring salivary flow, pH and buffer capacity. Subsequently, the saliva samples were diluted in saline solution and inoculated on Sabouraud Dextrose Agar media. After the characteristic growth, counting cells (CFU/mL) and subsequent identification of the species by morphological, carbohydrate assimilation and fermentation tests, were performed. The results showed *Candida* totalizing 47,3% of the total samples. The major specie isolated was *C. albicans* in all socioeconomic categories followed by *C. tropicalis*, *C. Krusei* and *C. parapsilosis*. The saliva and clinical investigation parameters as salivary flow, buffer capacity and CFU/mL of *Candida* did not show any statistical correlation among these parameters. The tests of the buffer capacity and salivary flow showed normal values, prevailing in all of the

samples. There was no statistical significance between *Candida* and caries index in the population sampled. For the clinical investigation a positive correlation between caries index and socioeconomic categories was observed by the statistical test of "Kruskall – Wallis". The highest caries index (DMFT) was registered in the D and E socioeconomic categories, being 1,02 and 1,07 respectively. The occlusal surfaces followed by the deciduous inferior molars and the first permanent molars were the major teeth showing a high scores of dental decay.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências Bibliográficas*

1. AH MOHAMMADI, A.M., RUGG-GUNN, A.J. , BUTLER, T.J. Caries prevalence in relation to socioeconomic status of nursery school children in Goiânia-GO, Brazil. **Community Dent. oral Epidemiol**, Copenhagen, v.24, n.5, p.375-361, Oct. 1997.
2. ALLEN, C. M. Diagnosing e managing oral candidiasis. **J. Am. dent. Ass.**, Chicago, v.123, n.1, p.77-78, Jan. 1992.
3. ARENDORF, T.M., WALKER, D.M. Oral Candidal populations in health and disease. **Br. dent. J.**, London, v.147, n.10, p. 262-272, Nov. 1979.
4. _____, _____. The prevalence intraoral distribution of *Candida albicans* in man. **Arch oral Biol.**, Oxford, v.25, n.1, p.1-10, 1980.
5. _____. *et al.* Intra-oral yeast in indigent South African community. **J. dent. Ass. S. Afr.**, Cape Town, v. 41, n.6, p.327-330, June 1986.
6. _____. *et al.* Tobbaco smoking and denture wearing in oral candidal leucoplakia. **Br. Dent. J.**, London, v.155, n.10, p.340-343, Nov. 1983.
7. BARTELS, H. A., BLECHAMN, H. Survey of the yeast population in saliva and evaluation of some procedures for identification of *Candida albicans*. **J. dent Res.**, Washington, v.6, p.1386-1390, Nov./Dec. 1962.

* De acordo com a NBR 6023, de 1989; da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).
Abreviatura de periódicos de conformidade com o "World List of Periodicals Science".

8. BASTIAAN, R.J., READE, P.C. The prevalence of *Candida albicans* in the mouths of tobacco smokers with and oral mucous membrana keratoses. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.53, n.2, p.148-151, Feb. 1982.
9. BASU, R.; BASU, N., BANEYEE, A. K. Incidence of oral Candida in oral cavity. **Bull Calcutta School Tropical Med**, v.9, p.20-1, 1961
10. BASTING, R.T., PEREIRA, A.C., MENEGHIM, M.C. Evalutation of dental caries prevalence in students from Piracicaba, S.P., Brazil, after 25 years of fluoridation of the public water supply. **Revta. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v.41, n.4, p.287-292, out/dez, 1997.
11. BERDICEVSKY, I. *et al.* Oral Candidal in children. **Oral Surg Oral Med. Oral Pathol**, St. Louis,v.57, p.37-40, 1984.
12. BERTOLINI, P. **Contribuição ao estudo taxônomico de leveduras isoladas de canais radiculares de dentes humanos**. Tese de (Doutoramento - Microbiologia e Imunologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1964.
13. BONIFÁCIO-SOUZA, E.M. *et al.* Aspectos morfo-fisiológicos, fatores de virulência e sensibilidade a anti-fúngicos, fatores de virulência e sensibilidade a anti-fúngicos de amostras de *Candida albicans* sorotipo A e B, isoladas em São Paulo, Brasil. **Revta Microbiol.**, v.21, p.247-253, 1990.

14. BORG, M., RÜCHEL, R. Demonstration of fungal proteinase during phagocytosis of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **J. Med. Vet. Mycol.**, Abingdon, v.28, p.3-14, 1990.
15. BRUNEAU, S, GUINET, R. Rapid identification of medically important yeasts by electrophoretic protein patterns. **FEMS Microbiol**, Amsterdam, LT. 58 p. 329-334, 1989.
16. BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy and prophylaxis of oral yeast infection. **Acta odont. scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.61-69, Feb. 1990a.
17. _____. Histopathology, immunology and serology of oral yeasts infections. **Acta odont. scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.37-43, Feb. 1990b.
18. 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.**, Abingdon, v.26, n.1, p.49-56, Feb. 1988.
19. CARLILE, M.J. & WATKINSON, S.C. **The Fungi**, London: Academic Press Limited, 1994. 482p.
20. CHAVES, M.M. **Odontologia social**. 3. ed. Rio de Janeiro: Labor, 1977. p.29-93.

21. CLARIFKER, M. ***Contribuição ao estudo micológico do líquido bucal.***
Tese (Livre-docência em Microbiologia) - Faculdade de Odontologia,
Universidade do Recife, 1960.
22. COATES, E. *et al.* Oral conditions and their social impacts among HIV
dental patients. ***Aust. Dent. J.***, Saint Leonards, v.41, n.1, p.33-36, Feb.
1996.
23. CRISSEY, J.T., LANG,H., PARISH, L.C. ***Manual of medical mycology.***
Oxford: Blackwell Science, 1995. p.90-7.
24. CROSSNER, C.G., HOLM, A K. A descriptive and comparative study of the
oral health in 8-years-old Swedish children. ***Acta odont. scand***, Oslo,
v.33, n.3, p.135-142, 1975.
25. DAHLÉN, G. *et al.* A retrospective study of microbiology samples from oral
mucosal lesions. ***Oral Surg.***, Saint Louis, v.53, n.3, p. 250-255, Mar.
1982.
26. DARLING, M.R., ARENDORF,T.M., COLDREY, N.A. Effect of cannabis use
on oral candidal carriage. ***J. oral Path. Med.***, Copenhagen, v.19, n.7,
p.319-321, Aug. 1990.
27. DAVENPORT, E.S. Caries in preschool children. Actiology. ***J. Dent.***, Oxford,
n.18, v.6, p.300-3, 1990.

28. DAVENPORT, J.C. The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. ***Brit. Dent. J.***, London, v.130, n.4, p.151-156, Aug. 1970.
29. DENNIS, E. A Phospolipasis. IN: ***THE ENZYMES***. Ed. P.D. BOYER. New York, Academic Press, 1983, p.307-53.
30. EPSTEIN, J.B., PEARSALL, N.N., TRUELOVE, E.L. Quantitative relationship between *C.albicans* in saliva and the clinical status of humam subjects. ***J. clin. Microbiol.***, Washington, v.12, p.475-476,1980. *Apud Op. cit Ref. 45.*
31. ERICSSON, Y. Clinical investigation of the saliva buffering action. ***Acta Odontol. Scand.***, Oslo, v.17, p.131-65, 1959.
32. FODISCK, L.S., HANSEN, H.L. The reductase activity of various mouth organisms. ***J. Am. Dent. Ass.***, Chicago, v.24, p.14-45, 1937.
33. FREIRE, M.C.M., MELO, R.B., SILVA, S.A. Dental caries prevalence in relation to socioeconomic status of nursery school children in Goiânia – GO, Brazil. ***Commun Dent Oral Epidemiol***, Denmark, v.24, n.5, p.357-61, Oct., 1996.
34. FREITAS, H.R., BIRMAN, E.G. Candidose bucal: aspectos clínicos e terapêuticos. ***Revta Ass. paul. Cirurg. Dent.***, São Paulo, v.43, n.5, p.227-230, set./out. 1989.

35. GAVAZZI, J.C.C. **Avaliação do risco de cárie na dentição permanente de escolares de Piracicaba – SP, Submetidos ou não a programa preventivo.** Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, 1993. 76 p. (Tese de Doutorado).
36. _____, *et al.* Previsores de cárie em crianças brasileiras. **Revta. APCD**, São Paulo, v.48, n.1, p.40-6, 1995.
37. GLASS, R.L. The occurrence of yeasts in the saliva of childrens. **Acta odont. scand**, Oslo, v.43, n.6, p.381-387, Dec. 1985.
38. HOLMSTRUP, P., AXÉLL, T. Classification and manifestations of oral yeast infection. **Acta odont. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.57-59, Feb. 1990.
39. _____, BESSERMAN, M. Clinical, therapeutic and pathogenic aspects of chronic oral multiple candidosis. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.56, n.4, p.388-395, Oct. 1983.
40. HUNTER, P.B. Risk factors in dental caries. **Int. dent. J.**, Guildford, v.38, n.4, p.211-217, Dec. 1988.
41. JENKINS, W.M. *et al.* Nutricional deficiency in oral candidosis. **Int. J. oral Surg.**, Copenhagen, v.6, n.4, p.204-210, Aug. 1977.
42. JORGE, A.O.C. **Efeitos da sialoadenectomia na presença de Candida albicans na cavidade bucal de ratos.** Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba/ UNICAMP, 1991. 235 p. (Tese de Doutorado).

43. JORGE, A.O.C. **Presença de *Candida* e de anticorpos anti-*Candida* na cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica do adulto.** Tese (Livre-docência em Microbiologia) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Paulista "Julio de Mesquita Filho", 1995.
44. JORGE, A. O. C. *et al.* Influência do uso de aparelho ortodôntico sobre a presença de *Candida albicans* na cavidade bucal. **Revta Ass. Paul. Cirurg. Dent.**, São Paulo, v. 41, n.6, p.308-310, nov./dez. 1987.
45. _____, *et al.* Presença de *Candida* em indivíduos controle e pacientes com fatores predisponentes. In: ENCONTRO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 1997. **Anais ...** São Paulo: SBPqO, 1997. p.121.
46. _____, *et al.* Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Revta. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v.11, n.4, p.279-285, out/dez, 1997.
47. KLEIN, H., PALMER, C.E. Dental caries in American indian children. **Publ. Hlth Bull.**, Washington, v.239, p.1-54, Dec. 1937.

48. KLOCK, J. & KRASSE, B. Caries status and microbiol conditions in children in 1973 and 1984. **Scand Journal Dental Res.**, Copenhagen, v.95, p.13-7, 1987.
49. KLOCK, J. & KRASSE, B. Microbiol and salivary conditions in 9 to 12 years old children. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.85, p.56-63, 1977.
50. KOGA, C.Y. **Quantificação da microbiota cariogênica e fúngica e de anticorpos anti-Candida e anti-Streptococcus mutans na saliva de pacientes respiradores bucais.** Tese (Mestrado em Biologia e Patologia Buco-Dental) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1995. 121p.
51. _____. *et al.* Presença de *Candida albicans* e anticorpos anti-*Candida* na saliva de crianças normais e respiradores bucais. **Revta bras. Odont.**, Rio de Janeiro, v.50, n.6, p.8-11, nov./dez. 1993.
52. KRASSE, B. **Risco de cáries.** 2. ed. São Paulo: Quintessence, 1988.
53. LACAZ, C.S. **Candidíases.** São Paulo: E.P.U., 1980.
54. LAY, K.M., RUSSEL, C. *Candida* species and yeasts in mouth of infants from special care of maternity hospital. **Archs Dis. Childh.**, London, v.52, n.10, p.794-796, Oct. 1977.
55. LEHNER, T. Oral Candidosis. **Dent. Practnr dent. Rec.**, Bristol, v.17, n.6, p.209-216, Feb. 1967.

56. LOTUFO, M.A., BIRMAN, E.G., PAULA, C.R. The use of oral contraceptive and oral *Candida*. **Revta Odont. Univ. S Paulo**, São Paulo, v.9, n.3, p.167-170, jul./set. 1995.
57. LYNCH, P.D. Oral Candidiasis: history classification presentation. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.79, n.2, p.189-193, Aug. 1994.
58. MAAS, A.M.N., et al. Estudo comparativo de índice de cárie dentária e de hábitos de higiene oral entre escolares da rede pública e da rede privada. **Rev. Facul. Odontol.**, n. 02/03, 1993.
59. MAC DONALD, F. & ODDS, F.C. Inducible proteinase of *Candida albicans* in diagnostic serology and in pathogenesis of sistemic candidosis. **J.Med.Microbiol.**, Harlow, v.13, p.423-35,1980.
60. MAC DONALD, F. & ODDS, F.C. Virulence for mice of proteinase secreting strain of *Candida albicans* and proteinase deficient mutant. **J. gen. Microbiol.**, Cambridge, v.129, n.2, p.431-438, Feb. 1983.
61. MAC FARLANE, T.W., JHENARKA, S.J. The microbiology of queilite angular. **Br. dent. J.**, London, v.140, n.12, p.403-406, June 1976.
62. MARTIM, M.V., LAMB, D.J. Frequency of *Candida albicans* serotypes in patients with denture- induced stomatitis and in normal denture wearers. **J. clin. Path.**, London, v.35, n.8, p.888-891, Aug. 1982.

63. MAZENGO, M.C., TENOVUO, J, HAUSEN, H. Dental caries in relation to diet, saliva and cariogenic microorganisms in Tanzanians of selected groups. **Community Dent. oral Epidemiol**, Copenhagen, v.24, n.3, p.169-174, June 1996.
64. MCCULLOUGH, M.J., ROSS, B.C., READE, P.C. *Candida albicans*: a review of this history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes and methods of strain differentiation. **Int. J. oral maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v.25, n.2, p.136-144, Apr. 1996.
65. MEYER, W.G., AHERN, D.G., YARROW, D.G. The genus *Candida*. In: **The yeasts**: a taxonomic study. Amsterdam: Elsevier, 1984. p.584-844.
66. MILÉN, A. Role of social class in caries occurrence in primary teeth. **Int. J. Epidemiol.**, Oxford, v.16, n.2, p.252-256, June 1987.
67. MOREIRA, B.H.W, TUMANG, A.J., GUIMARÃES, L.O.C. Incidência de cárie dentária em escolares de Piracicaba, SP (após 6 e 9 anos de fluoretação da água de abastecimento público). **Revta bras. Odont.**, Rio de Janeiro, n.4, p.11-14, jul./ago. 1983.
68. NORUSIS, M.J. **Statistical Package for Social Science for Windows**: Base System User's guide. Release 5.0. Chicago: SPSS Inc., 1992.
69. ODDS, F.C. **Candida and Candidosis**. Baltimore: Leicester Univ. Pr., 1979. p.352.

70. ODDS, F.C. *Candida* infections: an overview. **Crit. Rev. Microbiol.**, v.15, n.1, p.1-5, 1987.
71. OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeasts infections. **Acta odont. scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.71-74, Feb. 1990.
72. OLIVER, D.E., SHILLITOE, E.J. Effects of smoking on the prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans*. **J. oral Path.**, Copenhagen, v.13, n.3, p.265-270, June 1984.
73. OLLILA, P. *et al.* Risk factors for colonization of salivary lactobacilli and *Candida* in children. **Acta odont. Scand.**, Oslo, v.55, n.1, p.9-13, Jan. 1997.
74. OLSEN, I. Oral adhesion of yeast. **Acta odont. scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.45-53, Feb. 1990.
75. OLSEN, I., STENDERUP, A. Clinical mycologic diagnosing of oral yeast infections. **Acta odont. scand.**, Oslo, v. 48, n.1, p.11-18, Feb. 1990.
76. PASSOS, G.M. **Processos carióticos micóticos: técnicas de defesa.** Tese (Cátedra de Clínica Odontológica) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Recife, 1961.

77. PIENIHÄKKINEN, K. Caries prediction through combined use of incipient caries lesions, salivary buffering capacity, lactobacilli and yeast counts in Finland. **Community Dent. oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.15, p.325-328, 1987a.
78. _____. Salivary lactobacilli and yeast in relation to caries increment. **Acta odont. scand.**, Oslo, v.46, n.1, p.57-62, Feb. 1988.
79. PIENIHÄKKINEN, K., SCHEININ, A., BANOCZY, J. Screening of caries in children through salivary lactobacilli and yeasts. **Scand. J. dent. Res.**, Copenhagen, v.95, n.5, p.397-404, Oct. 1987b.
80. PINTO, V.G. **Saúde bucal: odontologia social e preventiva**. 3. ed. São Paulo: Santos, 1989. p.129-138.
81. PIZZIRANI-KLEINER, A.A, AZEVEDO, J.L., FUNZARO, M.H.P. **Técnicas de genética formal e de biologia molecular de fungos filamentosos**. Piracicaba: ESALQ, 1994. p.73.
82. PRICE, M.F. & CAWSON, R. A Phospholipase activity in *Candida albicans*. **Sabouradia**, Oxfordshire, v.15, p.179-86,1977.
83. RIPPON, J.W. Candidiasis and the Pathogenic Yeasts. In:_____. **Medical Mycology**. The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes, Philadelphia: Saunders, 1982. Cap.20, p.484-531.

84. RODRIGUES, C.R.M.D. *et al.* Simplificação do índice de cárie nas idades de 4 a 6 e de 7 a 10 anos (dentição decídua e mista). **Revta odont. Univ. S Paulo**, São Paulo, v.3, n.4, p.254-259, out./dez., 1989.
85. ROTROSEN, D., CALDERONE, R.A., EDWARDS, J.E. Adherence of *Candida* species to host tissues and plastic surfaces. **Revta infect. Dis.**, Atlanta, v.8, n.1, p.73-85, Jan./Feb. 1986.
86. RÜCHEL, R. A. A variety of *Candida* proteinases and their possible targets of proteolytic attack in the host. **Zentralbl. Bakteriol. Hyg.**, Stuttgart, v.257, p.266-74, 1984.
87. _____. TEGELER, R., TROST, M. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. **J. Med. Vet. Mycol.**, Abingdon, v.20, n.8, p.233-244, Aug. 1982.
88. RUSSEL, C., LAY, K.M. Natural history of *Candida* species and yeast in the oral cavities of infants. **Archs oral Biol.**, Oxford, v.18, p. 957-962, 1973.
89. RUSSEL, J.I. *et al.* Comparisons between microbiological caries activity tests and one year caries increment in adolescents. **Caries Res.**, Basel, v.21, p.165, 1987. [Abstract,]
90. RUSSEL, J.I., *et al.* Prediction of caries increment in Scottish adolescents. **Community Dent. oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.19, n.2, p.74-77, Apr. 1991.

91. SAMARANAYAKE, L. P. Oral mycoses in HIV infection. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.73, n.2, p.171-180, Feb. 1992.
92. SAMARANAYAKE, L. P., MAC FARLANE, T.W. **Oral candidosis**. London: Wright, 1990. p.265.
93. _____, *et al.* Growth and acid production of *Candida* species in human saliva supplemented with glicose. **J. oral. Path.**, Copenhagen, v.15, n.5, p.251-254, May 1986.
94. SANDVEN, P. Laboratory identification and sensitivity testing yeast isolates. **Acta odont. scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.27-36, Feb. 1990.
95. SANTOS, E.A. *et al.* Yeast associated with flowers and fruits from semi-arid region on northeastern Brazil. **Revta. Microbiol**, São Paulo, v.27, n.1, p.33-40, jan./mar. 1996.
96. SANTOS, V.L., LONG, S.M. Avaliação do risco de cárie através da determinação do índice ceo-d e testes salivares (fluxo e capacidade tampão) em crianças com dentadura decídua na faixa etária de 3 a 6 anos de idade. **Revta ABO nac.**, São Paulo, v.2, n.4, p.253-261, ago./set. 1994.
97. SCHOU, L., VITENBROEK, D. Social and behavioral indicators of caries experience in 5-year-old children. **Community Dent oral Epidemiol**, Copenhagen, v.23, n.5, p.276-281, Oct. 1995.

98. SEELIG, M. Mechanisms by which antibiotics increase the incidence and severity of candidiasis and alter the immunological defenses. **Bact. Rev.**, Baltimore, v.30, p.442-59, 1966.
99. SHAFFNER, A. Fungal infections in primary care. **Schwueiz Rundsch. Med. Prax.**, Berne, v.85, n.40, p.1236-1239, Oct. 1996.
100. SHEPHERD, M.G., POULTER, R.T.M., SULLIVAN, P.A. *Candida albicans*: biology, genetics and pathogenicity. **A. Rev. Microbiol.**, Palo Alto, v..39, p.579-614, 1985.
101. SHIMIZU, M.T. Enzimas histolíticas produzidas por leveduras do gênero *Candida*. **Revta. Microbiol.**, São Paulo, v.19, n.4, p.442-445, out./dez. 1988.
102. 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.** Tese (Livre-docência) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Paulista "Julio de Mesquita Filho", 1990. 105p.
103. SHUTTLEWORTH, C.W., GIBBS, F.J. The aethiological significance of *Candida albicans* in chronic angular cheilitis and its treatment with nystatin. **Br. dent. J.**, London, v.108, p.354-357, 1960.

104. SILVEIRA, F.R.X., *et al.* *Candida albicans* isolates from the oral mucosa of health carriers. ***Revta Microbiol.***, São Paulo, v.26, n.4, p.279-283. out./dez. 1995.
105. _____, *et al.* Proteinase and phospholipase activity of *Candida albicans* isolated from oral mucosa of health carriers (smokers and non smokers). ***Revta Iberoam. Micol.***, v.10, p.105-108, 1993.
106. SIXOUX, J.L., DE MEDEIROS-BATISTA, O., BONNAURE-MALLET, M. Modification of the microflora of the oral cavity arising during immunosuppressive chemotherapy. ***Eur. J. Cancer B. oral Oncol.***, v.32B, n.5, p.306-310, Sept. 1996.
107. SLOTS, J., TAUBMAN, M.A. ***Contemporary oral microbiology and immunology.*** Saint Louis: Mosby Year Book. 1992, p. 649.
108. SORENSEN, E. *Ergebn. Physiol*, v.12, p.393, 1912. *Apud.* SOBER, H.A., ED. – ***Handbook of Biochemistry: selected data for molecular biology.*** Cleveland, The chemical Rubber, 1968, p.J 195-8.
109. SPOLIDORIO, D.M.P. ***Sorotipos de Streptococcus grupo mutans e avaliação de parâmetros clínicos e microbiológicos entre escolares de diferentes classes sócio-econômicas.*** Piracicaba, 1997. 131p./Tese de Doutorado – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

110. STENDERUP, A. Oral mycology. *Acta odont. scand.*, Oslo, v.48, n.1, p.3-10, Feb. 1990.
111. THYLSTRUP, A & FEJERSKOV, O. *Cariologia Clínica*, 2. Ed. São Paulo, Livraria Ed. Santos, 1995, 421p.
112. TOUYZ, L.Z.G., PETERS, E. Candidal infection of the tongue with nonspecific inflammation of the palate. *Oral Surg.*, Saint Louis, v.63, n.3, p.304-308, Mar. 1987.
113. TREASURE, E.T., DEVER, J.G. Relationship of caries with socioeconomic status in 14- year- old children from four community with different fluoride histories. *Community Dent. oral Epidemiol.*, Copenhagen, v.22, n.4, p.226-230, Aug. 1994.
114. VAN UDEN, N. & BUCKLEY, H.R. *Genus 2. Candida* Berkhout *Apud*. LODDER, J. IN: *The Yeasts*, Amsterdam North-Holland, 1970, p.893-1087.
115. VASCONCELLOS, M.C.C. *et al.* Experiência de cárie dentária em escolares: o papel da ocupação da mãe. *Revta Odont. Univ. S Paulo*, São Paulo, v.7, n.4, p.237-243, out./dez. 1993.
116. VILLA, A.E., GUERRERO, S. Caries experience and prevalence in children from different socio-economic status. *Community Dent. oral Epidemiol.*, Copenhagen, v.24, n.3, p.225-227, jun. 1996.

117. WILLIAMSON, J.J. A study of extent of variation in daily counts of *Candida albicans* in saliva. ***Aust. dent. J.***, Saint Leonards, v.17, n.2, p.106-109, Apr. 1972a.
118. WILLIAMSON, J.J. Diurnal variation of *Candida albicans* counts in saliva. ***Aust. dent. J.***, Saint Leonards, v.17, n.1, p.54-60, Feb. 1972b.
119. WITAKER, R.H. ***New Concepts of Kingdoms of Organisms Science***, Washington, v.163, p.150-160, 1989.