

**Diogo Luís Nogueira Alves**

***Candida* spp. e Prótese Dentária  
Removível: Interações de Relevância  
Clínica – Revisão Bibliográfica**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2009



**Diogo Luís Nogueira Alves**

***Candida* spp. e Prótese Dentária  
Removível: Interações de Relevância  
Clínica – Revisão Bibliográfica**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2009

***Candida* spp. e Prótese Dentária**  
**Removível: Interações de Relevância**  
**Clínica – Revisão Bibliográfica**

**Diogo Luís Nogueira Alves**

---

“Trabalho apresentado à Universidade  
Fernando Pessoa como parte dos requisitos  
para a obtenção do grau de licenciatura em  
Medicina Dentária.”

## Resumo

As causas de edentulismo (parcial ou total) são variadas. Os artefactos que substituem as peças dentárias denominam-se próteses, podendo ser fixas ou removíveis. Por questões culturais e essencialmente económicas, a maioria das próteses são removíveis. Com o envelhecimento da população verificado à escala mundial, sendo a perda dentária mais prevalente entre os idosos, a quantidade de próteses dentárias tende a aumentar. Uma microflora composta por bactérias essencialmente anaérobias e fungos coloniza a cavidade oral, que quando em equilíbrio permite trocas comensais entre microbiotas e hospedeiro. Este equilíbrio é mantido através da higiene oral e dos factores anti-microbianos presentes na saliva. O fungo que mais coloniza o corpo humano denomina-se *Candida* de Género e contém aproximadamente 150 espécies distintas já isoladas só da cavidade oral. Estabelece uma relação comensal com o hospedeiro, tornando-se patogénica quando o sistema imune está deprimido ou por algumas patologias sistémicas ou por alguns tratamentos (quimioterapia e radioterapia, por exemplo), infecções virais, toma de fármacos ou pela própria idade avançada do hospedeiro. A infecção oral mais comum em pacientes portadores de prótese removível é a estomatite protética, associada aos fungos do Género *Candida*, existindo ainda outras manifestações de candidíase oral. A presença de próteses dentárias aumenta a prevalência e a incidência de unidades formadoras de colónias (UFC's) de *Candida*, o que leva a que exista maior probabilidade de ocorrência de alguma das formas de candidíase oral. Neste sentido, uma revisão da bibliografia relativa ao dualismo prótese/candidíase, bem como de todas as características do paciente, das próteses removíveis e da *Candida* spp. são objectivos desta monografia, com principal destaque para os estudos de prevalência e incidência de espécies de *Candida* em pacientes portadores de prótese.

## Abstract

Edentulism (partial or total) is caused by several factors. The objects that substitute teeth are called prothesis, and can be fixed or removable. Due to cultural and essentially economical questions, the majority are removable. As the world wide population is ageing, and tooth loss being more prevalent among the elders, the amount of prosthesis tends to increase. A microflora of bacteria (especially anaerobical ones) and yeasts colonizes the oral cavity, when balanced, allows commensal changes with the host. This balance is maintained with oral hygiene and antibiotic factors of the saliva. The yeast that is more prevalent in the human body belongs to the Genus *Candida* and contains approximately 150 different species isolated from the oral cavity. It establishes a commensal relation with the host, becoming pathogenical when the immune system is depressed or due to some systemic diseases or treatments, viral infections, medicines intake or ageing of the host. The oral infection more common in denture wearers is the denture stomatitis, in close relation with *Candida* yeasts, despite the other manifestations of oral candidiasis. The presence of dentures increases the incidence and the prevalence of unity forming colonies (CFU's) of *Candida*, which increases the probability of appearance of oral candidiasis. Like that, a literature review about the dualism denture/candidiasis, as well as the patient's, the denture's and the *Candida* spp. characteristics are objectives of this work, with main concern about the studies of prevalence and incidence of *Candida* spp. in denture wearers.

## Dedicatória

“Posso ter defeitos, viver ansioso  
E ficar irritado algumas vezes  
Mas não esqueço que a minha vida  
É a maior empresa do mundo,  
E posso evitar que ela vá à falência.

Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver  
Apesar de todos os desafios,  
Incompreensões e períodos de crise.  
Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas  
E tornar-se um autor da própria história.  
É atravessar desertos fora de si,  
Mas ser capaz de encontrar um oásis  
No recôndito da sua alma.

É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.  
Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos.  
É saber falar de si mesmo.  
É ter coragem para ouvir um “não”.  
É ter segurança para receber uma crítica,  
Mesmo que injusta.

Pedras no caminho?  
Guardo todas, um dia vou construir um castelo...”

## **Fernando Pessoa**

Não poderia terminar o meu curso nesta *mui* nobre Universidade sem citar aquele que poderá ser o poema que melhor caracteriza a minha vida, o poeta-origem desta Instituição. Assim, para além de dedicar com todo o orgulho, humildade e sensação de dever cumprido, a todas as pessoas que de forma directa ou indirecta me fizeram ser aquilo que sou hoje, dedico esta etapa a todas as “pedras no caminho” que por maiores ou menores ainda não foram capazes de me desviar (totalmente) do meu percurso principal.

## Agradecimentos

Agradeço com todo o respeito, estima e consideração:

- À minha orientadora, Mestre Sandra Gavinha pelo facto de ter acreditado no meu trabalho enquanto aluno e por todos os ensinamentos e conhecimentos transmitidos, bem como por toda a disponibilidade e por todas as críticas construtivas – o meu muito obrigado!;
- À Prof<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristina Pina enquanto co-orientadora por todo o conhecimento, entusiasmo e dedicação;
- A todos os que me ensinaram e formaram: professores, funcionários, membros da Direcção;
- À minha família e aos meus poucos grandes amigos, as bases para que tudo fosse possível;
- Ao meu grande amigo, pai, irmão, companheiro e exemplo, Luís Castro, simplesmente por tudo o que foi, é e seguramente ainda será vivido.

## Índice

I. INTRODUÇÃO .....	1
II. DESENVOLVIMENTO .....	4
1. Perda Dentária .....	4
2. Edentulismo e Reabilitação Protética .....	5
3. Saliva .....	12
4. Formação do Biofilme Oral .....	15
5. Microflora Oral .....	19
6. <i>Candida</i> spp. ....	22
i. Classificação .....	23
ii. Espécies de <i>Candida</i> .....	23
iii. Estrutura do Biofilme de <i>Candida</i> .....	26
iv. Factores que Afectam a Formação do Biofilme de <i>Candida</i> .....	27
v. Genómica e Proteómica dos Biofilmes de <i>Candida</i> .....	31
vi. Resistência de <i>Candida</i> a Antifúngicos .....	31
7. Higiene Oral e Protética .....	33

8.	Condições da Mucosa Oral e Patologias Oraís Associadas a <i>Candida</i> spp.....	39
9.	Tratamentos para a Candidíase Oral.....	45
10.	Importância da Avaliação Microbiológica.....	47
	i. Métodos de Colheita de Amostras da Cavidade Oral para Investigação .....	47
	ii. Métodos de Identificação de <i>Candida</i> spp.....	48
11.	Revisão de Estudos sobre Interações de Relevância Clínica entre <i>Candida</i> spp. e Prótese Dentária Removível .....	52
III.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
IV.	DISCUSSÃO .....	57
V.	CONCLUSÃO .....	61
VI.	BIBLIOGRAFIA.....	62

## Índice de Imagens

Imagem 1 – Candidíase Pseudomembranosa .....	40
Imagem 2 – Candidíase Eritematosa .....	41
Imagem 3 – Candidíase Hiperplásica .....	42
Imagem 4 – Queilite Angular .....	43
Imagem 5 – Estomatite Protética.....	44
Imagem 6 – Glossite Rombóide Mediana .....	44

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Classificação taxonómica do Género *Candida*..... 23

Tabela 2 – Factores que influenciam o desenvolvimento do biofilme de *Candida* como descrito noutros estudos (NR – Não realizado; NM – não mencionado no artigo)..... 30

Tabela 3 – Técnicas de colheita da cavidade oral para o isolamento de *Candida* ..... 48

## Índice de Esquemas

Esquema 1 – Isolamento e identificação de <i>Candida</i> a partir de amostras da cavidade oral recolhidas por diferentes técnicas.....	51
--	----

## Abreviaturas

OMS – Organização Mundial de Saúde

PF – Prótese Fixa

PPR – Prótese Parcial Removível

PR – Prótese Removível

PT – Prótese Total

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

## I. INTRODUÇÃO

As causas de perda dentária são várias, no entanto, as mais comuns são a cárie dentária e a doença periodontal. Como factores adicionais, temos as patologias sistémicas que potenciam a doença periodontal, ainda que em menor percentagem, traumas, alguns fármacos e hábitos do próprio paciente (álcool, drogas de abuso, tabaco). Existem ainda questões como agenesias que vão de unitárias a totais (anodontia), que podem ocorrer aleatoriamente ou associadas a síndromes, podendo ainda influir na quantificação do número de dentes presentes em boca (Dolan et al., 2001; Müller et al., 2007).

Para a perda dentária, a única solução até hoje encontrada para o restabelecimento da função da(s) peça(s) dentária(s) é a prótese, seja removível ou fixa, dentossuportada ou implantossuportada, cada uma com vantagens e desvantagens sobejamente conhecidas. Como consequência da utilização destes artefactos, essencialmente das próteses removíveis, há uma necessária alteração da microflora oral, já que a presença de materiais porosos, a diminuição de superfícies dentárias, bem como a constante associação ao envelhecimento e suas consequências, levam a uma necessidade de adaptação do paciente e do seu próprio organismo. Como num paciente idoso existem factores predisponentes ao aparecimento de infecções por microorganismos oportunistas, como por exemplo a diminuição da capacidade do sistema imune, a hipossalivação, as patologias sistémicas e todos os fármacos que lhes estão associados, é dever do Médico Dentista estar atento a estas putativas alterações que trazem risco e desconforto aos seus pacientes, principalmente destas idades (Zitzmann & Marinello, 1999; da Silva et al., 2006; Bürgers et al., 2008; Zitzmann et al., 2007).

Nos anos 1970, a percentagem de edentulos totais rondava os 40%, sendo que desses, a percentagem de adultos entre os 65 e os 74 anos era de 80% e a de adultos com mais de 75 anos rondava os 90%. Actualmente, é possível observar uma diminuição da perda dentária nos países desenvolvidos para aproximadamente metade dessas percentagens, como se pode verificar pelos diversos estudos realizados. Como causas desta

diminuição estão a maior consciencialização das populações para a Saúde Oral (especialmente a melhoria dos hábitos de higiene oral), as melhorias nas técnicas e materiais odontológicos, o maior e melhor acesso a consultas de Medicina Dentária, bem como as alterações alimentares (McCord & Grant, 2000; Knezovic Zlataric et al., 2003; Zitzmann et al., 2008)

Uma microflora composta por bactérias essencialmente anaérobias e fungos coloniza a cavidade oral, que quando em equilíbrio permite trocas comensais entre microbiotas e hospedeiro. Este equilíbrio é mantido através da higiene oral e dos factores antimicrobianos presentes na saliva. Com as constantes alterações a níveis orais desde o nascimento até a idades adultas avançadas, a microflora também altera. No entanto, estas alterações de microflora apesar de serem fisiológicas, podem passar a nefastas devido a alguns fármacos e algumas condições patológicas sistémicas, resistindo bactérias e fungos oportunistas, com prejuízo para a homeostasia do hospedeiro. Assim, ficam criadas as condições óptimas para que exista cárie dentária e patologia periodontal (Bagg et al., 2006, p. 219-232; Sachdeo et al., 2008).

O fungo que mais coloniza o corpo humano denomina-se *Candida* de Género e contém aproximadamente 150 espécies distintas já isoladas só da cavidade oral, um dos locais do corpo humano que é frequentemente colonizado. Estabelece uma relação comensal com o hospedeiro, tornando-se patogénica quando o sistema imune está deprimido ou por algumas patologias sistémicas ou por alguns tratamentos (quimioterapia e radioterapia, por exemplo), infecções virais, toma de fármacos ou pela própria idade avançada do hospedeiro (Bagg et al., 2006, p. 219-232, 273-282; Seneviratne et al., 2008).

A infecção oral mais comum em pacientes portadores de prótese removível é a estomatite protética, associada aos fungos do Género *Candida*. No entanto, a candidíase oral divide-se em diversas formas, agudas e crónicas, desde mais ligeiras até mais graves. Pela bibliografia, a presença de próteses dentárias aumenta a prevalência e a incidência de unidades formadoras de colónias (UFC's) de *Candida*, o que leva a que exista maior probabilidade de ocorrência de alguma das formas de candidíase oral

(Ellepola & Samaranayake, 2000; Farah et al., 2000; Reichart et al., 2000; Ramage et al., 2004; Samaranayake et al., 2009).

A pesquisa bibliográfica foi realizada entre Maio de 2006 e Junho de 2009, na *Pubmed*, através das palavras-chave, tendo sido guardados todos os artigos em Inglês, Espanhol ou Português, com livre acesso através dos protocolos existentes entre a Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto e as revistas indexadas.

Como critério de inclusão dos artigos na revisão, a escolha centrou-se nos artigos desde o ano 2000, completando-se alguns temas com artigos de referência mais antigos.

As palavras-chave utilizadas foram: *Candida*, *denture wearers*, *prevalence*, *incidence*, *Candida albicans*, *oral microflora*, *dentures*, *removable partial dentures*, *oral rehabilitation*, *edentulism*, *oral microbiology*, *oral yeasts*, *denture stomatitis*, *oral candidiasis*.

O gosto pessoal pela reabilitação protética e pela microbiologia, associado à vontade de investigação estiveram na base da organização desta monografia, no sentido de que sirva para um futuro estudo (esperando-se que próximo) em que as variáveis relevantes desta exposição teórica sejam estudadas nos pacientes da Clínica Pedagógica de Medicina Dentária da Universidade Fernando Pessoa.

Neste sentido, uma revisão da bibliografia relativa ao dualismo prótese/candidíase, bem como de todas as características do paciente, das próteses removíveis e da *Candida* spp. são objectivos desta monografia, com principal destaque para os estudos de prevalência e incidência de espécies de *Candida* em pacientes portadores de prótese.

## II. DESENVOLVIMENTO

### 1. Perda Dentária

Tal como o declínio das actividades do quotidiano é uma consequência da diminuição das condições gerais de saúde, a perda dentária constitui o resultado para a maioria das patologias dentárias e suas complicações. A perda dentária pode originar impactos substanciais na qualidade de vida. São numerosas as razões que têm sido associadas à extracção dentária, como cárie, doença periodontal (essencialmente por acumulação de placa), motivos protéticos ou ortodónticos, trauma, dor (endodóntica e patologia apical), terceiros molares e a pedido dos pacientes (Richards et al., *cit. in* Müller et al., 2007). A maioria dos estudos indicam que a cárie é um motivo com maior ênfase que a doença periodontal para a extracção dentária. Haugejorden e os seus colaboradores (Haugejorden et al., *cit. in* Müller et al., 2007) afirmaram em 2003 que factores demográficos, comportamentais e atitudinais fazem pouca mas estatisticamente significativa variação na perda dentária. Aliás, Burt e os seus colaboradores (Burt et al., *cit. in* Müller et al., 2007), em 1990, afirmaram que se a perda total de dentes tem mais influência sócio-comportamental que relacionada com patologia, a perda parcial de dentes já não tem uma influência sócio-comportamental marcante, sendo as patologias orais o factor de risco mais proeminente. No entanto, Müller e os seus colaboradores, no seu estudo de 2007, concluíram que tanto as doenças orais (cárie e periodontite) como os factores sócio-económicos e comportamentais (por exemplo, fumar, cuidados com a saúde oral e ansiedade relativa aos tratamentos dentários) têm grande significância na perda dentária. Como adenda, referem ainda os autores que um grande número de variáveis estão associadas à saúde oral, não existindo consenso relativamente a qual das variáveis doença oral ou factores sócio-comportamentais tem maior importância como factor de risco para a perda dentária (Butler et al., 1996; Dolan et al., 2001; Müller et al., 2007).

## 2. Edentulismo e Reabilitação Protética

Durante algum tempo, sugeria-se na maioria dos livros de Prostodontia e era ensinado nas escolas de Medicina Dentária que todos os dentes perdidos deveriam ser reabilitados proteticamente. O motivo pelo qual se regiam os profissionais para defender esta ideologia era que o sistema estomatognático necessitava de uma dentição completa para se manter saudável e com função satisfatória. A ênfase dada a este conceito no ensino da Medicina Dentária era tão grande que muitos clínicos o consideravam um dogma inalterável. Passaram inúmeros anos até que este conceito fosse questionado por um pequeno grupo de prostodontistas arrojados que observaram que muitos pacientes estavam bastante satisfeitos com uma dentição reduzida e que não tinham qualquer vontade de se reabilitar proteticamente. Sendo os pacientes os principais interessados na melhoria da sua condição oral, o clínico não deve suplantar a vontade dos seus pacientes, mas sim educá-los no sentido do seu maior benefício. Aliás, foi um prostodontista Holandês, Käiser, que em 1981 começou uma campanha contra a restauração integral das arcadas dentárias, defendendo que arcadas com menos peças dentárias eram adequadas para a maioria dos pacientes sem que existisse risco do aparecimento de distúrbios funcionais ou temporomandibulares. Depois de uma grande série de estudos, o seu grupo concluiu que não existia significância clínica, na maior parte dos casos, entre pacientes com três a cinco unidades oclusais e os pacientes com as arcadas dentárias completas, no que concerne a variáveis como: capacidade mastigatória, sinais e sintomas de distúrbios temporomandibulares, migração dos dentes remanescentes, suporte periodontal e conforto oro-facial. Estes achados, bem como outras opiniões de relevo na prostodontia internacional, tiveram uma forte influência no plano de tratamento e na tomada de decisão, o que revela a importância que o conhecimento da perda dentária e as suas consequências têm na clínica dentária. O que pôs um definitivo ponto final na discussão destas duas correntes, foi o objectivo proposto em 1992 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que defende que aos 80 anos é necessária a existência de pelo menos 20 dentes naturais com unidades oclusais suficientes para evitar o tratamento protético (Dolan et al., 2001; Müller et al., 2007; Özhayat et al., 2007).

Naturalmente, num esforço para prevenir ou minorar algumas das diminuições de qualidade de vida relacionadas com a saúde oral, os dentistas recomendam tratamento com próteses fixas ou removíveis para essa perda dentária. No seu estudo, Dolan e seus colaboradores (2001), encontraram uma prevalência de 19% de edentulos totais numa amostra randomizada de 5254 pessoas. As variáveis estudadas com significância para o factor “ser edentulo total” foram: rendimento familiar inferior a 150% do nível de pobreza, ser de raça caucasiana, ser mais velho e ter uma auto-percepção de um estado geral de saúde baixo. O edentulismo é mais comum nas populações menos favorecidas, e está associada com: idades avançadas, rendimento baixo, baixo nível educacional, não ser casado, ter emprego menos prestigiante e pertencer a uma minoria (Marcus et al., *cit. in* Dolan et al., 2001). Desta forma, os dados encontrados pelos investigadores corroboraram a literatura. No entanto, tendo em conta que o estudo se centrava nas relações entre edentulismo e a raça, os dados encontrados contradisseram a literatura, já que os indivíduos de raça negra apresentaram sempre menores prevalências que os indivíduos de raça caucasiana, o que se revelou num sentido inesperado (Dolan et al., 2001; John et al., 2004).

De acordo com o Glossário de Termos Prostéticos (2005), uma restauração é o termo generalizado para qualquer material ou prótese que restaure ou substitua uma perda de estrutura dentária, dente ou tecido oral. As restaurações dentárias são fixas ou removíveis sendo denominadas por próteses fixas (PF) e próteses removíveis (PR). Estas últimas podem ser classificadas entre parciais (PPR) e totais (PT), dependendo se alguma ou nenhuma dentição é mantida. Geralmente, dentes naturais, raízes dentárias ou a combinação de ambos servem de suporte ou de retentor para restaurações dentárias (Zitzmann & Marinello, 1999; Zitzmann et al., 2007).

O principal motivo para um tratamento reconstrutivo é normalmente a subjectiva percepção do paciente sobre se necessita ou não de tratamento. Na maioria das vezes, esta percepção é baseada no grau de impacto que qualquer problema funcional, estético ou psicológico tem para cada paciente. Do ponto de vista de um profissional, a reabilitação de qualquer dente ausente (excepto os terceiros molares) ainda é razoável. Contudo, nas recentes décadas, ocorreu uma mudança do paradigma o que originou uma posição mais contida relativamente à definição de necessidade de tratamento. Ainda

assim, quando existe a necessidade de substituição de um dente numa arcada parcial ou totalmente edêntula, variados factores interferem na decisão entre PR ou PF. Estes incluem o estado intra e extra-oral, limitações económicas e a própria escolha do paciente. Por exemplo, se um considerável número de dentes necessita de reabilitação e se há deficiência das estruturas alveolares associadas, então uma PR pode correctamente ser indicada. Por outro lado, se os tecidos moles são frágeis e se existe um excessivo reflexo de vômito, isto pode interferir com a utilização de PR's o que torna a indicação para PF mais correcta. Antes da generalizada disponibilidade dos implantes dentários osteointegrados, um número limitado de dentes residuais era indicação para PR. Actualmente, o número de suportes e retentores pode ser aumentado com a colocação de implantes, o que facilita a escolha pelo tratamento mais desejável para um considerável número de situações. Se existe a necessidade de reabilitar um número considerável de dentes e as condições económicas são um factor limitante, uma PR pode ser favorecida relativamente à PF. Para além destes factores clínicos e económicos, outros factores influenciam a escolha entre PR e PF, tais como o nível de prática do clínico e/ou especialização, bem como as suas preferências pessoais (Zitzmann & Marinello, 1999; Zitzmann et al., 2007).

Pouco é sabido acerca da prevalência das reabilitações protéticas na população adulta da Europa. Foi hipotetizado que a incidência de PR's e PF's e a sua aplicação relativamente ao número de dentes ausentes na população varia de país para país. Outras hipóteses são que a idade e as condições sócio-económicas e sócio-demográficas influenciam a prevalência das reabilitações protéticas (Zitzmann & Marinello, 1999; John et al., 2004; Zitzmann et al., 2007).

Segundo McCord & Grant, no Reino Unido foram realizados alguns inquéritos entre 1968 e 1988 no sentido de avaliar o edentulismo e a prevalência de próteses na população adulta. Assim, os autores referiram que a percentagem de adultos edentulos diminuiu de 30% em 1978 para 21% em 1988. Paralelo a isto, o número de próteses totais diminuiu 50% entre 1970 e 1990. No estudo de Österberg e Carlsson (2007), na Suécia, é possível assistir a uma diminuição do edentulismo total em pacientes com mais de 70 anos ainda mais dramática, já que dos 51% de edentulos em 1971 e 75% a usarem PR, passaram para 7% em 2001, com 17% a utilizarem PR. Curioso é o facto de

relativamente às PF's se verificar um grande aumento, o que se deve a uma maior percepção da estética, como descrito pelos autores. Estes estudos vêm confirmar a ideia generalizada de que a perda dentária está a diminuir e, associada a isso, o número de próteses ou a dimensão das mesmas (de totais para parciais cada vez com menos dentes) a acompanhar. Ainda assim, é claro que apesar da percentagem de edentulos tenda a diminuir nos próximos anos, a confecção e a substituição de próteses nos actuais edentulos, constitui uma tarefa considerável para os clínicos do Reino Unido, já que a tendência é o envelhecimento da população. O mesmo refere Douglass e colaboradores (*cit in*. Österberg & Carlsson, 2007), mas relativamente aos Estados Unidos, em que a previsão para 2020 é a de um aumento da necessidade de próteses pelo envelhecimento da população assistido (McCord & Grant, 2000; McCord et al., *cit. in* McCord & Grant, 2000; Dolan et. al, 2001; Knezovic Zlataric et al., 2003; Österberg & Carlsson, 2007).

Zitzmann e os seus colaboradores, na Suíça, realizaram dois estudos (1992 e 2002) em que puderam comparar a evolução do estado oral da população desse país, com idades compreendidas entre os 15 e os 74 anos (no estudo de 1992) e sem limite de idade (no estudo de 2002). Apesar de o estudo ser realizado por resposta a questionário, o que pode induzir algum erro especialmente na contagem do número de dentes remanescentes, o estudo permitiu retirar algumas conclusões interessantes, quer a nível de dentes perdidos quer a nível de reabilitações protéticas. Relativamente aos dentes perdidos, os dados são de melhoria. A percentagem de pessoas que ainda mantinham todos os dentes aumentou de 40,8 para 42,5%, tendo a percentagem de pessoas que mantinham uma dentição funcionalmente adequada (dentição total ou até um máximo de 8 dentes perdidos) aumentado de 78,5% para 81,7%. Excluindo os terceiros molares, a média de dentes perdidos diminuiu de 4,8 para 3,5, tendo esta média descido abruptamente na faixa etária dos 65 aos 74 anos (de 15,4 para 10,4). Relativamente ao nível social, em todas as classes houve descida da média de dentes perdidos. Quanto à área geográfica, este valor diminuiu tanto nos habitantes de zonas rurais como urbanas, tendo descido mais notoriamente nos habitantes das zonas rurais (de 5,6 para 3,8). Relativamente ao edentulismo total, a percentagem diminuiu de 5,7 para 3,1%, sendo de referir as descidas abruptas nas faixas etárias dos 55 aos 64 anos (de 12,6 para 5,5%) e dos 65 aos 74 anos (de 26,8 para 13,8%). Assim, comparando os valores encontrados na faixa etária dos 45 aos 54 anos do ano 1992 com os valores encontrados para a faixa

etária dos 55 aos 64 anos do ano 2002 (hipotética e estatisticamente os mesmos), obtiveram que a estimada incidência de edentulismo por década na população estudada é de aproximadamente 1,1%. Sobre as reabilitações protéticas, para o grupo dos 15 aos 74 anos, a percentagem encontrada foi muito semelhante (de 49,4 para 49,5%). Contudo, o tipo de próteses variou com uma diminuição de 18,8 para 14,5% de PR's e o aumento das PF's de 30,7 para 35,0%. A diminuição nas PR's deveu-se principalmente, e segundo os autores, à marcada redução nas PT's, especialmente nos mais idosos, tendo a percentagem desse tipo de próteses diminuído de 43,6 para 26,9% na maxila e de 25,1 para 14,7% na mandíbula, tendo a prevalência de PR's num ou em ambos os maxilares descido de 10,8 para 9,2%. Acompanhando a diminuição do edentulismo total, a utilização de PT's em ambos os maxilares desceu 4,7 para os 2,9%. Relativamente à percentagem de PF's, esta manteve-se semelhante (de 13,4 para 13,2%), porém, a prevalência de coroas aumentou de 31,4% para 34,4% devido essencialmente ao aumento na faixa etária dos 65 aos 74 anos (de 38,0 para 47,0%) (Zitzmann et al., 2008).

Ainda assim, apesar da necessidade da utilização de algum tipo de reabilitação em pacientes com edentulismo, seja parcial ou total, a verdade é que só nos últimos anos é que começaram a aparecer artigos que questionam o grau de satisfação e utilização de próteses. Se no caso das PF's não faz sentido falar em utilização, já nas PR's, pelo próprio conceito de serem removíveis, é de grande importância inquirir os pacientes do seu uso. Aliás, pelos resultados encontrados em alguns estudos como o de Wright (*cit. in* Allen et al., 2008) e o de Jepson e colaboradores (*cit. in* Allen et al., 2008), cada vez faz mais sentido, já que estes autores encontraram 30 a 50% dos pacientes com PPR's confeccionadas que nunca ou muito raramente as utilizavam. Por outro lado, por alguns estudos logitudinais e transversais (sendo de referência o de Mojon et al., *cit. in* Allen et al., 2008), existe um aumento da incidência de cáries e de doença periodontal em pacientes com PPR's que realmente as utilizavam (Knezovic Zlataric et al., 2003; Nevalainen et al., 2004; Ellis et al., 2007; Allen et al., 2008; Inukai et al., 2008).

Um dos principais objectivos da reabilitação protética dos pacientes edentulos é melhorar a sua qualidade de vida restabelecendo a função oral. No entanto, o uso correcto das próteses bem como o cuidado a ter com estas, são de grande importância

para os pacientes, não só por motivos estéticos e funcionais, mas também pela saúde dos tecidos de suporte e pelo correcto acondicionamento das próprias próteses. Nesse sentido, os clínicos devem orientar e motivar os seus pacientes na manutenção das suas próteses. Aliás, Marchini e Cunha (*cit. in* Marchini et al., 2004) defendem que quando os pacientes edentulos totais são reabilitados com PT's, começam uma fundamental fase de cuidados orais e protéticos, sugerindo que as consultas de controlo devem incluir instruções para a adaptação inicial e cuidados com a prótese, bem como aconselhamento para a necessidade de procedimentos de rebasamento para melhor adaptação a curto-médio prazo e elucidação para a putativa necessidade de substituição das suas próteses após alguns anos de utilização (no máximo, a cada 5 anos, as próteses devem ser substituídas ou pelo menos modificadas). Mesmo assim, os pacientes queixam-se, geralmente, que não receberam instruções sobre como higienizar as suas próteses nem a sua própria boca edêntula, referindo ainda que não ter sido aconselhados para visitas periódicas de controlo da prótese e dos tecidos de suporte. Desta forma, as recomendações iniciais que o clínico deve dar aos seus pacientes devem incluir a necessidade de consultas periódicas de controlo e instruções e recomendações adicionais de higienização da cavidade oral e das próteses, bem como do próprio uso destas. Questões como a qualidade da superfície de contacto da prótese com os tecidos de suporte, as relações oclusais, a idade das próteses e a higiene das mesmas são de extrema importância, já que são os principais factores de risco para o aparecimento de lesões da mucosa oral associadas ao uso de próteses. Os hábitos incorrectos como utilização das próteses durante o sono e a ineficaz higienização das próteses estão significativamente associados à ocorrência de estomatite protética. Assim, de Castellucci Barbosa e os seus colaboradores, realizaram um estudo (2008) no Brasil em que inquiriram 150 pacientes portadores de PT's sobre os seus conhecimentos relativamente aos cuidados e à higiene das suas próteses. Alguns dos resultados obtidos foram surpreendentes. Dos pacientes inquiridos, 64% dormia com as próteses, não as retirando excepto para higienizá-las. O uso contínuo de próteses é mais frequentemente encontrado nos pacientes com estomatite protética (61%). O que agravou este facto foi que das próteses que não eram removidas, 87% eram usadas há mais de 5 anos. Quanto à higiene das próteses, 98% referiu realizá-la diariamente, o que está acordo com a maioria da bibliografia revista pelos autores. Destes, 62,7% higienizava as suas próteses três ou mais vezes por dia, sendo esse facto considerado satisfatório. No entanto, essa

frequência não significa que as próteses fossem bem higienizadas, já que 46,7% da amostra estudada tinha 80 ou mais anos, com algumas limitações como diminuição da acuidade visual e da destreza manual. Na resposta à pergunta relacionada com o tipo de higiene utilizado, a maioria referiu utilizar pasta dos dentes e escova dos dentes. Ainda assim, 8% da amostra apenas utilizava água como método de limpeza da prótese, valor inferior ao estudo de Ozcan e seus colaboradores (17,1%) (*cit. in* de Castellucci Barbosa et al., 2008). Quando questionaram a utilização de agentes desinfectantes, apenas 16,8% referiu realizá-la. A imersão das próteses em gluconato de clorhexidina demonstrou a capacidade de prevenção da colonização bacteriana e de inibir o desenvolvimento de inflamação dos tecidos de suporte, mas mesmo assim, apenas uma pessoa da amostra realizava este processo de desinfecção. No que concerne à utilização de peróxidos alcalinos, com as vantagens que apresentam, nenhum inquirido revelou realizá-la. A maioria dos portadores de PT's estudados utilizavam-nas há 5 ou mais anos. Quanto à utilização de adesivos protéticos, o seu propósito é melhorar a adaptação das próteses, potenciando a capacidade mastigatória e a confiança aos seus portadores, mas mesmo assim, apenas 1,3% dos entrevistados usavam algum tipo de adesivo protético; uma das desvantagens dos adesivos protéticos é o perigo de prolongar o uso de próteses mesmo que desajustadas. Os dois últimos factores surpreendentes são o facto de nenhum paciente ter conhecimento da existência de escovas próprias para as próteses, e que 44% acreditava que poderia utilizar as suas próteses por mais de 10 anos. Bae e seus colaboradores, comparando uma amostra de idosos Coreanos portadores de PT's com outra estatisticamente válida de idosos Coreanos portadores de PPR's, e avaliando as diferenças da qualidade de vida relacionada com a saúde oral, não encontraram diferenças significativas entre os dois grupos. Já McGrath e Bedi, no seu estudo de 2001, concluíram que em pacientes com grande perda dentária (presença de menos de 20 dentes), aqueles que apresentavam pior qualidade de vida relacionada com a saúde oral eram os que não estavam reabilitados proteticamente (Darwazeh et al., 2001; McGrath & Bedi, 2001; Marchini et al., 2004; Bae et al., 2006; de Castellucci Barbosa et al., 2008).

### 3. Saliva

A saliva tem três principais funções: digestão, facilitar a comunicação e a capacidade antimicrobiana protectora dos tecidos orais. É ainda importante para preparar a comida para a mastigação, para facilitar a deglutição do bolo alimentar e para a normal percepção dos sabores. As suas actividades relacionadas com a alimentação são respostas a estímulos olfactivos, gustativos e mastigatórios. A protecção ocorre devido a secreções basais na ausência de algum estímulo óbvio. O fluxo salivar proporciona uma forma efectiva de lubrificação e protecção aos tecidos moles e duros orais, especialmente protegendo os tecidos moles de dessecação, desgarre e ulceração. A saliva pode ainda potenciar a cicatrização dos tecidos moles, reduzindo o tempo de formação do coágulo e acelerando a contracção da ferida (Ikebe et al., 2005; Hibino et al., 2009).

Uma das outras propriedades da saliva é a eficiente capacidade tampão, regulando o pH da maioria das superfícies. O pH da saliva não estimulada situa-se entre os 6,75 e os 7,25, mantendo o pH oral em valores que rondam os 6,7. Esta propriedade é fundamental, já que uma diminuição do pH pela dieta e acção das bactérias da microflora oral, para além de desmineralizar o esmalte, induz a proliferação de bactérias que são acidófilas. Alterações do fluxo salivar afectam a concentração dos iões bicarbonato (principal responsável pela capacidade tampão da saliva), ureia, amónia, cálcio e fosfato, que têm acção fulcral no equilíbrio do fenómeno desmineralização/remineralização. A saliva contém igualmente diversos factores de crescimento, glicoproteínas, proteínas e minerais, dissolvendo, por outro lado, os produtos de excreção do metabolismo bacteriano, uns benéficos e outros nocivos para as restantes bactérias, sendo assim considerado como um veículo de equilíbrio do comensalismo. Outros factores protectores de grande importância antimicrobiana são encontrados na saliva, tais como as peroxidases e as mieloperoxidasas (inibem o metabolismo celular bacteriano), as lisozimas (capacidade de lise de algumas paredes celulares bacterianas), a lactoferrina (inibe alguns iões fundamentais para o crescimento

bacteriano), os péptidos ricos em histidina (inibem a *Candida albicans*) e imunoglobulinas (Bagg et al., 2006, p. 219-232; Tanaka et al., 2009).

A sensação de boca seca (xerostomia) pode ocorrer quando a taxa de fluxo salivar é menor que a soma das taxas de água absorvida e evaporada (Dawes, *cit. in* Ikebe et al., 2005). A subjectiva sensação de boca seca é geralmente associada a uma diminuição da taxa de fluxo salivar (hipossalivação) e com factores psicológicos. As principais causas de redução da taxa de fluxo salivar são a desidratação, a medicação (mais de 400 fármacos têm capacidade de reduzir o fluxo salivar, especialmente os antidepressivos, os antihistamínicos e os antihipertensivos), a radioterapia (à cabeça e pescoço) e algumas patologias específicas (como doenças auto-imunes que lesam as glândulas salivares, nomeadamente a Artrite Reumatóide, o Síndrome de Sjögren e o Lúpus Eritematoso Sistémico, ou outras patologias sistémicas como a doença de Alzheimer e a Esclerose Múltipla). Assim, a xerostomia é mais prevalente na população idosa devendo-se este facto à panóplia de fármacos diários que utilizam e a sua maior propensão a patologias. Mais ainda, a composição salivar varia com a idade. A mucina é um componente salivar visco-elástico que cobre todas as superfícies mucosas tendo múltiplas actividades na manutenção da saúde da mucosa oral, diminuindo significativamente a sua concentração na saliva com a idade. De uma forma geral, pessoas que referem sensação de boca seca são mais prováveis de ter sintomatologia dentária, sintomatologia oral e/ou alterações sensitivas. Algumas experiências clínicas sugerem que pacientes portadores de PT's com xerostomia têm mais lesões orais traumáticas pela presença da prótese do que os pacientes com normal fluxo salivar. Sendo uma condição crónica comum, a xerostomia afecta aproximadamente um quarto da população adulta e 40% dos idosos. A xerostomia inclui, para além da sensação de boca seca, lábios gretados e uma sede insaciável, chegando em casos mais graves a apresentar dor e sensação de boca ardente, com redução da capacidade falatória, mastigatória, gustatória, de deglutição e de dormir. A hipossalivação persistente pode levar a candidíase oral e, conseqüentemente, a um aumento de risco de cáries e de doença periodontal. Não existindo cura para a xerostomia, a atitude terapêutica é a manutenção e controlo a longo prazo, podendo ser aconselhada uma dieta apropriada e prescrita saliva artificial. O objectivo desta atitude terapêutica é diminuir o desconforto

do paciente e melhorar a sua qualidade de vida, que está seriamente comprometida (Ikebe et al., 2005; Baker et al., 2006; Ikebe et al., 2006; Arslan et al., 2008).

#### 4. Formação do Biofilme Oral

A cavidade oral apresenta numerosas superfícies ótimas para a colonização microbiana (dentes, sulco gengival, dorso da língua, palato duro e superfícies mucosas) e um veículo importante para o seu transporte que é a saliva. Estas superfícies são colonizadas por biofilmes de distintas complexidades microbianas, únicas para cada indivíduo. Mais ainda, a microflora oral vai sendo alterada com os fenómenos morfofisiológicos e fisiopatológicos que ocorrem ao longo da vida de cada indivíduo. No entanto, sob condições normais, a composição da microflora é equilibrada (Wårdth et al., 2004; Bagg et al., 2006, p. 219-232; Sachdeo et al., 2008).

Este facto deve-se às próprias características das bactérias e dos fungos da flora comensal, que necessitam de condições ótimas para a colonização e para a sua multiplicação. Por exemplo, *Streptococcus mutans* desaparece praticamente da cavidade oral quando na ausência de superfícies duras (dentes), reaparecendo, no entanto, caso sejam colocadas novas superfícies duras, sob a forma de próteses (Carlsson et al., *cit. in* Sachdeo et al., 2008; Theilade et al., *cit. in* Sachdeo et al., 2008; Loesche, *cit. in* Sachdeo et al., 2008; Emilson & Thorselius, *cit. in* Sachdeo et al., 2008). Já no caso das *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e das *Porphyromonas gingivalis*, alguns investigadores afirmam que estas desaparecem da cavidade oral na ausência de todos os dentes, não voltando a ser encontradas mesmo aquando da reabilitação com prótese (Danser et al., *cit. in* Sachdeo et al., 2008). No entanto, Sachdeo e os seus colaboradores, demonstraram a presença destas bactérias em pacientes edentulos reabilitados proteticamente, devendo-se este facto ao tipo e local de colheita de amostra para identificação microbiológica e/ou genética (Sachdeo et al., 2008).

A prostodontia é tida como uma das especialidades da Medicina Dentária que mais negligencia as medidas da infecção cruzada durante os procedimentos tanto clínicos como laboratoriais. Existem diversas formas de contaminação microbiológica nos laboratórios de prótese dentária, entre os quais se destacam os discos de polimento e o

próprio contacto com mãos contaminadas. Outras formas de contaminação ocorrem quando as próteses são enviadas para o laboratório para ajustes ou reparações, havendo a possibilidade (geralmente muito grande) de existir contaminação por microorganismos da cavidade oral do paciente (da Silva et al., 2006).

A capacidade de adesão dos microorganismos é influenciada por diferenças na rugosidades das superfícies das próteses, sendo que uma maior rugosidade favorece a colonização por microorganismos, contribuindo directa ou indirectamente para a lesão dos tecidos. A rugosidade superficial é determinada pela presença de poros e de outras irregularidades. Em Medicina Dentária, a presença de rugosidade na superfície de materiais protéticos interfere significativamente com as propriedades do material, podendo reduzir a sua durabilidade. As resinas acrílicas são vastamente utilizadas na confecção de próteses, sendo que o tema das rugosidades das diferentes resinas é bastante explorado. Alguns desinfetantes têm a capacidade de alterar a rugosidade destas após imersão, como o digluconato de clorhexidina e o hipoclorito de sódio (da Silva et al., 2006; Bürgers et al., 2008).

Já num estudo *in vitro* realizado por da Silva e colaboradores (2006), as conclusões foram interessantes. Assim, dos agentes desinfetantes testados (hipoclorito de sódio a 1%, digluconato de clorhexidina a 2%, gluteraldeído a 2%, vinagre a 100%, pastilhas de limpeza de próteses contendo perborato de sódio, e perborato de sódio a 3,8%), o digluconato de clorhexidina a 2% pareceu reduzir significativamente ( $p=0,045$ ) a rugosidade superficial da resina acrílica, facto igualmente verificado nas pastilhas de limpeza de prótese porém sem significado estatístico. Já os restantes, aumentaram a rugosidade superficial da resina acrílica, tendo significância estatística ( $p=0,032$ ) o aumento verificado na utilização do perborato de sódio a 3,8% (da Silva et al., 2006).

O uso de materiais de rebasamento mole é cada vez maior no sentido de proporcionar maior conforto aos portadores de prótese, sendo utilizados especialmente em pacientes que não conseguem tolerar o contacto com os materiais duros típicos das próteses (resinas acrílicas, na sua maioria). Estes pacientes apresentam, geralmente, uma irregular e muito reabsorvida crista alveolar, bem como um fino e não-resiliente tecido

mucoso. No entanto, este tipo de materiais de rebasamento mole são facilmente colonizados, e em profundidade, por *Candida* spp.. Recentemente, ficou demonstrado que o engolir ou o aspirar contínuo destes microorganismos da placa bacteriana da prótese, expõe os pacientes, particularmente os imunocomprometidos e os idosos mais medicados, a infecções inesperadas. Apesar dos desinfetantes químicos serem um método eficaz na prevenção da colonização e formação de placa, é igualmente descrito na bibliografia que o uso diário de desinfetantes de próteses pode afectar negativamente as propriedades físicas das resinas acrílicas das próteses e dos materiais de rebasamento mole. No que concerne a estes materiais de rebasamento, as propriedades físicas mais afectadas nesse uso continuado são a rugosidade superficial, as propriedades viscoelásticas e a cor. Na formação do biofilme de *Candida*, após o crescimento de grande número de colónias do Género referido, existe uma considerável produção de ácido por estas leveduras, que causa directa citotoxicidade às células do tecido mucoso oral, activa as proteinases ácidas e as fosfolipases produzidas igualmente por elas, favorecendo a sua adesão (Radford et al., 1999; Nikawa et al., 2000a; Nikawa et al., 2000b; Nikawa et al., 2003; Bulad et al., 2004; Thein et al., 2007).

No estudo realizado em 2003 por Nikawa e seus colaboradores, foi investigado o crescimento de *Candida* e a capacidade de formação de biofilme numa resina acrílica e em sete materiais de rebasamento mole comerciais (com amostras de cada termocicladas 0, 1000 e 10000 vezes, para conferir o efeito do envelhecimento verificado nas próteses), previamente imersos por 8 horas (condições semelhantes à imersão nocturna para desinfecção das próteses) em 3 tipos de desinfetantes comerciais de próteses, e em água destilada as restantes 16 horas, durante 180 dias; o grupo de controlo foi imerso em água destilada durante as 24 horas de cada um dos 180 dias. Após aplicação das leveduras em cada tipo de material a investigar, foi estudada a alteração de pH do meio, analisado o ATP (Adenosina Trifosfato) e a rugosidade superficial do material. Obtiveram que apesar de ligeiras alterações do pH do meio ocorrerem, não houve variação estatisticamente significativa entre os agentes de desinfecção e entre estes e os seus controlos, sugerindo os autores que o crescimento das leveduras é afectado pelo próprio material de rebasamento mole, mas não pelo agente desinfetante; os materiais de rebasamento mole, incluindo os seus componentes, inibem o crescimento, colonização e formação de biofilme das leveduras, quer ao nível

do crescimento inicial, quer ao nível da taxa de crescimento (Nikawa et al., 2000a; Nikawa et al., 2000b). Contudo, o efeito de envelhecimento provocado pelos termociclos reduz significativamente o efeito inibitório destes materiais, libertando os componentes não polimerizados dos mesmos, resultando num favorecimento da colonização fúngica; não encontraram diferença significativa relativa ao crescimento fúngico entre as várias combinações estudadas dos 3 desinfectantes para higiene das próteses com os sete tipos de materiais de rebasamento mole das próteses; a formação do biofilme fúngico nas superfícies imersas dos materiais estudados nos 3 desinfectantes dependeu da combinação entre material e desinfectante, sendo ainda assim sempre mais favorecida nos materiais imersos nos desinfectantes que nos seus controlos imersos em água destilada; na análise ao ATP (que traduz a quantidade de energia produzida pelo biofilme, podendo servir como critério de comparação) verificaram que os biofilmes apresentavam uma energia cinética muito superior aos de controlo; não encontraram correlação entre a rugosidade das próteses e a capacidade de produzir biofilme, e atribuíram este facto à capacidade do mecanismo de formação do biofilme produzir adesão e co-adesão através de mecanismos não-específicos como interações hídricas e electrostáticas (tal como concluíram Park et al., 2003 no seu estudo) e mecanismos específicos como interações dos receptores de adesina ou de integrina. Concluíram que a utilização de desinfectantes é fundamental, mas é necessário que os clínicos tenham em conta as propriedades dos materiais de rebasamento e adaptem o desinfectante a essas características (Nikawa et al., 2003).

## 5. Microflora Oral

A microflora oral é um dos ambientes ecológicos mais diversificados a nível microbiológico conhecidos no ser humano. Contém pelo menos 500 a 600 espécies diferentes cultiváveis, com provavelmente mais 50% de espécies que ainda não podem ser cultivadas pelos meios e técnicas laboratoriais existentes. Só a saliva, contém aproximadamente 100 milhões de microorganismos por mililitro. A microflora oral co-habita, normalmente, de uma forma harmoniosa com o hospedeiro, podendo esta harmonia ser perturbada pelas alterações do habitat. Exemplo disto é a existência de xerostomia e da utilização de antibióticos de largo espectro durante um largo período de tempo. Algumas bactérias e fungos comensais, nestas circunstâncias, podem alterar o seu comportamento tornando-se oportunistas, originando infecções nas mucosas e o aumento da prevalência de cárie e da doença periodontal. A maioria das bactérias encontradas na cavidade oral pode ser classificada como Gram-positivas (*Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Lactobacillus* spp., *Eubacterium* spp.) ou Gram-negativas (*Neisseria* spp., *Veillonella* spp., *Haemophilus* spp., *Eikenella* spp., *Capnocytophaga* spp., *Actinobacillus* spp., *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., Espiroquetas). Os *Streptococci* constituem a maior parte da microflora oral, tendo um papel importante na cárie dentária, infecções orais purulentas e endocardite bacteriana. Os métodos taxonómicos modernos permitiram a divisão em quatro grandes grupos, consoante as suas principais características: *mutans* (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*), *salivarius* (*S. salivarius*, *S. vestibularis*), *oralis* (*S. oralis*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. parasanguis*) e *anginosus* (*S. anginosus*, *S. intermedius*, *S. constellatus*). Algumas espécies de espiroquetas, protozoários e mycoplasmas também fazem parte da microflora normal, porém são de extremamente difícil cultivo. Outras bactérias como a *Escherichia coli* estão presentes de forma transitória nas cavidades orais saudáveis, podendo passar a colonizá-las em idosos e/ou em imunocomprometidos. Quanto aos fungos, a *Candida albicans* é o mais frequentemente isolado, com uma presença de aproximadamente de 40% de adultos assintomáticos. O número de colónias de *Candida* aumenta em imunocomprometidos, portadores de prótese e após tratamento com alguns tipos de antibióticos. Alguns vírus, como o

Epstein-Barr e o vírus herpético humano tipo 6, são frequentemente encontrados na saliva de indivíduos saudáveis (Bagg et al., 2006, p. 219-232, 273-282).

Relativamente à aquisição da microflora oral, esta começa através do contacto com a microflora vaginal das mães, já que a cavidade oral do feto é estéril, porém esses microorganismos não se estabelecem. O ambiente intra-oral é altamente selectivo para bactérias, e só algumas espécies são capazes de colonizar a cavidade oral do recém-nascido. Desde a primeira amamentação, os microorganismos são transferidos do ambiente circundante (saliva materna e pele da mãe e do pessoal médico e auxiliar), para o meio intra-oral. Nas 24 horas após o nascimento, as primeiras espécies começam-se a estabelecer. Os *Streptococci*, especialmente o *S. salivarius*, são geralmente os primeiros a colonizar a cavidade oral, já que se ligam às células epiteliais. Desta forma, começam a estabelecer uma comunidade microbiana pioneira, modificando o ambiente com a produção de produtos extracelulares, que potenciam as condições para o crescimento de outras espécies. Por exemplo, os *S. salivarius* produzem polímeros extracelulares a partir da sacarose, aos quais outras bactérias se podem aderir (como por exemplo os *Actinomyces* spp.). Este processo de sucessão e aumento da diversidade microbiana vai resultar na formação do biofilme da microflora oral. Quando a criança atinge o primeiro ano de vida, já com dentes erupcionados, as espécies predominantemente isoladas são: *Streptococcus* spp., *Neisseria* spp., *Veillonella* spp. e *Staphylococcus* spp.. Menos frequentemente, são isoladas espécies como *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Prevotella* e *Fusobacterium*. As superfícies dentárias e os sulcos gengivais proporcionam novos habitats de colonização, resultando na formação da placa dentária. Outras alterações na flora microbiana acontecem durante a vida de um indivíduo, já que, por exemplo, 18 a 40% das crianças de 5 anos têm espiroquetas e anaeróbios produtores de colónias negras (por exemplo, *Porphyromonas gingivalis*), comparando com a presença em 90% de crianças entre os 13 e os 16 anos. Nos adultos, a microflora mantém-se aproximadamente estável, porém os portadores de prótese têm um aumento do número de colónias de *Candida albicans*. A partir dos 70 anos (aproximadamente), há um aumento de *Lactobacillus* e de *Staphylococcus* spp. na saliva de não-portadores de prótese, enquanto que a partir dos 80 anos, o número de colónias de fungos aumenta (Bagg et al., 2006, p. 219-232, 273-282).

No sentido de aferir de alterações do ambiente oral em pacientes idosos portadores de PF's e de PPR's, Tanaka e os seus colaboradores realizaram um estudo em Osaka (Japão), em que avaliaram a taxa de fluxo salivar estimulado, a capacidade tampão da saliva estimulada e a microflora oral (*S. mutans*, *Lactobacillus* e *Candida albicans*), após a colocação das próteses (após 3 meses no grupo das PF's e após 10 meses no grupo das PPR's) e num *follow-up* após 3 anos. Como resultados de relevo, obtiveram que entre os portadores de PF's, não houve alterações significativas dos 5 factores avaliados com o tempo, enquanto que entre os portadores de PPR's, a contagem de *Lactobacillus* aumentou consideravelmente com o tempo, tendo sido mantidos estáveis os valores iniciais dos restantes factores avaliados. Quando compararam os dados entre os dois grupos, encontraram maior potencial cariogénico no grupo das PPR's (nos dois momentos de avaliação), não encontrando diferenças significativas nos factores taxa de fluxo salivar estimulado, capacidade tampão da saliva estimulada e contagem de *Candida albicans*. Estes dados permitiram aos autores concluir que quanto ao tempo de uso das próteses, a contagem de *Lactobacillus* tende a aumentar nos pacientes com PPR, bem como o risco de cárie relativo ao uso de PF's parece ser menor do que quando comparado com os pacientes portadores de PPR's (Tanaka et al., 2009).

## 6. *Candida* spp.

A *Candida* é provavelmente o maior patógeno oportunista que coloniza a espécie Humana, tendo sido identificado ainda na Era de Hipócrates. Actualmente, é sabido que a *Candida* é um fungo comensal que habita inofensivamente vários nichos do corpo humano, incluindo a cavidade oral, tracto gastrointestinal, vagina e pele (em indivíduos saudáveis). Sob determinadas circunstâncias, contudo, a *Candida* pode causar infecção (candidíase), podendo variar na sua gravidade entre infecção da membrana mucosa externa e patologias sistémicas que põem em risco a vida do indivíduo. Assim, é conhecida pelos clínicos como um dos maiores patógenos humanos (Seneviratne et al., 2008).

A candidíase é a terceira ou quarta causa de infecções nosocomiais nos Estados Unidos (Banerjee et al., *cit. in* Seneviratne et al., 2008; Edmond et al., *cit. in* Seneviratne et al., 2008). Além disso, as taxas de mortalidade entre pacientes com candidíase tem aumentado, atingindo cerca de 40 a 60% (Wenzel & Gennings, *cit. in* Seneviratne et al., 2008; Colombo et al., *cit. in* Seneviratne et al., 2008). A transição de *Candida* como patógeno comensal inócuo para causadora de infecção fúngica pode depender do estado imune do hospedeiro. Isto verifica-se, por exemplo, em pacientes com VIH/SIDA (a candidíase é a infecção fúngica mais comum nestes pacientes), transplantados (principal causador de infecção nestes pacientes, sendo que a taxa de mortalidade relativa a este tipo de infecção ronda os 50%), pacientes sujeitos a quimio e radioterapia, ou pacientes medicados com fármacos com efeito imunossupressor (Seneviratne et al., 2008).

Um dos principais factores que contribuem para a virulência da *Candida* é a sua versatilidade na adaptação a diversificados habitats para se desenvolver e para formação de comunidades microbianas aderidas a superfícies, conhecidas como biofilmes, que apresentam características e fenótipos distintos das suas homólogas quando isoladas. De facto, a maioria dos microorganismos estão aderidos a superfícies e organizados em

biofilmes, e pelo menos 65% de todas as infecções microbianas estão relacionadas com o desenvolvimento do biofilme (Potera, *cit. in* Seneviratne et al., 2008). Os biofilmes de *Candida* estão especialmente difundidos, sendo encontrados na maioria dos aparelhos médicos utilizados actualmente, como *stents*, *shunts*, implantes, tubos endotraqueais, *pacemakers*, e variados tipos de catéteres, sendo difíceis de erradicar devido à sua muito grande resistência aos antifúngicos (Seneviratne et al., 2008).

i. Classificação

Tabela 1 – Classificação taxonómica do Género *Candida* (adaptado de Bialková & Šubík, 2006)

<b>Domínio</b>	Eukaryota
<b>Reino</b>	Fungi
<b>Subreino</b>	Dikarya
<b>Divisão</b>	Ascomycota
<b>Subdivisão</b>	Saccharomycotina
<b>Classe</b>	Saccharomycetes
<b>Ordem</b>	Saccharomycetales
<b>Família</b>	Mitosporic Saccharomycetales
<b>Género</b>	<i>Candida</i>

ii. Espécies de *Candida*

As espécies de *Candida* que podem ser encontradas mais frequentemente na cavidade oral são: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C.*

*pseudotropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. sake*, *C. lusitaniae*, *C. zeylanoides*, *C. magnoliae*, *C. famata* e *C. kefir*. Todas as espécies apresentam características específicas e factores de virulência próprios (produção de enzimas, adesinas e proteínas). De todas as espécies, a *C. albicans* é a mais frequentemente identificada na cavidade oral, seguida da *C. glabrata*, da *C. dubliniensis* e da *C. krusei* (Beighton et al., 1995; Kulak et al., 1997; Sullivan & Coleman, 1998; Cannon & Chaffin, 1999; Sullivan et al., 1999; Farah et al., 2000; Haynes, 2001; Henriques et al., 2006; Jayatilake et al., 2006; Parahitiyawa et al., 2006; Urzúa et al., 2007).

A célula fúngica tem as características típicas das células eucarióticas, incluindo núcleo, mitocôndrias, Complexo de Golgi e uma parede celular rígida, externa à membrana citoplasmática. A estrutura química da parede celular fúngica é marcadamente distinta da estrutura das bactérias, contendo manoproteínas, glucoproteínas e quitina em associação com as restantes proteínas estruturais e mesmo entre elas. As manoproteínas de superfície são os principais determinantes de especificidade serológica, tendo um papel fundamental na adesão dos fungos. Apresentam uma grande diversidade metabólica, necessitando de uma fonte de carbono e iões amónia ou nitrato como fonte de nitrogénio. A maioria das espécies é aeróbia estrita, havendo algumas com potencial de crescimento em anaerobiose. São dimórficas já que crescem como bolores no seu ambiente natural, mas convertem-se em leveduras ou em alguma forma intermédia quando colonizam, por exemplo, a cavidade oral. Deste modo, as *Candida* spp. aparecem em diferentes formas. Quando em forma de levedura, são geralmente designadas por blastósporos ou por blastoconídios, porém não têm a capacidade de produzir nem esporos nem gémulas. As pseudohifas são leveduras alongadas juntas, tendo constrições na sua dimensão. Todas as espécies têm a capacidade de aparecer na forma de leveduras e de pseudohifas, porém apenas a *C. albicans* e a *C. dubliniensis* têm a capacidade de formar verdadeiras hifas. Estas extensões sem constrições são frequentemente designadas por tubo germinativo e são formadas a partir da forma leveduriforme destas duas espécies em menos de uma hora a 37°C (Bagg et al., 2006, p. 65-67).

Os indivíduos com um sistema imune normal têm uma alta resistência natural para a maioria das infecções fúngicas. Para além de uma panóplia de mecanismos inatos de

defesa, os dois principais mecanismos imunes que permitem uma maior resistência à infecção fúngica são a fagocitose por neutrófilos (com ou sem o auxílio de opsoninas) e o desenvolvimento de imunidade mediada por células. Estes mecanismos permitem que os fungos se mantenham na microflora no estado comensal e que os restantes, de fontes exógenas, sejam eliminados mais cedo ou mais tarde. Contudo, alguns fungos desenvolveram estratégias para evitar os mecanismos de defesa dos hospedeiros, o que juntamente com outros factores do hospedeiro, podem diminuir a capacidade imune do indivíduo para resistir a infecções fúngicas. Esses factores podem ser locais (taxa salivar reduzida, alterações epiteliais, alterações da microflora oral e dieta rica em hidratos de carbono), sistémicos (alterações hormonais: Diabetes Mellitus, hipotireoidismo, hiperparatireoidismo, supressão das glândulas supra-renais; deficiências de ferro e folato; imunossupressão; alteração da função polimórfica; e outras patologias) e externos (radiação e drogas). Aliás, os fungos parecem ter capacidade para detectar alterações no hospedeiro de variadas formas, sendo capazes de alterar a sua morfologia e o seu metabolismo, de estimular a proliferação celular e de uma possível invasão dos tecidos do hospedeiro (Farah et al., 2000; Bagg et al., 2006, p. 67-69).

A *Candida albicans*, em resposta a alterações fisiológicas do hospedeiro, pode aumentar em número, invadir tecidos e produzir infecção, provavelmente devido ao desenvolvimento de mais células patogénicas, ajudado por mecanismos de alteração fenotípica. Estas propriedades, tais como escapar dos elementos do sistema imune, desenvolver resistência aos antifúngicos e maximizar a colonização e a invasão das superfícies epiteliais do hospedeiro, permitem a esta espécie ajustar-se rapidamente a alterações do hospedeiro. Os principais factores envolvidos nesta patogenicidade da *C. albicans* são: proteases ácidas (degradam as proteínas salivares como IgA, mucinas e transferinas), fosfolipases (degradam as membranas celulares do hospedeiro), mecanismos de alteração fenotípica e manoproteínas extracelulares (aumentam significativamente a capacidade de adesão a células epiteliais e ao acrílico). Como características principais, pode ser dito que se trata de uma célula dimórfica, pode existir na forma de blastósporos/blastoconídios e em forma de hifas. Na forma de blastósporos mede 2 a 8 µm por 3 a 14 µm, sendo que na forma de hifas pode atingir algumas centenas de micrómetros. Não têm ciclo sexual e reproduzem-se por gemulação multilateral. Dependendo das condições do ambiente, têm a capacidade de se

alterar morfológica e fenotipicamente (Scherer & Magee, 1990; Odds, 1991; Beighton et al., 1995; Kulak et al., 1997; Sullivan & Coleman, 1998; Cannon & Chaffin, 1999; Sullivan et al., 1999; Farah et al., 2000; Calderone & Fonzi, 2001; Haynes, 2001; Odds et al., 2004; Bagg et al., 2006, p. 67-69; Henriques et al., 2006; Jayatilake et al., 2006; Koga-Ito et al., 2006; Parahitiyawa et al., 2006; Urzúa et al., 2007).

### iii. Estrutura do Biofilme de *Candida*

Um biofilme desenvolve-se tipicamente em quatro fases, respectivamente: adesão de um microorganismo a uma superfície; formação de colónias e organização celular; secreção de matriz e de polímeros extracelulares (PEC's) e maturação para uma estrutura tridimensional; e disseminação das células do biofilme. O biofilme de *Candida* começa através da adesão a uma superfície, de espécies de *Candida* que estão em suspensão, demorando segundo Samaranayake e colaboradores (*cit. in* Seneviratne et al., 2008) uma a duas horas. Primeiramente, a adesão é mediada por interações não-específicas, como forças hidrofóbicas e electrostáticas, entre os fungos e o substrato. Seguidamente, moléculas de adesão específicas (nomeadamente glicoproteínas de adesão) são produzidas para aumentar essa mesma adesão. Assim que os blastósporos aderem, formam um agregado de células muito bem organizado espacialmente numa sequência de divisões complexas. A morfogénese das células nesta comunidade microbiana primária está dependente de factores como fonte de carbono, substrato e as próprias espécies colonizadoras (Jin et al., 2004; Seneviratne et al., 2008).

Segundo Chandra e seus colaboradores (*cit. in* Seneviratne et al., 2008), a formação do biofilme de *Candida* em tiras de polimetilmetacrilato ocorre essencialmente em três fases: a precoce (0 a 11 horas), a intermediária (12 a 30 horas) e a maturação (38 a 72 horas). A fase precoce é caracterizada pela adesão e desenvolvimento dos blastósporos em micro-colónias distintas. Às 18-24 horas, o biofilme de *Candida* pode ser visto

como uma estrutura de dupla camada, contendo uma mistura de leveduras, tubos germinativos e hifas imaturas; esta fase intermediária distingue-se pela produção de PEC's. Durante a maturação, o biofilme torna-se uma espessa camada de PEC's na qual uma densa rede de leveduras, pseudo-hifas e hifas se inserem.

Num biofilme típico em superfícies planas hidrofóbicas (como os elastómeros de silicone e o cloreto de polivinilo) há uma distribuição bifásica dos componentes, nomeadamente uma camada de blastósporos aderentes coberta por uma dispersa camada de hifas incluídas em PEC's. Os canais de água entre as hifas facilitam a difusão dos nutrientes do ambiente para as camadas mais profundas, permitindo igualmente a eliminação dos resíduos resultantes da actividade celular (Ramage et al., 2004).

Os biofilmes de *Candida* formados em modelos *in vivo* parecem seguir a mesma sequência. No entanto, a maturação é mais rápida e a espessura é maior nestes biofilmes (geralmente maior que 100µm) do que nos biofilmes criados *in vitro* (que variam entre 25 e 450µm, dependendo do tempo dado à maturação) (Andes et al., *cit. in* Seneviratne et al., 2008).

#### iv. Factores que Afectam a Formação do Biofilme de *Candida*

Os principais factores que foram identificados como afectantes da formação do biofilme de *Candida* são substrato, nutrientes, saliva, disponibilidade de oxigénio, PEC's e espécies de *Candida* (Seneviratne et al., 2008).

As propriedades físico-químicas do substrato podem influenciar a adesão de *Candida* e a subsequente formação do biofilme. Por exemplo, os materiais de rebasamento moles das próteses são melhores para a adesão de *Candida* do que as próprias superfícies acrílicas das mesmas. Assim, a topografia superficial do substrato, bem como as suas

propriedades, são importantes factores, com as superfícies menos rugosas e porosas as que minimizam mais a formação de biofilme (Seneviratne et al., 2008).

Quanto aos nutrientes, as fontes de carbono, os resultados de diversos estudos são de alguma forma contraditórios. Porém, para a *Candida albicans*, a glucose, a frutose e a lactose parecem favorecer a formação do biofilme quando comparadas com a sucrose e a maltose. Como estes dois últimos são dissacarídeos, estes resultados parecem indicar que as leveduras têm maior capacidade de utilização de cadeias de açúcares simples (Jin et al., 2004; Parahitiyawa et al., 2006).

É aceite que a presença de uma película de saliva, juntamente com o tipo de fonte de carbono proveniente do ambiente, actua de uma forma complexa na modulação do desenvolvimento do biofilme, já que as diferenças nas proporções dos componentes salivares entre pacientes e mesmo no mesmo paciente, dependendo das situações, não permitem conclusões seguras (Jin et al., 2004; Seneviratne et al., 2008).

A *Candida* tem a capacidade de crescer tanto de forma aeróbia como anaeróbia. Contudo, condições anaeróbias estritas dificultam a formação do biofilme, impedindo mesmo a sua formação em determinadas estirpes (Seneviratne et al., 2008).

A formação de PEC's é uma característica única do modo de formação do biofilme. As substâncias secretadas formam um ambiente tridimensional, de consistência gelosa, muito hidratado, no qual os microorganismos são imobilizados. Estas PEC's servem de defesa contra as células fagocíticas, proporcionando um esqueleto que mantém a integridade do biofilme e limitando a difusão activa de drogas. Os biofilmes de *Candida* são consituídos em aproximadamente 40% de carboidratos, havendo variação dos constituintes destes entre as espécies. Em menor quantidade, pode-se ainda encontrar proteínas, fósforo, hexosamina e ácido úrico. No entanto, a produção de PEC's depende ainda de factores como a espécie e a estirpe, fonte de carbono e taxa de fluxo de nutrientes do meio (Seneviratne et al., 2008).

As espécies de *Candida* diferem na sua capacidade de formar biofilmes. Geralmente, os biofilmes das diversas espécies variam na sua morfologia, composição dos PEC's e resistência antifúngica. Alguns estudos sobre este tema foram revistos por Seneviratne e os seus colaboradores, dos quais foi adaptada a tabela apresentada na página seguinte. Salienta-se o facto dos estudos terem sido realizados com estirpes diferentes mesmo dentro da mesma espécie. Outro facto de relevo é a maior capacidade de formação de biofilmes por estirpes de *Candida* selvagens em relação às estirpes de laboratório (Seneviratne et al., 2008; Hasan et al., 2009).

Tabela 2 – Factores que influenciam o desenvolvimento do biofilme de *Candida* como descrito noutros estudos (NR – Não realizado; NM – não mencionado no artigo)

(adaptado de Seneviratne et al., 2008, p. 586)

Espécie	Crescimento do Biofilme	Morfologia	PEC's	Resistência a Antifúngicos	Referência Bibliográfica
<i>C. albicans</i>	Bom	a. Multicamadas b. Mistura de leveduras c. Pseudohifas d. Hifas	Espesso	Alta	Hawser and Douglas, 1994
	Bom	a. Blastóporos na camada basal b. Camada espessa de hifas no topo	Espesso	Alta	Kuhn et al., 2002a
	Bom	a. Multicamadas	Espesso	NR	Samaranayake et al., 2005
	Bom	a. Camada Basal de blastóporos	Fino	NR	Parahitiyawa et al., 2006
<i>C. krusei</i>	Bom	NR	NR	NR	Hawser and Douglas, 1994
	Bom	a. Grandes camadas de blastóporos	NM	NR	Samaranayake et al., 2005
	Bom	a. Grandes blastóporos	Espesso	NR	Parahitiyawa et al., 2006
<i>C. dubliniensis</i>	Mau	NR	NR	NR	Hawser and Douglas, 1994
	Bom	a. Multicamadas b. Leveduras c. Formas filamentosas	Espesso	Alta	Ramage et al., 2001a
	Bom	a. Semelhante à <i>C. albicans</i> no mesmo estudo	Espesso	NR	Parahitiyawa et al., 2006
<i>C. glabrata</i>	Mau	NR	NR	NR	Hawser and Douglas, 1994
	Mau	a. Escaça população de blastóporos	Fino	NR	Kuhn et al., 2002a
	Mau	a. Apenas blastóporos	Fino	NR	Parahitiyawa et al., 2006
<i>C. parapsilosis</i>	Mau	NR	Fino	Alta	Hawser and Douglas, 1994
	Mau	a. Apenas camada basal de blastóporos	Fino	Alta	Kuhn et al., 2002a
	Bom	a. Agregações de blastóporos	NM	NR	Samaranayake et al., 2005
<i>C. tropicalis</i>	Mau	a. Fina camada de hifas b. Camada de blastóporos não visível	Fino	NR	Kuhn et al., 2002a
	Mau	a. Apenas blastóporos	Espesso	NR	Parahitiyawa et al., 2006
	Bom	NR	Espesso	Alta	Al Fattani and Douglas, 2006

v. Genômica e Proteômica dos Biofilmes de *Candida*

Estas duas áreas surgiram com a necessidade de compreensão dos mecanismos moleculares que regem os fenómenos patofisiológicos. Relativamente à genômica, esta ciência permitiu a descrição detalhada de toda a sequência genética de *Candida*, permitindo uma base de dados bastante detalhada. Outro dado de relevo obtido por investigadores desta área (Ramage et al., 2004; Garcia-Sanchez et al., *cit. in* Seneviratne et al., 2008; Nobile et al., *cit. in* Seneviratne et al., 2008; Nobile & Mitchell, *cit. in* Seneviratne et al., 2008), foi a demonstração da acção fundamental das hifas na formação do biofilme de *Candida*, a partir do momento em que todos os genes descobertos que têm acção directa na formação do biofilme, estão pelo menos indirectamente relacionados com a regulação do desenvolvimento de hifas. Contudo, ainda é inconclusivo se os genes que regulam a morfogénese das hifas ou as proteínas das paredes das hifas são mais importantes na formação do biofilme. No que concerne à proteómica, ciência que se ocupa do complemento proteico do genoma (Wilkins et al., *cit. in* Seneviratne et al., 2008), os estudos nesta área focam essencialmente a análise da parede celular e a avaliação da mudança proteica associada à resposta a medicamentos, à mudança da virulência de mutantes e à resposta serológica à candidíase. Ainda assim, o estudo proteómico do biofilme de *Candida* ainda está muito embrionário (Scherer & Magee, 1990; Odds et al., 2004; Seneviratne et al., 2008).

vi. Resistência de *Candida* a Antifúngicos

Diversos estudos referiram que os biofilmes de *Candida* são entre 30 a 2000 vezes mais resistentes a diversos agentes antifúngicos do que as estirpes selvagens, incluindo a anfotericina B, fluconazol, itraconazol e cetoconazol. Aliás, os biofilmes de *Candida*

encontrados *in vivo* apresentam uma concentração inibitória mínima (CIM) para fluconazol 128 vezes maior que espécies isoladas. Estas propriedades têm grande impacto clínico, mas uma nova esperança emergiu do desenvolvimento de novos agentes antifúngicos como, por exemplo, as equinocandinas e formulações lipossômicas de anfotericina B. Porém ainda não existem estudos que demonstrem que estes novos antifúngicos sejam particularmente efectivos contra os biofilmes de *Candida*. Diversos factores estão relacionados com o aumento da resistência dos biofilmes de *Candida* a antifúngicos, entre os quais a alteração da taxa de crescimento/metabólica das leveduras do biofilme (heterogenia de espécies de leveduras e mesmo de outros microorganismos), a presença de matriz extracelular (os PEC's, as enzimas dos PEC's e formar barreira física concreta), a expressão de genes de resistência (como bombas de efluxo de drogas, membranas com esterol e mesmo alteração na regulação de determinados genes) e a presença de leveduras “persistentes” (variações fenotípicas das leveduras selvagens, com capacidade de sobrevivência em concentrações muito superiores à CIM) (Seneviratne et al., 2008).

## 7. Higienização Oral e Protética

A presença de maiores ou menores contagens de microorganismos orais deve-se a uma maior ou menor eficácia na higienização oral. Existem métodos mecânicos e químicos para higienizar a cavidade oral. Este facto é verificado tanto em pacientes com toda a dentição, como em pacientes com edentulismo parcial ou total, reabilitados ou não proteticamente, seja como em pacientes com qualquer tipo de prótese. Na população geriátrica, por todos os condicionalismos inerentes ao envelhecimento aos quais pode ser agregado o facto da grande revolução ao nível da Medicina Dentária ser relativamente recente, diversos estudos existem sobre a higiene oral e a sua importância. Por exemplo, se as alterações a nível da destreza manual dos pacientes mais idosos diminuem a capacidade para execução das acções básicas diárias, a higiene oral está necessariamente incluída nestas. Esta diminuição de capacidade motora potencia a acumulação de placa dentária ou na prótese, o que hipotetiza que idosos com menor capacidade acumulem mais placa e possam experimentar mais patologia oral. Estudos foram realizados no sentido de verificar se a capacidade motora tem relação com a maior acumulação de placa dentária, tendo sido encontrada uma bastante significativa associação (Felder et al., *cit. in* Padilha et al., 2007). Quanto à relação dessa mesma capacidade com a acumulação de placa bacteriana nas próteses, Padilha e colaboradores concluíram no seu estudo que é igualmente significativa a associação, mesmo tendo em conta variáveis como idade, género e estado cognitivo. Aliás, o estado cognitivo e as capacidades motoras são duas variáveis com relação directa na maior ou menor independência entre a população geriátrica. Essa perda da independência na realização das actividades diárias normais, bem como o actual estado da Sociedade, faz com que grande parte da população geriátrica esteja institucionalizada. Nesse sentido, actualmente são muitos os estudos efectuados em Instituições geriátricas para avaliar o estado da saúde oral e a qualidade de vida relacionada com a mesma. Isto deve-se também ao facto de entre os mais idosos (especialmente), a saúde oral ser considerada menos importante do que a saúde geral. Os idosos institucionalizados raramente recebem tratamentos orais, excepto para algia e desconforto, o que se deve ao facto da prevenção e manutenção da saúde oral em pacientes com mais de 70 anos ser nova,

como afirmam Kiyak e os seus colaboradores (*cit. in* Akar & Ergül, 2008). Esta situação torna negligente o cuidado com a saúde oral dos idosos em Lares, tal como defendem Steele e seus colaboradores (*cit. in* Akar & Ergül, 2008) que verificaram que os idosos que residem em Lares de acolhimento têm ainda pior saúde oral que os que residem em casa própria. Já no estudo de Akar & Ergül, os resultados obtidos levaram os autores a concluir que ter dentes naturais juntamente com perda de capacidade motora e funcional, são factores predictivos de necessidade de tratamentos orais em pacientes institucionalizados, sendo que controlar, renovar ou rectificar próteses (devido ao grande impacto social por estética e comunicação, e ao seu papel crucial na nutrição) destes pacientes, aumentaria seguramente o seu estado de conforto e a sua qualidade de vida (Darwazeh et al., 2001; Padilha et al., 2007; Akar & Ergül, 2008).

Muitos desinfectantes químicos são sugeridos para a higiene das próteses. O melhor desinfectante deve preencher os requisitos de um agente ideal, não causando nenhum tipo de alteração estrutural na prótese. O hipoclorito de sódio é de custo acessível, tem um grande espectro de acção e requer um curto periodo de contacto (a 2%, 30 minutos são suficientes), sendo que para além dos microorganismos do biofilme, têm capacidade de desinfecção dos microorganismos que ficam aderidos nos poros da superfície da prótese. No entanto, tem algumas desvantagens, destacando-se a actividade corrosiva da superfície dos metais, acção irritante das células e destruição de tecidos. Os desinfectantes que contêm gluteraldeído têm como vantagens o facto de não serem inactivados no contacto com substâncias orgânicas, não serem corrosivos e não degradarem o plástico nem materiais borrachóides, estando a sua eficácia associada com o periodo de exposição (10 minutos de imersão em solução a 2% para remoção de *C. albicans*). Alerta-se é para o facto de apresentarem elevada toxicidade, pelo que é necessário bastante cuidado com o seu uso. A clorhexidina, pela sua relativamente baixa toxicidade e eficácia essencialmente para microorganismos Gram-positivos também é um dos desinfectantes mais utilizados. O ácido acético, componente do vinagre, tem sido utilizado em soluções diluídas, como antifúngico e antiprotozoário, tendo como vantagem a sua baixa toxicidade. O perborato de sódio é utilizado como agente químico de imersão de próteses, podendo ser utilizado igualmente como produto químico da acção de higiene químico-mecânica, já que é associado a acções mecânicas que tem maior eficácia (da Silva et al., 2006).

No estudo de da Silva e colaboradores, já citado aquando da rugosidade superficial das resinas acrílicas, quando relacionaram a eficácia dos desinfetantes (imersão durante 10 minutos) com a espécie *C. albicans*, concluíram que o mais eficaz era o gluteraldeído, seguindo-se o hipoclorito de sódio e o digluconato de clorhexidina. O vinagre, também teve uma acção bastante eficaz contra esta levedura, o que, tendo em conta que não apresenta alterações significativas da rugosidade superficial das próteses, a sua baixa toxicidade, o seu baixo custo e a facilidade de acesso, se torna prometedora em termos de utilização terapêutica e profilática. O perborato de sódio apresentou as menores capacidades desinfetantes para esta levedura, especialmente quando usado em forma de pastilhas (da Silva et al., 2006).

Já no estudo realizado por Dilek Nalbant e colaboradores, em que estudaram a capacidade de desinfecção do Khlorex<sup>®</sup> (clorhexidina a 0,2%) e do Fittydent<sup>®</sup> (perborato e bicarbonato de sódio) em próteses acrílicas e na mucosa palatina, encontraram uma prevalência de *Candida* inicial de 62,2% na mucosa palatina e de 82,2% nas próteses, sendo que concomitantemente a prevalência foi de 36,3%. Relativamente ao objectivo do estudo, ambos os produtos revelaram boa capacidade desinfetante, ora por diminuírem o número de UFC's ora pela remoção total das colónias de *Candida*. No entanto, quando estudaram (já *in vitro*) a capacidade dos produtos na prevenção da formação do biofilme de *Candida*, o Fittydent<sup>®</sup> apresentou maior eficácia, já que inibiu a grande maioria das estirpes testadas, tendo o Khlorex<sup>®</sup> apresentado igualmente alguma eficácia (Dilek Nalbant et al., 2008).

Noutro estudo realizado por Webb e colaboradores, foi investigada a acção de um microondas caseiro na desinfecção das próteses (a diferentes potências e durante 1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos) e de soluções de hipoclorito de sódio a 0,02% e a 0,0125% (durante 8 horas de imersão). O dado relevante, para além do hipoclorito de sódio ser capaz de remover a totalidade das colónias de *Candida* nas duas concentrações, foi o facto de 6 minutos de acção de microondas a 350W serem suficientes para remover a totalidade das colónias da levedura, potência mais baixa que a verificada na restante bibliografia citada pelos investigadores, e que parece ter menos efeitos nefastos a longo-prazo (Webb et al., 1998).

Em estudos em que pacientes portadores de prótese relataram os seus hábitos de higiene oral e das próprias próteses, alguns dados revelaram-se surpreendentes. Marchini e os seus colaboradores estudaram um grupo que afirmava higienizar as suas próteses em média 2,9 ( $\pm 0,9$ ) vezes por dia, dos quais 98,7% usava escovas dentárias para o efeito, e 79,7% com pasta dentífrica. Como formas alternativas de limpeza das próteses, com cada uma a rondar os 5%, utilizavam sabão, sabonete, bicarbonato de sódio ou hipoclorito de sódio. A utilização de produtos de imersão era menos frequente comparativamente aos métodos mecânicos, em 27,1% dos inquiridos, sendo que como soluções utilizavam diluições de hipoclorito de sódio (54,7%) e de bicarbonato de sódio (12,5%) em água. Apenas 26,3% reportava remover as próteses para dormir, dos quais 66,1% as mantinha em água, 25,8% as deixava secar e 8,1% as colocava em soluções desinfetantes. Estes dados têm ainda maior importância, já que o estudo foi realizado em ambiente universitário, onde se espera maior rigor e cuidado na informação e motivação para a higiene das próteses, como forma de prevenção (Marchini et al., 2004).

Já no estudo de Baran e Nalçacti, muitas variáveis foram estudadas, destacando-se questões sócio-demográficas, culturais e educacionais, questões relacionadas com género, idade, estado de saúde, hábitos, auto-percepção de halitose, tempo de utilização das próteses e a higiene das mesmas. Os inquiridos tinham idades compreendidas entre 60 e 85 anos, com uma amostra equilibrada entre o género (159 do sexo masculino e 151 do sexo feminino), dos quais aproximadamente metade eram iletrados. Da amostra, 74,3% tinha algum tipo de patologia sistémica, sendo as mais frequentemente indicadas a hipertensão, desordens do tracto gastrointestinal, diabetes *mellitus*, osteoartrites e doenças respiratórias. Dos indivíduos do sexo masculino, 62,1% eram fumadores e quanto ao sexo feminino, essa percentagem desce para 37,9%. A auto-percepção de halitose foi verificada em 24,2%, sendo a proporção de indivíduos do sexo feminino o dobro da dos do sexo masculino. Relativamente ao tempo de uso de próteses, os investigadores agruparam-nos em 3 grupos, os que utilizavam há 5 anos ou menos (25,2%), entre 6 e 10 anos (42,9%) e há 11 anos ou mais (31,9%). Lavagem das próteses com pasta dentífrica e escova dentária foi verificado em 48,4% contra 6,4% que utilizava bicarbonato de sódio, hipoclorito de sódio ou sabão, bem como 45,2% apenas utilizava a escova dentária. Menos de metade (44,8%) removia as suas próteses

para dormir, dos quais 42,9% as imergia em água e apenas 1,6% as colocava numa solução desinfetante (hipoclorito de sódio). A avaliação da higiene das próteses foi realizada segundo Budtz-Jorgensen e Bertram (1970), obtendo uma boa higiene (sem placa ou tártaro) em 18,4%, razoável (placa bacteriana e tártaro a cobrir menos de 1/3 da prótese) em 39,0% e fraca (placa e tártaro a cobrir 1/3 ou mais da prótese) em 42,9%. Quando correlacionaram as variáveis, encontraram significativa correlação ( $p < 0,001$ ) entre higiene da prótese e idade do paciente, e auto-percepção de halitose e utilização das próteses durante o sono. Encontraram igualmente correlação ( $p < 0,05$ ) entre higiene da prótese, nível escolar, estado de saúde geral, hábitos tabágicos e hábitos de imersão da prótese. Não tendo incluído pacientes que estavam a utilizar fungicidas e métodos artificiais de retenção da prótese (pastas adesivas, pós ou rebasamentos moles), os investigadores verificaram estomatite protética em 35,8% e úlceras traumáticas em 29% dos inquiridos. Quando compararam os pacientes com estas lesões orais com os que não apresentavam sinais das mesmas, concluíram que quanto mais idoso fosse o paciente maior a probabilidade de apresentar estomatite protética ( $p < 0,05$ ); o sexo feminino apresentava mais estomatite protética e úlceras traumáticas que o sexo masculino ( $p < 0,05$ ); a prevalência de estomatite protética ( $p < 0,001$ ) e de úlceras traumáticas ( $p < 0,05$ ) era maior com o menor nível escolar; a prevalência de estomatite protética ( $p < 0,001$ ) e de úlceras traumáticas ( $p < 0,05$ ) era maior com o pior estado de saúde geral; a prevalência de estomatite protética e de úlceras traumáticas ( $p < 0,001$ ) era maior em fumadores e ex-fumadores do que em indivíduos que nunca haviam fumado; uma correlação estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ) entre presença de estomatite protética e de úlceras traumáticas e auto-percepção de halitose; não encontraram correlação significativa entre anos de utilização das próteses e a presença de estomatite protética e de úlceras traumáticas; não existia correlação significativa entre estomatite protética e os hábitos de escovagem das prótese, porém essa correlação ( $p < 0,05$ ) existia nas úlceras traumáticas; a prevalência de estomatite protética e de úlceras traumáticas ( $p < 0,05$ ) aumentava com a remoção das próteses para dormir; a prevalência de estomatite protética e de úlceras traumáticas ( $p < 0,05$ ) era maior nos pacientes que imergiam as suas próteses em água, não havendo suficiência estatística para avaliarem os que imergiam em soluções químicas (apenas 1,6% o faziam); a prevalência de estomatite protética ( $p < 0,001$ ) e de úlceras traumáticas ( $p < 0,05$ ) aumentava significativamente quanto pior fosse a higiene das próteses. Estes resultados, na sua

maioria estão de acordo com a bibliografia revista pelos autores, porém a correlação entre estas lesões orais e a remoção das próteses para dormir, juntamente com a colocação em água são surpreendentes. Outro factor de relevância, tal como no estudo de Marchini e colaboradores (2004), é a realização do estudo com pacientes atendidos em ambiente universitário, o que revela ineficaz ou inexistente informação e motivação para os cuidados com as próteses (Baran & Nalçacı, 2008).

## 8. Condições da Mucosa Oral e Patologias Oraís Associadas a *Candida* spp.

A condição da mucosa em contacto com a prótese está associada com a saúde geral, com a medicação, com os hábitos do paciente (álcool, tabaco, drogas), com a condição e com a idade das próteses e com a higiene oral. Lesões na mucosa oral e áreas de contacto com as próteses podem representar reacções agudas ou crónicas à placa bacteriana ou aos microorganismos acumulados nas próteses, ou mesmo reacções ao material da prótese, à falta de retenção ou a trauma mecânico. Os pacientes com hipossalivação e baixa capacidade tampão apresentam maior quantidade de colónias de bactérias e fungos que aqueles com o fluxo salivar e capacidade tampão normais. Pela bibliografia, a idade do paciente parece não ter influência na taxa de salivação, mas o uso de fármacos que provoquem a hipossalivação já demonstrou estar bastante relacionado com o aumento de colónias de *Candida* spp. na saliva, com a estomatite protética e com locais com lesão traumática provocada pela prótese (Peltola et al., 1997; Freitas et al., 2008).

As candidíases orais podem ser agudas ou crónicas, pseudomembranosas, eritematosas ou hiperplásicas. São várias as revisões efectuadas à classificação da categoria I (candidíases confinadas à cavidade oral e tecidos peri-orais) das candidíases orais de Scully e dos seus colaboradores (*cit. in*, Farah et al., 2000). Assim, destaca-se a Candidíase Pseudomembranosa, a Candidíase Eritematosa, a Candidíase Hiperplásica, a Queilite Angular, a Estomatite Protética e a Glossite Rombóide Mediana (Epstein et al., 1980; Arendorf & Walker, 1987; Rossie & Guggenheimer, 1997; Ellepola & Samaranayake, 2000; Farah et al., 2000; Reichart et al., 2000; Akpan & Morgan, 2002; Ramage et al., 2004; Samaranayake et al., 2009).

Candidíase Pseudomembranosa – é caracterizada por pequenas placas amarelo-esbranquiçadas na superfície da mucosa oral e da língua. As lesões evoluem para placas maiores confluentes que podem ser removidas, tendo uma base eritematosa. A placa consiste num tecido necrótico e epitélio paraqueratinizado descamativo, penetrado por

*C. albicans* em forma de blastósporo e de hifa, bem como leucócitos polimorfonucleares. As hifas podem invadir até à camada espinhosa da mucosa. Edema e microabcessos contendo leucócitos polimorfonucleares podem ser encontradas nas camadas mais superficiais do epitélio. As camadas mais profundas denotam acantose e a resposta inflamatória no tecido conjuntivo contém linfócitos, células plasmáticas e leucócitos polimorfonucleares. Esta forma da doença é mais comum em crianças, idosos e doentes em fase terminal, particularmente em associação com condições sistémicas graves como leucemia, VIH e SIDA (Farah et al., 2000; Samaranayake et al., 2002; Samaranayake et al., 2009).

Imagem 1 – Candidíase Pseudomembranosa (adaptado de Farah et al., 2000)



Candidíase Eritematosa – está geralmente associada ao uso de corticosteróides e antibióticos de largo espectro. Mais recentemente, também está descrita em casos de pacientes com VIH, sendo que 50% das candidíases em pacientes infectados pelo VIH são deste tipo. Clinicamente, é caracterizada por áreas eritematosas geralmente no dorso da língua, palato ou mucosa jugal, sem que, no entanto, se verifiquem placas. As lesões no dorso da língua apresentam-se classicamente como áreas sem papilas. Esta condição

é relativamente rara, mas na forma aguda pode ser extremamente dolorosa. A histopatologia de candidíase eritematosa aguda é essencialmente igual à das outras formas da doença, com pseudohifas a penetrarem e a estenderem-se pelo epitélio superficial. A reacção inflamatória é caracterizada por neutrófilos no epitélio e por um infiltrado de linfócitos no tecido conjuntivo (Farah et al., 2000; Samaranayake et al., 2002; Samaranayake et al., 2009).

Imagem 2 – Candidíase Eritematosa (adaptado de Samaranayake et al., 2002)



Candidíase Hiperplásica – são lesões crónicas, discretamente aumentadas que variam desde um tamanho pequeno, palpável e translúcido até grandes áreas densas e placas opacas. A forma homogénea apresenta-se como uma placa branca aderente, na qual, a lesão nodular tem uma aparência clínica de múltiplos nódulos brancos numa base eritematosa. Nenhuma das lesões é destacável. A candidíase hiperplásica normalmente surge na mucosa jugal, no palato e na língua. É importante efectuar biópsia pela sua condição pré-maligna e aos diferentes graus de displasia. O exame histopatológico das lesões revela paraqueratoses, demonstrando uma separação irregular e hiperplasia epitelial com invasão de *Candida* restrita às camadas superiores do epitélio. Os microabcessos polimorfonucleares formados no epitélio debaixo da hifa da *Candida*

apresentam um infiltrado crónico inflamatório pobremente demarcado de linfócitos e de células plasmáticas na metade superior do cório. A actividade mitótica está muitas vezes aumentada, mas restrita às camadas basais e suprabasais do estrato espinhoso. A displasia epitelial é mais comum sob a forma nodular (Farah et al., 2000; Samaranayake et al., 2002; Samaranayake et al., 2009).

Imagem 3 – Candidíase Hiperplásica (adaptado de Farah et al., 2000)



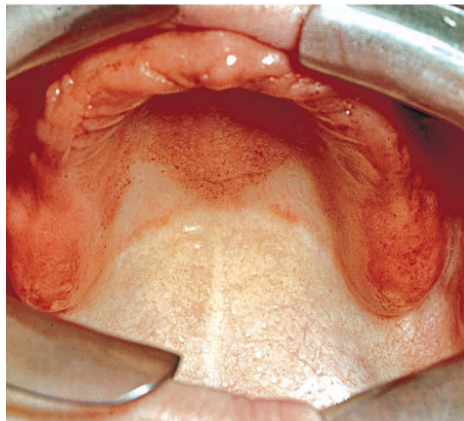
Queilite Angular – clinicamente apresenta-se sob a forma de lesões edemaciadas, eritmatosas e fissuradas que afectam as comissuras labiais e normalmente encontra-se associada a estomatite protética. Pode estar associada também a uma anemia por deficiência de ferro (ferropénica ou ferripriva) ou à deficiência da vitamina (avitaminose) B12. Na granulomatose orofacial, há um número significativo de pacientes que apresentam queilite angular e pode também ser visto em pacientes com SIDA (Farah et al., 2000; Samaranayake et al., 2002; Samaranayake et al., 2009).

Imagem 4 – Queilite Angular (adaptado de Farah et al., 2000)



Estomatite Protética – classicamente, esta condição apresenta-se como um eritema crónico e edema da mucosa em contacto com a prótese, especialmente em próteses maxilares. Normalmente, o paciente não apresenta sintomatologia mas, quando surge, o paciente pode dar conta de um ligeiro edema e de queilite angular. Outros factores tais como acumulação de placa bacteriana e irritação mecânica podem estar na origem da estomatite protética. Esta patologia está presente em aproximadamente 50% dos portadores de PT's. O exame histológico dos tecidos subjacentes às próteses demonstra respostas proliferativas ou degenerativas com queratinização reduzida e epitélio fino. A invasão dos tecidos pela *Candida* não ocorre normalmente como nas outras formas de candidíase oral e existem relativamente poucas leveduras isoladas na superfície da mucosa. Existe um pequeno número de hifas e a maioria da *Candida* coloniza a superfície da prótese. É possível que a condição reflecta uma reacção de hipersensibilidade aos antigénios da levedura. Newton (*cit. in* Figueiral et al., 2007) descreveu três tipos de estomatite protética: I – inflamação localizada e pontos de hiperémia, II – eritema difuso, e III – hiperplasia papilar do palato (Arendorf & Walker, 1987; Rossie & Guggenheimer, 1997; Ellepola & Samaranayake, 2000; Farah et al., 2000; Akpan & Morgan, 2002; Samaranayake et al., 2002; Ramage et al., 2004; Figueiral et al., 2007; Pereira-Cenci et al., 2008; Samaranayake et al., 2009).

Imagem 5 – Estomatite Protética (adaptado de Farah et al., 2000)



Glossite Rombóide Mediana – é caracterizada por uma área de atrofia papilar de forma elíptica ou rombóide, simetricamente colocada e centrada na linha média da língua, anterior às papilas circunvaladas. Ocasionalmente, pode ter uma aparência hiperplásica exofítica ou lobulada. Histopatologicamente, as hifas são vistas a invadirem as camadas superficiais do epitélio paraqueratinizado com células hiperplásicas alongadas e estendendo-se até ao cório, um infiltrado de linfócitos polimorfonucleares ocupam o epitélio e infiltração de linfócitos no cório, crescendo até às bases da camada epitelial (Farah et al., 2000; Samaranayake et al., 2002; Samaranayake et al., 2009).

Imagem 6 – Glossite Rombóide Mediana (adaptado de Farah et al., 2000)



## 9. Tratamentos para a Candidíase Oral

A maioria das candidíases orais pode ser simplesmente tratada com a aplicação tópica de polienos, nistatina e anfotericina, contudo, a eliminação dos factores que propiciaram esta infecção pode ser suficiente para resolver a condição patológica. A remoção ou substituição de antibióticos de largo espectro pode ser o suficiente para a resolução de uma infecção oral fúngica. Ainda assim, uma suspensão oral de nistatina (100,000 unidades por mililitro) ou em pastilhas quatro vezes ao dia durante 7 a 14 dias são o tratamento ideal para permitir que a microflora oral regresse à normalidade. Uma suspensão de anfotericina (100mg/ml) ou em cápsulas (10mg) também são efectivos na eliminação das leveduras das superfícies mucosas dos pacientes com estomatite protética e queilite angular, mas o paciente deve remover a sua prótese durante o tratamento para permitir que o princípio activo atinja todos os tecidos orais. Outra opção é cobrir a superfície de contacto da prótese com gel de miconazol (20mg/ml) enquanto está a ser utilizada, repetindo este processo três vezes por dia até a inflamação desaparecer, o que acontece normalmente entre 7 a 14 dias. De todas as formas, uma higiene oral e protética apropriada é um factor crítico para que a infecção possa ser eliminada. O paciente deve ser aconselhado a manter a prótese em 0,1% de hipoclorito de sódio durante o sono, bem como a não utilizar de forma alguma a mesma durante o sono. O rebasamento ou a confecção de novas próteses pode ser necessária se estas estiverem desadaptadas ou se existir dimensão vertical insuficiente, contribuindo para a queilite angular. A toma oral de fluconazol ou de itraconazol pode ser utilizada em casos mais resistentes, mas o tratamento tópico é frequentemente mais seguro, menos dispendioso e usualmente satisfatório. No caso de infecções associadas a imunodeficiência, o tratamento deve ser sistémico com cetoconazol, fluconazol ou itraconazol, ou no caso de candidíase resistente a este grupo de antifúngicos, a anfotericina. Para a Glossite Rombóide Mediana, a aplicação tópica de antifúngicos é geralmente ineficaz, pelo que será necessário o complemento com antifúngicos por via oral. A inclusão de bochechos com clorhexidina pode ter efeitos bastante proveitosos como medida profilática e de manutenção das leveduras como comensais. Alguns novos antifúngicos (como amorolfina, pradimicina, natifina, benanomicina A) estão em fase

de intensivos ensaios clínicos, mas ainda não existem dados suficientes para uma apreciação do seu real efeito. No entanto, apenas estão a ser desenvolvidos para casos extremos, como em casos de pacientes com SIDA (Arendorf & Walker, 1987; Rossie & Guggenheimer, 1997; Ellepola & Samaranayake, 2000; Farah et al., 2000; Reichart et al., 2000; Ellepola & Samaranayake, 2001; Akpan & Morgan, 2002; Samaranayake et al., 2002; Ramage et al., 2004; Pereira-Cenci et al., 2008; Soysa et al., 2008; Samaranayake et al., 2009)

## 10. Importância da Avaliação Microbiológica

Pela alta prevalência de *Candida* spp. em populações saudáveis e assintomáticas, o isolamento destas leveduras da cavidade oral não implica, necessariamente, a ocorrência de infecções. Por esta razão, o diagnóstico da candidíase oral fundamenta-se principalmente nos sinais presentes ao exame físico, bem como nos dados da anamnese, os quais variam de acordo com a forma clínica da doença. Todavia, o diagnóstico laboratorial pode ser requisitado para o diagnóstico etiológico das lesões, uma vez que o aparecimento de casos relacionados com espécies não-*albicans* tem aumentado nos últimos anos; no acompanhamento de pacientes propensos ao desenvolvimento desta micose (imunocomprometidos, diabéticos, idosos, portadores de próteses removíveis); e em casos de candidíase recorrente ou que não responde ao tratamento antifúngico (Epstein et al., 1980; Costa & Candido, 2007).

### i. Métodos de Colheita de Amostras da Cavidade Oral para Investigação

Williams e Lewis (*cit. in*, Costa & Candido, 2007) defenderam que a colheita de material clínico para a pesquisa de *Candida* na cavidade oral pode ser realizada através de uma variedade de técnicas, como: esfregaço, *swab*, bochecho, cultura por *imprint*, colheita da saliva total e biópsia da mucosa. Todavia, a escolha da técnica deve ser direcionada pelo tipo de lesão a ser investigado, pois cada uma apresenta vantagens e desvantagens tal como pode ser observado na tabela apresentada seguidamente.

Tabela 3 – Técnicas de colheita da cavidade oral para o isolamento de *Candida* (adaptado de Costa & Candido, 2007)

Método	Quantitativo	Vantagens	Desvantagens
<i>Imprint</i>	Sim	Indica o local de infecção e diferencia portador de paciente com infecção	Uso difícil quando não há lesões bem definidas
Bochecho	Sim	Quantifica outros microorganismos	Não indica o local da infecção
Saliva Total	Sim	Sensível para detectar portadores	O tempo necessário para colheita pode ser demorado
<i>Swab</i>	Não	Prático	Pode remover a superfície epitelial
Biópsia	Não	Permite o diagnóstico da forma hiperplásica	Invasiva
Esfregaço	Não	Amplamente utilizada, demonstra a presença de hifas	Menos sensível que as outras técnicas

ii. Métodos de Identificação de *Candida* spp.

Exame Directo – é um método de identificação presumptivo, que revela células leveduriformes (blastósporos), hifas e pseudohifas quando visualizadas entre a lâmina e a lamela com azul de metileno. Quando coradas com o método de Gram, estas estruturas encontram-se coradas positivamente (roxo) (Costa & Candido, 2007; Terai & Shimahara, 2009).

Meio de Isolamento e Identificação – o meio mais utilizado é o agár Sabouraud dextrose, que permite o crescimento da levedura e inibe o crescimento de muitas bactérias devido ao seu baixo pH e à sua elevada concentração osmótica; antibióticos, como o cloranfenicol e/ou a gentomicina, podem ser acrescidos ao meio de cultura, permitindo apenas o crescimento de fungos e de bactérias multi-resistentes. Geralmente as culturas inoculadas neste meio são incubadas em aerobiose a 37°C por 24-48 horas. Nestas condições as colónias podem apresentar-se lisas ou rugosas, cremosas e de tonalidade branco-amarelada. No entanto, a quantidade de infecções fúngicas verificadas e a necessidade de uma identificação rápida da espécie de *Candida* para

escolher o melhor antifúngico, estimulou o desenvolvimento de meios diferenciais e métodos bioquímicos manuais e automatizados de identificação. Desta forma, é aconselhável a utilização do Sabouraud e de um método diferencial concomitantemente. Estes meios contêm substâncias indicadoras para a identificação presumptiva destas leveduras, diferenciando-as entre espécies, se presentes numa única amostra. Entre estes estão o Biggy agár que contém sulfito de Bismuto, o Pagano Lévin contendo 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólico, os meios fluorogénicos cujo produto é revelado com luz ultravioleta e os meios cromogénicos como o *albicans* ID<sup>®</sup> (bioMérieux, França), Candiselect<sup>®</sup> (Sanofi Diagnostics Pasteur, França) e o CHROMagar<sup>®</sup> *Candida* (CHROMagar Company, Paris, França), que são baseados na formação de colónias coloridas resultantes da quebra do substrato cromogénico pela enzima específica da espécie. É de destacar o meio comogénico CHROMagar<sup>®</sup> *Candida* por ser fácil e confiável na identificação presumptiva das espécies de *Candida* no isolamento primário. Os métodos bioquímicos manuais e automáticos utilizam a capacidade assimilativa das leveduras em substratos bioquímicos e enzimáticos, sendo de fácil realização e interpretação, oferecendo o resultado em curto período de tempo. Entre eles estão o API 20C AUX<sup>®</sup> e o API ID 32C<sup>®</sup> (bioMérieux, França), o Fungichrom<sup>®</sup> I (International Microbio, França), o Candifast<sup>®</sup> (International Microbio, França), o Fongiscreen<sup>®</sup> (Sanodi Diagnostics Pasteurs, França) e o RapID<sup>®</sup> yeast plus system (Inovative Diagnostic Systems, EUA) (Odds & Bernaerts, 1994; Beighton et al., 1995; Pfaller et al., 1996; Ainscough & Kibbler, 1998; Koehler et al., 1999; Willinger & Manafi, 1999; Odds & Davidson, 2000; Gündes et al., 2001; Kadir et al., 2002; Yücesoy & Marol, 2003; Mesa et al., 2004; Campanha et al., 2005; Costa & Candido, 2007; Müller et al., 2007; Jewtuchowicz et al., 2008; Liguori et al., 2009; Sivakumar et al., 2009; Terai & Shimahara, 2009).

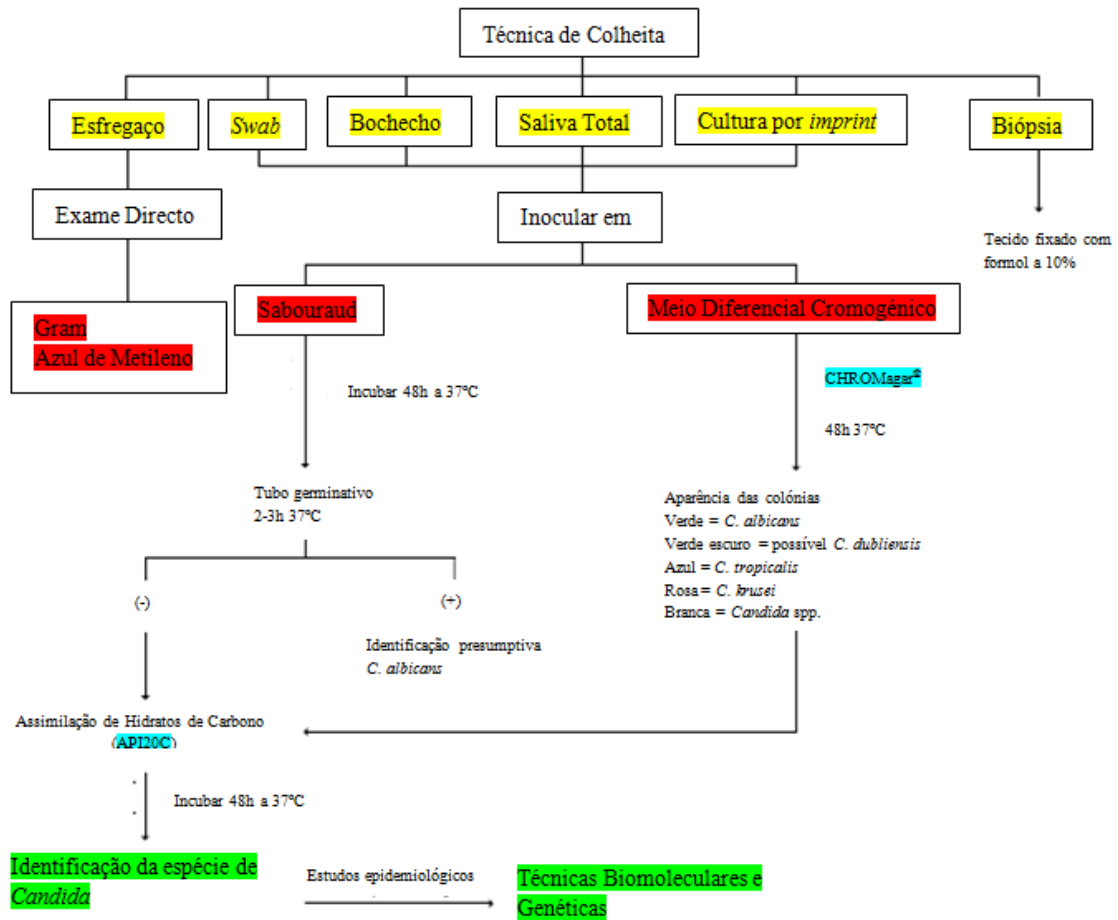
Histopatologia – em alguns casos de candidíase oral, a biópsia do tecido acometido é o método mais indicado para confirmar o diagnóstico. O corte histológico corado revela a penetração do epitélio pelas hifas (Kadir et al., 2002; Costa & Candido, 2007).

Quantificação – é um teste útil no acompanhamento de pacientes com propensão para desenvolver candidíase oral, já que pode ser útil para o conhecimento do estado de infecção. Existem diferenças significativas entre a contagem de colónias na saliva de

portadores e de pacientes com candidíase aguda ou crónica, podendo estes pacientes ser distinguidos pela quantificação de colónias de *Candida* (com uma confiança de pelo menos 95%). Farah e colaboradores defenderam que os portadores da levedura apresentam contagens inferiores a 1000 UFC/ml, enquanto que os pacientes com sinais clínicos de infecção apresentam contagens superiores a 4000 UFC/ml (Epstein et al., 1980; Odds, 1991; Farah et al., 2000; Costa & Candido, 2007; Peeters et al., 2008).

Técnicas Biomoleculares e Genéticas – estas técnicas são utilizadas com o propósito de indentificar com especificidade e rapidez as espécies de *Candida* isoladas em culturas, em contraste com as metodologias mais tradicionais que são baseadas nas características fenotípicas. Na prática, o uso destes testes está limitado à detecção de casos específicos de candidíase, estudos epidemiológicos e para fins de pesquisa. Os métodos que empregam sistemas de *fingerprinting* têm sido utilizados tanto para identificação de espécies como para avaliar a variabilidade genética de *C. albicans*, como a Electroforese de Enzima Multiloco (MLEE), a Cariotipagem Electroforética (EK), o DNA Polimórfico Amplificado ao Acaso (RAPD) e o Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição (RFLP) com e sem hibridação (Scherer & Magee, 1990; Sadhu et al., 1991; Orzai et al., 1999; Honraet et al., 2005; Neppelenbroek et al., 2006; Daims & Wagner, 2007; Jewtuchowicz et al., 2008; Romeo & Criseo, 2008; Kurita et al., 2009; Liguori et al., 2009).

Esquema 1 – Isolamento e identificação de *Candida* a partir de amostras da cavidade oral recolhidas por diferentes técnicas (adaptado de Costa & Candido, 2007).



## 11. Revisão de Estudos sobre Interações de Relevância Clínica entre *Candida* spp. e Prótese Dentária Removível

No estudo de Webb e dos seus colaboradores, foi avaliada a capacidade de tratamento da estomatite protética por dois métodos de desinfecção das próteses (hipoclorito de sódio a 0,02% durante o sono e microondas a 350W por 10 minutos) em 60 pacientes idosos, institucionalizados e portadores de PT. Foram colhidas amostras da mucosa do palato e das PT's superiores e inferiores. O hipoclorito de sódio reduziu significativamente as colónias de *Candida* nas PT's ( $\rho=0,0001$  superior e  $\rho=0,0005$  inferior) e na mucosa do palato ( $\rho=0,0056$ ). As microondas também reduziram significativamente o número de colónias nos 3 locais de colheita ( $\rho=0,0001$ ,  $\rho=0,0128$  e  $\rho=0,0023$  respectivamente). No entanto, apenas 36,7% dos pacientes apresentavam colónias de *Candida*, sendo que foram detectadas 3 espécies nas seguintes proporções: apenas *C. albicans* em 34%; apenas *C. glabrata* em 33%; apenas *C. tropicalis* em 4%; *C. albicans*+*C. glabrata* em 9%; *C. albicans*+*C. tropicalis* em 8%; *C. glabrata*+*C. tropicalis* em 4%; e *C. albicans*+*C. glabrata*+*C. tropicalis* em 8% (Webb et al., 1998).

No estudo de Gornitsky e colaboradores, foi avaliada a capacidade de 3 agentes de desinfecção das próteses (Denture Brite<sup>®</sup>, Polident<sup>®</sup> e Efferdent<sup>®</sup>) em 27 pacientes idosos, institucionalizados e portadores de PT superior sem utilização de desinfectantes nas 2 semanas prévias. Foram colhidas amostras da superfície da PT em contacto com a mucosa palatina. Concluíram que a utilização de Denture Brite<sup>®</sup> e Polident<sup>®</sup> teve bom efeito na redução do número de colónias de *Candida* ( $\rho=0,04$  e  $\rho=0,01$  respectivamente), porém o Efferdent<sup>®</sup> não revelou a eficácia desejada ( $\rho=0,10$ ). O Denture Brite<sup>®</sup> pareceu ser o mais eficaz na redução do número de UFC's de *Candida* (Gornitsky et al., 2002).

Kim e colaboradores realizaram um estudo no sentido de verificar o efeito da utilização de um adesivo protético (Poly Grip Free<sup>®</sup>; Glaxo Smith Kline, U.K.) durante 14 dias, na contagem de colónias de *Candida* em 12 pacientes idosos portadores de prótese

dentária. Encontraram que o número de colónias de *Candida* é significativamente maior nas próteses do que nas mucosas em contacto com as mesmas; e que a utilização deste adesivo não altera a contagem de UFC's de *Candida* tanto na prótese (parece diminuir ligeiramente) como na saliva (valor idêntico) (Kim et al., 2003).

Num estudo em que a investigação foi realizada no sentido de avaliar a taxa de recidiva de estomatite protética em 22 pacientes idosos portadores de prótese, medicados com itraconazol 3 anos antes, Cross e colaboradores encontraram que inicialmente todos os pacientes apresentavam *C. albicans*, sendo que 9 apresentavam outra espécie concomitantemente e 1 apresentava mais duas espécies de *Candida*. Seis meses após a toma do antifúngico, 10 dos pacientes não apresentavam leveduras, 5 mantiveram as espécies iniciais e os restantes 7 ou deixaram de ter alguma das espécies de *Candida* ou uma espécie inicial foi substituída por outra distinta. Após 3 anos, 5 mantiveram a ausência de leveduras; 4 que apresentavam leveduras aos 6 meses, já não apresentaram; 5 dos que não apresentavam leveduras aos 6 meses, apresentaram agora espécies distintas das iniciais; 1 manteve a mesma espécie nos 3 momentos; e os 7 restantes ou tinham espécies diferentes do momento inicial ou da pesquisa aos 6 meses. De referir ainda que a dose inibitória mínima para itraconazol ou se manteve ou aumentou em todas as espécies ao longo do tempo, com excepção num paciente em que essa dose inibitória diminuiu para a sua estirpe de *C. albicans* (Cross et al., 2004).

No estudo de Teixeira e Mezzari, foi investigada a prevalência de *Candida albicans* e não-*albicans* em 50 pacientes idosos portadores de prótese dentária. A prevalência de *Candida* foi de 84%, em que 58% era de *Candida albicans* e os restantes 42% de outras espécies de *Candida* (Teixeira & Mezzari, 2005).

Já Ikebe e colaboradores investigaram a associação da actividade de *Candida* em 351 pacientes com mais de 60 anos, em três grupos: portadores de PT's, portadores de PPR's e dentição natural. Assim, o grupo de portadores de PT's (n=38) demonstrou significativamente maior actividade de *Candida* do que os outros 2 grupos, se bem que o grupo de portadores de PPR's (n=101) também apresentou maior actividade de *Candida* que o grupo com dentição natural. Encontraram correlação entre o aumento da

actividade de *Candida* com a hipossalivação. Ser do género masculino e ter PR's maxilares está significativamente relacionado com uma alta actividade de *Candida*. Nos portadores de prótese maxilar, a actividade de *Candida* na mucosa palatina é significativa e positivamente correlacionada com a mesma actividade nas superfícies de contacto das próteses com a mucosa (Ikebe et al., 2006).

Associando a contagem de UFC's de *Candida* em 19 pacientes infectados por VIH e portadores de PT's com metade do palato em metal e a outra metade em acrílico (divididos em 2 grupos, G1 com  $<300 \text{ CD4}^+/\text{mm}^3$  e G2 com  $\geq 400 \text{ CD4}^+/\text{mm}^3$ ), Perezous e colaboradores encontraram que a adesão das leveduras ao acrílico foi sempre bastante superior à verificada no metal, mesmo entre os grupos. Quanto às espécies, a mais frequentemente encontrada foi a *C. albicans*, excepto no acrílico ao fim de 5 meses, em que foi a *C. dubliniensis*; e todas as espécies aumentaram as contagens com o tempo em ambos os materiais, à excepção das espécies que não *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, que diminuíram ao fim de 3 meses no acrílico, aumentando novamente ao fim de 5 meses (Perezous et al., 2006).

No estudo de Compagnoni e colaboradores foi avaliada a influência da remoção das próteses durante a noite na contagem de colónias de *Candida* em 24 pacientes idosos portadores de prótese, divididos em 2 grupos: no primeiro, estavam os pacientes que não retiravam as suas próteses durante o sono (n=11) e, no segundo, estavam os que removiam as próteses para dormir (n=13). Foram colhidas amostras em 3 momentos: primeiro dia (em que do G1 tinham dormido com as prótese e os G2 não), após um dia (G1 aconselhados a não dormirem com as próteses e os G2 a realizá-lo) e após 7 dias nas mesmas condições. No primeiro momento, a média de UFC's de *Candida* foi 2,5 vezes maior no G1 que no G2; no segundo e no terceiro momentos, a média de UFC's de *Candida* foi igual nos dois grupos e 1,5 vezes superior à encontrada no G2 no primeiro momento, o que levou os autores a concluírem que manter a prótese durante o sono faz aumentar o número de colónias de *Candida* (Compagnoni et al., 2007).

Na procura de dados etiológicos e predisponentes para a estomatite protética, Figueiral e colaboradores realizaram um estudo na Faculdade de Medicina Dentária da

Universidade do Porto em que investigaram, entre outros factores, a microflora oral de 140 portadores de prótese maxilar. Como resultados obtiveram: estomatite protética é mais frequente em mulheres do que em homens, com o aumento do número de anos de uso de prótese e da própria prótese, com a perda de dimensão vertical de oclusão, com a instabilidade da oclusão e com o uso continuado da prótese, e menos frequente com o aumento da idade e o aumento do consumo de álcool; nos pacientes com estomatite protética, 7,1% não tinha leveduras, 81,4% apresentava *C. albicans*, 7,1% apresentava *C. glabrata*, e *C. albicans*+*C. glabrata*+*C. tropicalis*, *C. tropicalis*+*C. glabrata* e *C. albicans*+*C. tropicalis* foi verificada em 1,4% cada. Nos controlos, 52,9% não tinha leveduras, 27,2% apresentava *C. albicans*, 5,7% apresentava *C. parapsilosis*, 4,3% apresentava *C. guilliermondii*, 2,9% apresentava *C. tropicalis*, e *C. parapsilosis*+*C. pulcherrima*+*C. sake*, *C. tropicalis*+*C. albicans*, *C. albicans*+*C. parapsilosis* e *C. albicans*+*C. famata* foi verificada em 1,4% cada (Figueiral et al., 2007).

Vanden Abbeele e colaboradores pesquisaram a contaminação por leveduras de 87 pacientes idosos portadores de prótese sem evidência de estomatite protética ou outras lesões orais. A incidência de colonização por leveduras foi de 75,9% nas próteses e 72,4% nas mucosas em contacto com as mesmas, sendo que os dois casos concomitantes no mesmo paciente foi verificado em 68,2%. De facto, 92,4% dos pacientes com as próteses contaminadas também tinham a mucosa em contacto colonizada, enquanto que apenas 9,5% dos pacientes com as próteses não contaminadas apresentavam *Candida* nas mucosas de contacto. A presença de *C. albicans* foi verificada em 77,9% dos casos de contaminação, de *C. glabrata* em 44,1% e *C. tropicalis* em 19,1%, enquanto que outras espécies foram encontradas numa percentagem muito reduzida (1,5-2%) (Vanden Abbeele et al., 2008).

### III. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada entre Maio de 2006 e Junho de 2009, na Pubmed, através das palavras-chave, tendo sido guardados todos os artigos em Inglês, Espanhol ou Português, com livre acesso através dos protocolos existentes entre a Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto e as revistas indexadas.

Como critério de inclusão dos artigos na revisão, a escolha centrou-se nos artigos desde o ano 2000, completando-se alguns temas com artigos de referência mais antigos.

As palavras-chave foram: *Candida*, *denture wearers*, *prevalence*, *incidence*, *Candida albicans*, *oral microflora*, *dentures*, *removable partial dentures*, *oral rehabilitation*, *edentulism*, *oral microbiology*, *oral yeasts*, *denture stomatitis*, *oral candidiasis*.

#### IV. DISCUSSÃO

Relativo aos temas da perda dentária e do edentulismo, é possível afirmar que ambos estão a diminuir, como atestam os estudos de Dolan et al. (2001), de John et al. (2004), de Müller et al. (2007) e de Österberg e Carlsson (2007). Contudo, o número de próteses dentárias tenderá a aumentar acompanhando o envelhecimento da população, apesar de esse crescimento ainda não ser notório, consoante afirmam McCord e Grant (2000) e Zitzmann et al. (2008).

Quanto à saliva, é possível afirmar que uma maior capacidade tampão favorece a protecção das estruturas orais, bem como diminui a colonização bacteriana e fúngica tanto da cavidade oral como das próteses, já uma diminuição da taxa do fluxo salivar tem o efeito exactamente contrário, como afirmam Ikebe et al. (2006) e Tanaka et al. (2009).

Os métodos de colheita de amostra são diversos, sendo utilizados consoante os objectivos do estudo. A técnica de colheita preferencial para casos de estomatite protética será a saliva total, já que permite não só identificar como quantificar com elevado grau de confiança a microflora oral, bem como quantificar a saliva total tanto estimulada como não estimulada, tal como indicam os estudos de Compagnoni et al. (2007) e de Ikebe et al. (2006). As restantes técnicas são utilizadas para comparação, por exemplo, entre quantidade de CFU's em próteses e a contagem nas superfícies mucosas de contacto (Webb et al., 1998; Gornitsky et al., 2002).

Para identificação de espécies de *Candida*, a maioria dos autores (Cross et al., 2004; Perezous et al., 2006; Vanden Abbeele et al., 2008) prefere o meio CHROMagar<sup>®</sup> *Candida*, por ser de fácil leitura de resultados, para além de ser rápido e bastante confiável. Para quantificação, é geralmente utilizado o agár Sabouraud (Webb et al., 2005; Compagnoni et al., 2007), que quantifica fungos (apesar de também incluir bactérias resistentes que podem ser descartadas pela aparência das colónias) sem os

identificar. Para confirmar a identificação presumptiva do meio CHROMagar® *Candida*, os investigadores utilizam geralmente os métodos genéticos (Darwazeh et al., 2001; Cross et al., 2004) e os bioquímicos (Cross et al., 2004; Vanden Abbeele et al., 2008).

Quanto à prevalência das diferentes espécies de *Candida*, a *C. albicans* é a mais comumente isolada, com valores desde aproximadamente 30% (Webb et al., 2005) até aproximadamente 80% (Figueiral et al., 2007). Aliás, existem estudos que referem a presença de *Candida* não-*albicans*, referindo-se às restantes espécies (Teixeira & Mezzari, 2005). Das não-*albicans*, as mais frequentemente isoladas são a *C. glabrata*, a *C. dubliniensis*, a *C. tropicalis* e a *C. parapsilosis* (Cross et al., 2004; Webb et al., 2005; Figueiral et al., 2007).

A maioria dos estudos é realizada em pacientes idosos, porém, quando comparados adultos com idosos, estes últimos apresentam maior prevalência e maiores contagens de *Candida* (de Castellucci Barbosa et al., 2008).

A presença de determinadas patologias, como Diabetes Mellitus, SIDA e alguns síndromes xerostómicos (Sjögren, por exemplo), estão relacionados com uma maior contagem de *Candida* (Kindelan et al., 1998; Kadir et al., 2002; Manfredi et al., 2006; Perezous et al., 2006).

A presença de próteses removíveis aumenta as contagens de *Candida*, já que este Género de fungos tem uma excelente capacidade de adesão aos acrílicos das próteses, sendo este facto um dado não questionado por nenhum autor revisto (Nikawa et al., 2003; Ikebe et al., 2006; Figueiral et al., 2007; Soysa et al., 2008). Aliás, a etiologia da Estomatite Protética, que tem uma prevalência entre os 11 e os 67% dos portadores de prótese (de Castellucci Barbosa et al., 2008), é um mau estado protético, falta de higienização e a presença de *Candida*, sendo a utilização das próteses durante o sono um factor co-adjuvante (Ramage et al., 2004; Compagnoni et al., 2007; Figueiral et al., 2007; Pereira-Cenci et al., 2008; Soysa et al., 2008). O mau estado da prótese pode ser devido a perda de adaptação, má confecção ou a excesso de porosidade por elevado

tempo de uso, estando estes factores associados a um aumento da contagem de *Candida* (Webb et al., 2005; da Silva et al., 2006; Bürgers et al., 2008). A maioria dos autores concluíram que a higienização das próteses é mal realizada pela maior parte dos pacientes portadores de PR's, estando este facto relacionado com o aumento da prevalência de *Candida* (Marchini et al., 2004; Baran & Nalçacı, 2008; de Castellucci Barbosa et al., 2008).

Quando existe a necessidade de rebasamento das próteses, este pode ser feito por materiais moles ou por acrílicos próprios. Nestes casos, apesar de apresentarem alguma resistência à colonização bacteriana e fúngica, quando começam a desgastar, aumentam consideravelmente as contagens de *Candida* (Nikawa et al., 2003, Bulad et al., 2004; Thein et al., 2007).

Quanto aos desinfectantes das próteses, a maioria dos pacientes não efectua higienização química (Marchini et al., 2004; Baran & Nalçacı, 2008; de Castellucci Barbosa et al., 2008). Esta deve ser realizada, especialmente durante o período de sono (aproximadamente 8 horas) com hipoclorito de sódio (excepto se as próteses tiverem metal) em baixas concentrações (aproximadamente 0,1%), o gluconato de clorhexidina (disponível em formulações próprias para desinfecção de próteses) e o perborato de sódio (igualmente disponível em formulações vendidas por marcas comerciais da área), tendo o ácido acético (vinagre) igualmente demonstrado propriedades desinfectantes interessantes associadas à sua baixa toxicidade (da Silva et al., 2006; Dilek Nalbant et al., 2008). Outro método eficaz para desinfecção das próteses é a utilização das microondas, que é, no entanto, restrita às acrílicas já que o metal não pode ser colocado num microondas convencional (Webb et al., 1998).

Para o tratamento de candidíase oral, a remoção dos factores causais é fundamental. Os antifúngicos de eleição são a nistatina (ou suspensão oral com 100,000 unidades por mililitro ou em pastilhas) quatro vezes ao dia durante 7 a 14 dias, a anfotericina (em suspensão de 100mg/ml ou em cápsulas de 10mg) e o miconazol em gel (20mg/ml) colocado 3 vezes por dia durante 7 a 14 dias. Quando associada a infecções com potencial imunossupressor ou para Glossites Rombóides Medianas, os antifúngicos de

eleição são administrados por via sistêmica com cetoconazol, fluconazol ou itraconazol, sendo deixada a anfotericina para casos de recidiva e de espécies resistentes (Akpan & Morgan, 2002; Ramage et al., 2004; Pereira-Cenci et al., 2008; Soysa et al., 2008; Samaranayake et al., 2009).

## V. CONCLUSÃO

É notória a interacção de relevância clínica entre *Candida* spp. e Prótese Dentária Removível, bem como diversos factores relativos ao paciente. Os estudos revistos não permitem grande comparação já que se alguns utilizam métodos de colheita da amostra quantitativa, os restantes não, o mesmo sendo verificado com os meios de cultura utilizados, ainda que o CHROMagar<sup>®</sup> *Candida* seja actualmente o meio de cultura mais utilizado, apenas comparado com métodos genéticos. No entanto, é notório referir que em Portugal não existem estudos em larga escala nem mesmo ao nível de estado oral (número de dentes presentes; número de dentes cariados, perdidos e obturados; portadores de prótese), nem ao nível de microflora oral, o que demonstra um largo caminho a ser percorrido para a adequação do nosso país a países nórdicos, países de excelência da prevenção e da eficácia da Medicina Dentária.

Uma aproximação da microbiologia à clínica médico-dentária permite não só obter exames complementares de diagnóstico, como avaliar a microflora oral dos pacientes, permitindo uma melhor e mais cuidada abordagem clínica, dependendo dos resultados encontrados, não esquecendo uma prescrição mais correcta, neste caso, dos antifúngicos mais adequados a cada caso.

## VI. BIBLIOGRAFIA

Ainscough, S. & Kibbler, C. C. (1998). An evaluation of the cost-effectiveness of using CHROMagar for yeast identification in a routine microbiology laboratory. *J. Med. Microbiol.*; 47: 623-628.

Akar, G. C. & Ergül, S. (2008). The oral hygiene and denture status among residential home residents. *Clin Oral Invest*; 12:61-65

Akpan, A. & Morgan, R. (2002). Oral candidiasis. *Postgrad. Med. J.*; 78: 455-459.

Allen, P. F.; Jepson, N. J.; Doughty, J. & Bond, S. (2008). Attitudes and practice in the provision of removable partial dentures. *British Dental Journal*; 204: E2, 1-5.

Arendorf, T. M. & Walker, D. M. (1987). Denture stomatitis: a review. *Journal of Oral Rehabilitation*; 14: 217-227.

Arslan, A.; Orhan, K.; Canpolat, C.; Delilbasi, Ç. & Dural, S. (2008). Impact of xerostomia on oral complaints in a group of elderly Turkish removable denture wearers. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, In Press, Corrected Proof.

Bae, K. H.; Kim, C.; Paik, D. I.; Kim, J. B. (2006). A comparison of oral health related quality of life between complete and partial removable denture-wearing older adults in Korea. *Journal of Oral Rehabilitation*; 33: 317-322

Bagg, J.; MacFarlane, T. W.; Poxton, I. R. & Smith, A. J. (2006). *Essentials of Microbiology for Dental Students*. 2<sup>nd</sup> Edition. Glasgow, UK. Oxford University Press

Baker, S. R.; Pankhurst, C. L. & Robinson, P. G. (2006). Utility of two oral health-related quality-of-life measures in patients with xerostomia. *Community Dent Oral Epidemiol*; 34: 351-362.

Baran, I. & Nalçacı, R. (2008). Self-reported denture hygiene habits and oral tissue conditions of complete denture wearers. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, In Press, Corrected Proof.

Beighton, D.; Ludford, R.; Clark, D. T.; Brailsford, S. R., Pankhurst, C. L.; Tinsley, G. F.; Fiske, J.; Lewis, D.; Daly, B. & Khalifa, N. (1995). Use of CHROMagar *Candida* Medium for Isolation of Yeasts from Dental Samples. *Journal of Clinical Microbiology*; 33 (11): 3025-3027.

Bialková, A. & Šubík, J. (2006). Biology of the Pathogenic Yeast *Candida glabrata*. *Folia Microbiol*; 51 (1): 3-20.

Bürgers, R.; Schneider-Brachert, W.; Rosentritt, M.; Handel, G. & Hahnel, S. (2008). *Candida albicans* adhesion to composite resin materials. *Clin Oral Invest*; [Epub ahead of print].

Bulad, K.; Taylor, R. L.; Verran, J. & McCord, J. F. (2004). Colonization and penetration of denture soft lining materials by *Candida albicans*. *Dental Materials*; 20: 167-175.

Butler, B. L.; Morejon, O. & Low, S. B. (1996). An accurate time-efficient method to assess plaque accumulation. *JADA*, Vol. 127, December, 1763-1766.

Calderone, R. A. & Fonzi, W. A. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*; 9 (12): 327-335.

Campanha, N. H.; Neppelenbroek, K. H.; Spolidorio, D. M. P.; Spolidorio, L. C. & Pavarina, A. C. (2005). Phenotypic methods and commercial systems for the discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. *Oral Diseases*; 11: 392-398.

Cannon, R. D. & Chaffin, W. L. (1999). Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med*; 10 (3): 359-383.

Compagnoni, M. A.; Souza, R. F.; Marra, J.; Pero, A. C. & Barbosa, D. B. (2007). Relationship between *Candida* and nocturnal denture wear a quantitative study. *Journal of Oral Rehabilitation*; 34: 600-605.

Costa, K. R. C. & Candido, R. C. (2007). Diagnóstico Laboratorial de Candidíase Oral. *NewsLab*; 83: 138-145.

Cross, L. J.; Williams, D. W.; Sweeney, C. P.; Jackson, M. S.; Lewis, M. A. O. & Bagg, J. (2004). Evaluation of the recurrence of denture stomatitis and *Candida* colonization in a small group of patients who received itraconazole. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 97: 351-358.

da Silva, F. C.; Kimpara, E. T.; Mancini, M. N. G.; Balducci, I.; Jorge, A. O. C. & Koga-Ito, C. Y. (2006) Effectiveness of Six Different Disinfectants on Removing Five Microbial Species and Effects on the Topographic Characteristics of Acrylic Resin. *Journal of Prosthodontics*; 17: 627-633.

Daims, H. & Wagner, M. (2007). Quantification of uncultured microorganisms by fluorescence microscopy and digital image analysis. *Appl Microbiol Biotechnol*; 75: 237-248.

Darwazeh, A. M.; Al-Refai, S. & Al-Mojaiwel, S. (2001). Isolation of *Candida* species from the oral cavity and fingertips of complete denture wearers. *J Prosthet Dent*; 86 (4): 420-423

de Castellucci Barbosa, L.; Ferreira, M. R. M.; Calabrich, C. F. C; Viana, A. C.; Lemos, M. C. L. & Lauria, R. A. (2008). Edentulous patients' knowledge of dental hygiene and care of prostheses. *Gerodontology*; 25: 99-106.

Dilek Nalbant, A.; Kalkanci, A.; Filiz, B. & Kustimur, S. (2008). Effectiveness of Different Cleaning Agents against the Colonization of *Candida* spp and the *in Vitro* Detection of the Adherence of These Yeast Cells to Denture Acrylic Surfaces. *Yonsei Med J*; 49 (4): 647-654

Dolan, T.A.; Gilbert, G. H.; Duncan, R. P. & Foerster, U. (2001). Risk indicators of edentulism, partial tooth loss and prosthetic status among black and white middle-aged and older adults. *Community Dent Oral Epidemiol*; 29: 329-40.

Ellepola, A. N. B. & Samaranayake, L. P. (2000). Oral *Candidal* Infections and Antimycotics. *Crit Rev Oral Biol Med*; 11 (2): 172-198.

Ellepola, A. N. B. & Samaranayake, L. P. (2001). Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidoses: a review. *Oral Diseases*; 7: 11-17.

Ellis, J. S.; Pelekis, N. D. & Thomason, J. M. (2007). Conventional Rehabilitation of Edentulous Patients: The Impact on Oral Health-Related Quality of Life and Patient Satisfaction. *J Prosthodont*; 16:37-42.

Epstein, J. B.; Pearsall, N. N. & Truelove, E. L. (1980). Quantitative Relationships Between *Candida albicans* in Saliva and the Clinical Status of Human Subjects. *Journal of Clinical Microbiology*; 12 (3): 475-476.

Farah, C. S.; Ashman, R. B. & Challacombe, S. J. (2000). Oral Candidosis. *Clinics in Dermatology*; 18: 553-562.

Figueiral, M. H.; Azul, A.; Pinto, E.; Fonseca, P. A.; Branco, F. M. & Scully, C. (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors – a large cohort. *Journal of Oral Rehabilitation*; 34: 448-455.

Freitas, J. B.; Gomez, R. S.; de Abreu, M. H. N. G. & Ferreira e Ferreira, E. (2008). Relationship between the use of full dentures and mucosal alterations among elderly Brazilians. *Journal of Oral Rehabilitation*; 35: 370-374.

Gornitsky, M.; Paradis, I.; Landaverde, G.; Malo, A. M. & Velly, A. M. (2002). A Clinical and Microbiological Evaluation of Denture Cleansers for Geriatric Patients in Long-Term Care Institutions. *J Can Dent Assoc*; 68 (1): 39-45.

Gündes, S. G.; Gulenc, S. & Bingol, R. (2001). Comparative performance Fungichrom I, Candifast and API 20C Aux systems in the identification of clinically significant yeasts. *J. Med. Microbiol.*; 50: 1105-1110.

Hasan, F.; Xess, I.; Wang, X.; Jain, N. & Fries, B. C. (2009). Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. *Microbes and Infection*, In Press, Corrected Proof.

Haynes, K. (2001). Virulence in *Candida* species. *Trends in Microbiology*; 9 (12): 591-596.

Henriques, M.; Azeredo, J. & Oliveira, R. (2006). *Candida* Species Adhesion to Oral Epithelium Factors Involved and Experimental Methodology Used. *Critical Reviews in Microbiology*; 32 (4): 217-226.

Hibino, K.; Samaranayake, L. P.; Hägg, U.; Wong, R. W. K. & Lee, W. (2009). The role of salivary factors in persistent oral carriage of *Candida* in humans. *Archives of Oral Biology*; 54 (7): 678-683.

Honraet, K.; Goetghebeur, E. & Nelis, H. J. (2005). Comparison of three assays for the quantification of *Candida* biomass in suspension and CDC reactor grown biofilms. *Journal of Microbiological Methods*; 63: 287-295.

Ikebe, K.; Morii, K.; Kashiwagi, J.; Nokubi, T. & Ettinger, R. L. (2005). Impact of dry mouth on oral symptoms and function in removable denture wearers in Japan. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 99:704-710.

Ikebe, K.; Morii, K.; Matsuda, K.; Hata, K. & Nokubi, T. (2006). Association of *Candidal* activity with denture use and salivary flow in symptom-free adults over 60 years. *Journal of Oral Rehabilitation*; 33: 36–42

Inukai, M.; Baba, K.; John, M. T. & Igarashi, Y. (2008). Does Removable Partial Denture Quality Affect Individuals' Oral Health? *J Dent Res*; 87; 736-739.

Jayatilake, J. A. M. S.; Samaranayake, Y. H.; Cheung, L. K. & Samaranayake, L. P. (2006). Quantitative evaluation of tissue invasion by wild type, hyphal and SAP mutants of *Candida albicans*, and non-*albicans Candida* species in reconstituted human oral epithelium. *J Oral Pathol Med*; 35: 484-491.

Jewtuchowicz, V. M.; Mujica, M. T.; Brusca, M. I.; Sordelli, N.; Malzone, M.; Pola, S. J.; Iovannitti, C. A. & Rosa, A. C. (2008). Phenotypic and genotypic identification of *Candida dubliniensis* from subgingival sites in immunocompetent subjects in Argentina. *Oral Microbiol Immunol*; 23: 505-509.

Jin, C.; Nikawa, H.; Makihira, S.; Hamada, T.; Furukawa, M. & Murata, H. (2003). Changes in surface roughness and colour stability of soft denture lining materials caused by denture cleansers. *Journal of Oral Rehabilitation*; 30: 125-130

Jin, Y.; Samaranayake, L. P.; Samaranayake, Y. H. & Yip, H. K. (2004). Biofilm formation of *Candida albicans* is variably affected by saliva and dietary sugars. *Archives of Oral Biology*; 49 (10): 789-798.

John, M.T.; Koepsell, T. D.; Hujoel, P.; Miglioretti, D. L.; LeResche, L. & Micheelis, W. (2004). Demographic factors, denture status and oral health-related quality of life. *Community Dent Oral Epidemiol*; 32:125-132.

Kadir, T.; Pisiriciler, R.; Akyuz, S.; Yarat, A.; Emekli, N. & Ipbuker, A. (2002). Mycological and cytological examination of oral *Candidal* carriage in diabetic patients and non-diabetic control subjects: thorough analysis of local aetiologic and systemic factors. *Journal of Oral Rehabilitation*; 29: 452-457.

Kim, E.; Driscoll, C. F. & Minah, G. E. (2003). The Effect of a Denture Adhesive on the Colonization of *Candida* Species *in vivo*. *J Prosthodont*; 12: 187-191.

Kindelan, S. A.; Yeoman, C. M.; Douglas, C. W. I. & Franklin, C. (1998). A comparison of intraoral *Candida* carriage in Sjögren's syndrome patients with healthy xerostomic controls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 85: 162-167.

Knezovic Zlataric, D.; Celebic, A.; Valentic-Peruzovic, M.; Jerolimov, V. & Panduric, J. (2003). A survey of treatment outcomes with removable partial dentures. *Journal of Oral Rehabilitation*, 30; 847-854.

Koehler, A. P.; Chu, K. C.; Houang, E. T. S. & Cheng, A. F. B. (1999). Simple, Reliable, and Cost-Effective yeast Identification Scheme for the Clinical Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*; 37 (2): 422-426.

Koga-Ito, C. Y.; Lyon, J. P.; Vidotto, V. & de Resende, M. A. (2006). Virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from oral candidosis patients and control individuals. *Mycopathologia*; 161: 219-223.

Kulak, Y.; Arikan, A. & Kazazoglu, E. (1997). Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. *Journal of Oral Rehabilitation*; 24: 788-790.

Kurita, H.; Kamata, T.; Zhao, C.; Narikawa, J.; Koike, T. & Kurashina (2009). Usefulness of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay kit for *Candida* mannan antigen for detecting *Candida* in oral rinse solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 107: 531-534.

Liguori, G.; Di Onofrio, V.; Lucariello, A.; Galle, F.; Signoriello, G.; Colella, G.; D'Amora, M. & Rossano, F. (2009). Oral candidiasis: a comparison between conventional methods and multiplex polymerase chain reaction for species identification. *Oral Microbiol Immunol*; 24: 76-78.

Manfredi, M.; McCullough, M. J.; Al-Karaawi, Z. M.; Vescovi, P. & Porter, S. R. (2006). Analysis of the strain relatedness of oral *Candida albicans* in patients with diabetes mellitus using polymerase chain reaction-fingerprinting. *Oral Microbiol Immunol*; 21: 353-359.

Marchini, L.; Tamashiro, E.; Nascimento, D. F. F. & Cunha, V. P. P. (2004). Self-reported denture hygiene of a sample of edentulous attendees at a University dental clinic and the relationship to the condition of the oral tissues. *Gerodontology*; 21: 226-228.

McCord, J. F. & Grant, A. A. (2000). Complete dentures: an introduction. *British Dental Journal*; volume 188, No. 7, April 8, 373-374.

McGrath, C. & Bedi, R. (2001). Can dentures improve the quality of life of those who have experienced considerable tooth loss? *Journal of Dentistry*; 29: 243-246

Mesa, L. M.; Arcaya, N.; Cañas, O.; Machado, Y. & Calvo, B. (2004). Evaluación de los caracteres fenotípicos para diferenciar *Candida albicans* de *Candida dubliniensis*. *Rev Iberoam Micol*; 21: 135-138.

Müller, F.; Naharro, M.; Carlsson, G. E. (2007). What are the prevalence and incidence of tooth loss in the adult and elderly population in Europe? *Clin. Oral Impl. Res.*; 18 (Suppl. 3): 2-14.

Müller, R.; Gröger, G.; Hiller, K. A.; Schmalz, G. & Ruhl, S. (2007). Fluorescence-based Bacterial Overlay Method for Simultaneous *in situ* Quantification of Surface-attached Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*; 73 (8): 2653-2660.

Neppelenbroek, K. H.; Campanha, N. H.; Spolidorio, D. M. P.; Spolidorio, L. C.; Seo, R. S. & Pavarina, A. C. (2006). Molecular fingerprinting methods for the discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. *Oral Diseases*; 12: 242-253.

Nevalainen, M. J.; Närhi, T. O. & Ainamo, A. (2004). A 5-year follow-up study on the prosthetic rehabilitation of the elderly in Helsinki, Finland. *Journal of Oral Rehabilitation*; 31: 647-652.

Nikawa, H.; Jin, C.; Hamada, T. & Murata, H. (2000a). Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans in vitro*. Part I. Effects on fungal growth. *Journal of Oral Rehabilitation*; 27: 41-51.

Nikawa, H.; Jin, C.; Hamada, T.; Makihira, S.; Kumagai, H. & Murata, H. (2000b). Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans in vitro*. Part II. Effects on fungal colonization. *Journal of Oral Rehabilitation*; 27: 124-130.

Nikawa, H.; Jin, C.; Makihira, S.; Egusa, H.; Hamada, T. & Kumagai, H. (2003). Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers *in vitro*. *Journal of Oral Rehabilitation*; 30: 243-250.

Odds, F. C. & Bernaerts, R. (1994). CHROMagar *Candida*, a New Differential Isolation Medium for Presumptive Identification of Clinically Important *Candida* Species. *Journal of Clinical Microbiology*; 32 (8): 1923-1929.

Odds, F. C. & Davidson, A. (2000). “Room temperature” use of CHROMagar *Candida*<sup>®</sup>. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; 38: 147-150.

Odds, F. C. (1991). Quantitative Microculture System with Standardized Inocula for Strain Typing, Susceptibility Testing, and Other Physiologic Measurements with *Candida albicans* and Other Yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*; 29 (12): 2735-2740.

Odds, F. C.; Brown, A. J. P. & Gow, N. A. R. (2004). *Candida albicans* genome sequence: a platform for genomics in the absence of genetics. *Genome Biology*; 5 (7): 230.1-230.3.

Österberg, T. & Carlsson, G. E. (2007). Dental state, prosthodontic treatment and chewing ability – a study of five cohorts of 70-year-old subjects. *Journal of Oral Rehabilitation*, 34; 553-559.

Özhayat, E. B.; Stoltze, K.; Elverdam, B. & Owall, B. (2007). A method for assessment of quality of life in relation to prosthodontics. Partial edentulism and removable partial dentures. *Journal of Oral Rehabilitation*; 34: 336-344

Padilha, D. M. P.; Hugo, F. N.; Hilgert, J. B. & Dal Moro, R. G. (2007). Hand Function and Oral Hygiene in Older Institutionalized Brazilians. *J Am Geriatr Soc*; 55: 1333-1338

Parahitiyawa, N. B.; Samaranayake, Y. H.; Samaranayake, L. P.; Ye, J.; Tsang, P. W. K.; Cheung, B. P. K.; Yau, J. Y. Y. & Yeung, S. K. W. (2006). Interspecies variation in *Candida* biofilm formation studied using the Calgary biofilm device. *APMIS*; 114: 298-306.

Park, S. E.; Periathamby, A. R. & Loza, J. C. (2003). Effect of Surface-Charged Poly(methyl Methacrylate) on the Adhesion of *Candida albicans*. *J Prosthodont*; 12: 249-254.

Peeters, E.; Nelis, H. J. & Coenye, T. (2008). Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *Journal of Microbiological Methods*; 72: 157-165.

Peltola, M. K.; Raustia, A. M. & Salonen, M. A. M. (1997). Effect of complete denture renewal on oral health – a survey of 42 patients. *Journal of Oral Rehabilitation*; 24: 419-425.

Pereira-Cenci, T.; Del Bel Cury, A. A.; Crielaard, W. & Ten Cate, J. M. (2008). Development of *Candida*-Associated Denture Stomatitis: New Insights. *J Appl Oral Sci*; 16 (2): 86-94.

Perezous, L. F.; Stevenson, G. C.; Flaitz, C. M.; Goldschmidt, M. E.; Engelmeier, R. L. & Nichols, C. M. (2006). The Effect of Complete Dentures with a Metal Palate on *Candida* Species Growth in HIV-Infected Patients. *J Prosthodont*; 15: 306-315.

Pfaller, M. A.; Houston, A. & Coffman, S. (1996). Application of CHROMagar *Candida* for Rapid Screening of Clinical Specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. *Journal of Clinical Microbiology*; 34 (1): 58-61.

Radford, D. R.; Challacombe, S. J. & Walter, J. D. (1999). Denture Plaque and Adherence of *Candida albicans* to Denture-base Materials *in vivo* and *in vitro*. *Crit Rev Oral Biol Med*; 10 (1): 99-116.

Ramage, G.; Tomsett, K.; Wickes, B. L.; López-Ribot, J. L. & Redding, S. W. (2004). Denture stomatitis: A role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 98: 53-59.

Reichart, P. A.; Samaranayake, L. P. & Philipsen, H. P. (2000). Pathological and clinical correlates in oral candidiasis and its variants: a review. *Oral Diseases*; 6: 85-91.

Romeo, O. & Criseo G. (2008). First molecular method for discriminating between *Candida africana*, *Candida albicans*, and *Candida dubliniensis* by using *hwpl* gene. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; 62: 230-233.

Rossie, K. & Guggenheimer, J. (1997). Oral Candidiasis: Clinical Manifestations, Diagnosis and Treatment. *Pract Periodontics Aesthet Dent*; 9 (6): 635-641.

Sachdeo, A.; Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (2008). Biofilms in the Edentulous Oral Cavity. *Journal of Prosthodontics*; 17: 348-356.

Sadhu, C.; McEachern, M. J.; Rustchenko-Bulgac, E. P.; Schmid, J.; Soll, D. R. & Hicks, J. B. (1991). Telomeric and Dispersed Repeat Sequences in *Candida* Yeasts and Their Use in Strain Identification. *Journal of Bacteriology*; 173 (2): 842-850.

Samaranayake, L. P.; Cheung, L. K. & Samaranayake, Y. H. (2002). Candidiasis and other fungal diseases of the mouth. *Dermatologic Therapy*; 15: 251-269.

Samaranayake, L. P.; Leung, W. K. & Jin, L. (2009). Oral mucosal fungal infections. *Periodontology 2000*; 49: 39-59.

Scherer, S. & Magee, P. T. (1990). Genetics of *Candida albicans*. *Microbiological Reviews*; 54 (3): 226-241.

Seneviratne, C. J.; Jin, L. & Samaranayake, L. P. (2008). Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. *Oral Diseases*; 14: 582-590.

Sivakumar, V. G.; Shankar, P.; Nalina, K. & Menon, T. (2009). Use of CHROMagar in the Differentiation of Common Species of *Candida*. *Mycopathologia*; 167: 47-49.

Soysa, N. S.; Samaranayake, L. P. & Ellepola, A. N. B. (2008). Antimicrobials as a contributory factor in oral candidosis – a brief review. *Oral Diseases*; 14: 138-143.

Sullivan, D. J. & Coleman, D. (1998). *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification. *Journal of Clinical Microbiology*; 36 (2): 329-334.

Sullivan, D. J.; Moran, G.; Donnelly, S.; Gee, S.; Pinjon, E.; McCartan, B.; Shanley, D. B. & Coleman, D. C. (1999). *Candida dubliniensis*: An update. *Rev Iberoam Micol*; 16: 72-76.

Tanaka, J.; Tanaka, M.; Kawazoe, T. (2009). Longitudinal research on the oral environment of elderly wearing fixed or removable prostheses. *Journal of Prosthodontic Research*; 53: 83–88

Teixeira, M. L. & Mezzari, A. (2005). Prevalência de *Candida albicans* e *Candida* não-*albicans* em Próteses Dentárias. *NewsLab*; 70: 116-122.

Terai, H. & Shimahara, M. (2009). Usefulness of culture test and direct examination for the diagnosis of oral atrophic candidiasis. *International Journal of Dermatology*; 48: 371-373.

Thein, Z. M.; Samaranayake, Y. H. & Samaranayake, L. P. (2007). Characteristics of dual species *Candida* biofilms on denture acrylic surfaces. *Archives of Oral Biology*; 52: 1200-1208.

Urzúa, B.; Hermosilla, G.; Gamonal, J.; Morales-Bozo, I.; Canals, M.; Barahona, S.; Cóccola, C. & Cifuentes, V. (2007). Yeast diversity in the oral microbiota of subjects with periodontitis: *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* colonize the periodontal pockets. *Medical Mycology*; 46 (8): 783-793.

Vanden Abbeele, A.; de Meel, H.; Ahariz, M.; Perraudin, J. P.; Beyer, I. & Courtois, P. (2008). Denture contamination by yeasts in the elderly. *Gerodontology*; 25 (4): 222-228.

Wårdth, I.; Wikström, M. & Sörensen, S. (2004). Oral bacteria and clinical variables in dependent individuals at a special facility. *Int J Dent Hygiene*; 2; 185-192

Webb, B. C.; Thomas, C. J.; Harty, D. W. S. & Willcox, M. D. P. (1998). Effectiveness of two methods of denture sterilization. *Journal of Oral Rehabilitation*; 25: 416-423.

Webb, B. C.; Thomas, C. J. & Whittle, T. (2005). A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology*; 22: 168:176.

Willinger, B. & Manafi, M. (1999). Evaluation of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida* species. *Mycoses*; 42: 61-65.

Yücesoy, M. & Marol, S. (2003). Performance of CHROMagar *Candida* and BIGGY agar for identification of yeasts species. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*; 2: 8.

Zitzmann, N. U. & Marinello, C.P. (1999) Treatment plan for restoring the edentulous maxilla with implant-supported restorations: removable overdenture versus fixed partial denture design. *Journal of Prosthetic Dentistry*; 82: 188-196.

Zitzmann, N. U.; Hagmann, E.; Weiger, R. (2007). What is the prevalence of various types of prosthetic dental restorations in Europe? *Clin. Oral Impl. Res.*; 18 (Suppl. 3): 20-33.

Zitzmann, N. U.; Staehelin, K.; Walls, A. W.; Menghini, G.; Weiger, R. & Zemp Stutz, E. (2008). Changes in oral health over a 10-yr period in Switzerland. *Eur J Oral Sci*; 116: 52-59.