

## Colonização da cavidade bucal de crianças por *Candida* spp. – papel na etiologia da cárie dentária

### *Colonization of the oral cavity of children by Candida spp. – role in the etiology of the dental decay*

Magda E. B. Gouvêa-Mondin\*  
José F. Höfling\*\*

#### Resumo

Considerando a maior prevalência de *Candida* em presença de cárie e sendo a ocorrência desta na dentição decídua um dos maiores prevalentes problemas relacionados à saúde de crianças na primeira infância, analisou-se a prevalência de *Candida* spp. em crianças com cárie precoce na infância associada ao uso de mamadeira e o efeito do tratamento odontológico restaurador sobre a colonização desses microrganismos nos diversos sítios intrabucais (mucosa jugal, mucosa do palato, superfície da língua), biofilme dentário e saliva. Os autores descrevem uma revisão de literatura detalhada relacionada à epidemiologia de *Candida* spp. à cavidade bucal como um habitat para esses organismos, colonização inicial em crianças, aspecto da cárie dentária em crianças durante a primeira infância e a presença de *Candida* spp. na cavidade bucal de indivíduos cárie-ativos. Vários fatores envolvem a ecologia bucal de espécies de leveduras do gênero *Candida* spp. Conseqüentemente, aspectos epidemiológicos, fisiológicos, bioquímicos, genéticos, e de comportamento do hospedeiro podem contribuir para a criação de reservatórios de infecção, re-infecção e possível causa de falhas nos tratamentos devido à resistência antimicrobiana. O estudo da prevalência de *Candida* spp. na cavidade bucal humana de indivíduos cárie-ativos é importante do ponto de vista taxonômico, patogênico e epidemiológico, e a redução da incidência desses microrganismos oportunistas contribuem para se evitar a formação de reservatórios intrabucais de infecção por esses organismos e suas conseqüências no envolvimento de diversas patogêneses bucais.

Palavras-chave: *Candida*, crescimento e desenvolvimento – *Candida albicans*, crescimento e desenvolvimento – Cárie dentária, etiologia – Cárie dentária, microbiologia – Boca, microbiologia

#### Abstract

*Early childhood dental caries associated to prolonged baby bottle consumption is a significant health problem in several populations. Because Candida spp. is frequently identified in the biofilm associated to dental caries lesions, we aimed to review and analyze the data published in scientific journals with regard to the prevalence and levels of infection of these organisms in the oral cavity of children affected by early childhood caries. We have also investigated information available regarding the effect of restorative treatment on the infection levels of Candida spp. A bibliographic revision concerning to the Candida spp. epidemiology, the buccal cavity as an habitat for those microorganisms, initial colonization in children during the first childhood and the presence of Candida spp. in the oral cavity of caries-active individuals was carried out in the last fifteen years. Several factors are involved in the oral ecology of Candida species. Thus, epidemiological, physiological, biochemical and genetic aspects and also concerning to host behavior, may contribute to the initial infection, re-infection and fail of antimicrobial treatment. The study of Candida spp. prevalence in the oral cavity of caries-active humans is important under the taxonomic, pathogenic, and epidemic point of view. The decrease of these opportunists microorganisms incidence may reduce the reservoirs for dental infection.*

Key words: *Candida*, growth and development – *Candida albicans*, growth and development – Dental caries, etiology – Dental caries, microbiology – Mouth, microbiology

## Introdução

Há um interesse crescente na ecologia bucal de microrganismos oportunistas, como as espécies de leveduras do gênero *Candida*, já que o crescimento em biofilmes, como o biofilme dentário, tende a tornar

esses microrganismos menos susceptíveis a ação de agentes antimicrobianos, com implicações nas doenças causadas por esses organismos, assim como a criação de reservatórios de infecção, re-infecção e possível causa de falhas nos tratamentos devido à resistência antimicrobiana<sup>64</sup>.

\* Mestre em Biologia Buco-Dental pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas (FOP-UNICAMP). E-mail: magdabaglioni@yahoo.com

\*\* Professor Titular, Chefe do Laboratório de Microbiologia e Imunologia da FOP-UNICAMP. E-mail: hogling@fop.unicamp.br

As espécies do gênero *Candida* podem ser constituintes do biofilme aderente a diversas superfícies da cavidade bucal, como a mucosa jugal, a mucosa do palato, a superfície da língua<sup>4</sup> e a superfície dentária<sup>1,15</sup>.

A cárie dentária tem demonstrado ser um fator local que favorece a proliferação de *Candida* spp. na cavidade bucal<sup>10,46</sup>, além da hipótese de lesões de cárie podem atuar como um reservatório para esses microrganismos, em adição a outras regiões do trato gastrointestinal, contribuindo para episódios recorrentes de candidose em indivíduos imunocomprometidos<sup>15,18</sup>.

Porém, até a presente data, não tem sido estabelecido se a correlação da proliferação de *Candida* em indivíduos cárie-ativos é indireta, devido ao crescimento de *Candida albicans* ser favorecido pelas condições intra-buciais associadas à formação da cárie ou se esse microrganismo desempenha algum papel na etiologia da cárie dentária<sup>36</sup>.

Há poucos relatos sobre a colonização da cavidade bucal de crianças por *Candida* spp., em relação à presença de cáries. Crianças durante a primeira infância apresentam maior predisposição à colonização da cavidade bucal por microrganismos oportunistas, devido ao sistema imune imaturo, à microbiota bucal normal não totalmente estabelecida e ao maior número de infecções sistêmicas a que estão sujeitas, o que ressalta a importância da intensificação dos estudos relacionados à proliferação de *Candida* spp. na cavidade bucal de crianças cárie-ativas, já que a progressão do microrganismo, de um inofensivo comensal para um patógeno virulento pode ser induzida por um número variado de fatores do hospedeiro de ordem sistêmica e local, capazes de alterar o meio, prejudicando a condição de comensalismo e favorecendo o desenvolvimento da doença a partir de infecção dita endógena<sup>67</sup>.

Alguns trabalhos relatam a diminuição da prevalência de *Candida* na cavidade bucal de crianças, após o tratamento restaurador, em 90%<sup>64</sup>, e em 20%<sup>61</sup>. Porém, são poucos os estudos correlatos na literatura científica<sup>36</sup>. Considerando a maior prevalência de *Candida* em presença de cárie e sendo a ocorrência desta na dentição decídua um dos mais prevalentes problemas relacionados à saúde de crianças na primeira infância<sup>65</sup>, foi avaliado, no presente estudo, a prevalência de *Candida* spp. em crianças com cárie precoce na infância associada ao uso de mamadeira e o efeito do tratamento odontológico restaurador sobre a colonização desses microrganismos nos diversos sítios intrabuciais (mucosa jugal, mucosa do palato, superfície da língua), biofilme dentário e saliva.

## Epidemiologia

As espécies do gênero *Candida* constituem os fungos mais prevalentes na microbiota do corpo humano de indivíduos saudáveis ou imunocomprometidos. Essas espécies podem habitar diferentes sítios do corpo humano<sup>42</sup>, como a cavidade bucal, orofaringe, trato gastro-intestinal, dobras da pele, virilha e ânus de indivíduos saudáveis e canal vaginal e vulva de mulheres

saudáveis<sup>60</sup>. Em análise da literatura sobre colonização por *Candida* spp., realizada por Odds (1988)<sup>41</sup>, em seu livro *Candida and Candidosis*, a colonização da cavidade bucal foi estimada em 26% em indivíduos saudáveis e em 47% em indivíduos doentes. A colonização da região ano-retal foi 26% e 34% em indivíduos saudáveis e doentes, respectivamente. A proporção de mulheres colonizadas por *Candida* spp. no canal vaginal foi estimada em 10% e 23%, em mulheres saudáveis e doentes, respectivamente. Em todos os sítios investigados do corpo humano, *C. albicans* representou a espécie predominante (~70%) seguida por *Candida glabrata* e *Candida tropicalis* (~7% cada)<sup>41</sup>.

O principal reservatório de *Candida* spp. no corpo humano é o trato gastrointestinal, sistema que apresenta colonização por esses microrganismos em até 70% da população saudável e que é a principal fonte de infecções endógenas em pacientes imunocomprometidos<sup>47</sup>. Registros da prevalência de leveduras na cavidade bucal humana de indivíduos saudáveis variam amplamente de 2% a 71%, com média de 34%<sup>41</sup>, dependendo da população amostrada e da sensibilidade da técnica de amostragem empregada<sup>141</sup>. Em pacientes hospitalizados a prevalência de leveduras orais é cerca de 55%, variando de 13% a 76%<sup>41</sup>. As baixas contagens de *C. albicans* geralmente encontradas em indivíduos saudáveis, levam à conclusão de que os portadores possuem número inferior a 400 UFC/mL<sup>62</sup>.

*C. albicans* é a espécie predominante na microbiota bucal, constituindo 60 a 70% do total de leveduras isoladas<sup>62</sup>, enquanto as espécies *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. glabrata* e *C. guilliermondii*, representam, cada uma, menos do que 10%<sup>41</sup>.

A presença de *Candida* spp. tem sido estimada em 5,7%<sup>51</sup> em recém-nascidos, 49% na faixa etária de 3 a 5,5 anos e 65% na faixa etária de 6 a 12 anos<sup>2</sup>. Kleinegger *et al.*<sup>23</sup> (1996) demonstraram variação na frequência, densidade, diversidade das espécies e cepas de *Candida* na colonização da cavidade bucal de 172 voluntários, divididos em grupos conforme a faixa etária. Para indivíduos na faixa etária de 0,5 a 1,5 anos, a frequência da colonização por *Candida* spp. foi da ordem de 44%, sendo que 47% apresentaram densidade de colonização entre 15 a 100 UFC e somente 6% apresentaram densidade de colonização > do que 500 UFC. No outro extremo de idade, em indivíduos com 60 anos ou mais, a frequência de colonização foi 59% e entre esses, 14% apresentaram alta densidade de colonização (> 500 UFC), sendo essa diferença significativa entre os extremos de idade. *Candida albicans* foi a espécie de maior prevalência em todas as faixas etárias. Dendogramas gerados de estudos com DNA fingerprinting não revelaram que linhagens da espécie *Candida albicans* tenha especificidade por alguma idade. *Candida parapsilosis* esteve presente como comensal em 38% das crianças entre 0,5 – 1,5 anos de idade, declinando para 13% em crianças com idade entre 5-7 anos e para 5% em indivíduos com 30 anos de idade e mais velhos. *Candida guilliermondii* foi encontrada apenas na faixa etária de crianças de 0,5 a 1,5 anos (6%) e 5 a 7 anos

(13%), *C. krusei* apresentou frequência similar nestas faixas etárias e ocorreu em 6% dos indivíduos com 60 anos de idade ou mais. *C. dubliniensis* foi diagnosticada somente na faixa etária de 5 a 7 anos (13%)<sup>23</sup>.

Um hospedeiro pode estar colonizado com múltiplas espécies ou múltiplos genótipos da mesma espécie, no mesmo sítio anatômico ou em sítios diferentes, indicando um processo dinâmico de colonização por leveduras. Embora um único genótipo geralmente predomine em um dos sítios do mesmo indivíduo<sup>28,63</sup>.

### **A cavidade bucal como um habitat para *Candida* spp.**

Devido à capacidade de aderência de *Candida* spp. a diversas superfícies presentes na cavidade bucal, esses microrganismos podem ser isolados de vários sítios bucais, com maior frequência do dorso da língua, mas também de outras mucosas orais, superfícies dentárias, sulco gengival, tecido dentário cariado, canal radicular e da saliva.<sup>1,3,18,23</sup>

Além de serem recuperadas da cavidade bucal saudável, leveduras também têm sido encontradas em cavidades bucais apresentando doenças dentais, assim como cárie de esmalte<sup>15,64</sup>, cáries de raiz<sup>31</sup> e doença periodontal<sup>49</sup>, mas o papel das leveduras na etiologia destas doenças permanece desconhecido.

*Candida* spp. adere pobremente à superfície dentária limpa. No entanto, quando essa superfície é banhada pela saliva, esta é adsorvida a uma película que contém proteínas (amilase, laminina, albumina, imunoglobulinas, proteínas ricas em prolinas, entre outras), glicosiltransferases e glucanos bacterianos, além de fatores séricos tais como fibronectina e fragmentos C325, que podem promover a aderência de *C. albicans* aos dentes através de vários mecanismos (hidrofobicidade, ligação proteína-proteína). Outros fatores salivares, como lisozimas<sup>65</sup>, histatinas<sup>19</sup>, peroxidases<sup>27</sup> e lactoferrinas<sup>40</sup>, inibem a colonização por leveduras, sendo que a redução da secreção salivar pode resultar em proliferação de leveduras devido à diminuição desses fatores. A saliva também contém nutrientes, como a glicose, que facilitam a proliferação de leveduras<sup>24,54</sup>.

As superfícies epiteliais também apresentam proteínas salivares aderidas, como a transglutaminase, uma enzima epitelial aderida à membrana que se liga covalentemente às proteínas ricas em prolinas (PRPs) ácidas. A distribuição desigual de *Candida albicans* na cavidade bucal presumivelmente reflete a distribuição e acessibilidade a receptores aos quais esse microrganismo pode aderir<sup>5</sup>.

As espécies de *Candida* geralmente apresentam crescimento ótimo sob condições aeróbicas, mas também são capazes de crescer em elevada concentração de CO<sub>2</sub> no ar<sup>69</sup>. Relatos da capacidade de *C. albicans* crescer em anaerobiose têm sido equívocos<sup>22,69</sup>. Alguns sítios bucais com baixa tensão de oxigênio, como o sulco gengival e bolsas periodontais podem não favorecer a proliferação de *Candida*. Anaeróbios crescem bem em baixa tensão de oxigênio<sup>30</sup>, potencial de óxido-redução negativo e pH básico<sup>12</sup>, um ambiente desfavorável

para o crescimento de leveduras. No entanto, *Candida* spp. tem sido isolada do sulco gengival e de bolsas periodontais<sup>59</sup>. Acredita-se que esses microrganismos são meramente circunstanciais nesses sítios, indicando colonização ou mesmo doença causada por *Candida* spp. em outras superfícies bucais. Por outro lado, é possível que mudanças ecológicas, como as que ocorrem devido ao uso de antibióticos<sup>49</sup> ou doenças e terapias imunocomprometedoras<sup>59</sup> possam levar ao supercrescimento subgengival de leveduras.

*Candida* spp. também interagem com outros microrganismos e produtos microbianos no complexo biofilme que cobre as superfícies bucais<sup>16</sup>. Tem sido demonstrado que *Candida albicans* adere a bactérias como *Streptococcus viridans*, *Fusobacterium*, e *Actinomyces*<sup>17,20</sup>.

Negróni *et al.*<sup>39</sup> (2002) avaliaram a colonização da mucosa bucal por *Candida* e a adesividade das cepas. Amostras foram obtidas do dorso da língua de 70 estudantes com idade média de 23 anos, com cavidade bucal saudável. Destes, 21,42% foram positivos para *Candida*, sendo identificadas as espécies *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*. Em apenas um caso foi relatado o isolamento de duas espécies (*C. albicans* e *C. guilliermondii*) no mesmo indivíduo. A virulência foi determinada como capacidade de aderência ao biofilme ou formação de placa *in vitro* e hidrofobicidade. A aderência entre as cepas de *C. albicans* foi similar, entretanto, diferenças significantes foram encontradas entre as espécies *C. albicans* e *C. parapsilosis* e entre *C. albicans* e *C. guilliermondii*.

### **Colonização inicial em crianças por *Candida* spp.**

Leveduras pertencentes ao gênero *Candida* são habitantes comuns da cavidade bucal não apenas de adultos, como de crianças<sup>10,14,23</sup>. A colonização assintomática por *Candida* spp. tem sido extensivamente estudada em adultos e os fatores predisponentes amplamente determinados. Em contraste, há poucos estudos em crianças durante a primeira infância, a maioria destes conduzidos em bebês internados em unidades hospitalares de cuidados especiais, sistemicamente comprometidos ou em neonatos prematuros. Geralmente as idades dos indivíduos examinados nesses estudos variam consideravelmente e alguns trabalhos têm considerado somente a espécie *C. albicans*, não relatando a presença de outras espécies, ou ainda considerando apenas "leveduras-semelhantes a fungos", gerando resultados conflitantes<sup>26,51,57</sup>.

As potenciais fontes de leveduras para a colonização primária da cavidade bucal de bebês são pouco conhecidas. A cavidade bucal do neonato pode ser infectada por leveduras do gênero *Candida* durante o parto normal, devido à deglutição de gotículas da secreção vaginal durante a passagem pelo canal de parto. Entretanto, nestes casos, é necessário que a mãe apresente vulvovaginite blastomicética, comum no terceiro trimestre da gravidez, devido ao aumento do glicogênio nas células da mucosa vaginal, pela ação das estrinas. Estudos sobre transmissão horizontal e vertical têm demons-

trado que cepas de *Candida* de origem materna e de neonatos são idênticas em 14% das vezes. A espécie mais frequentemente encontrada em tais ocasiões é a *C. albicans*, não tendo sido observado que bebês possam adquirir outras espécies de suas mães durante o parto<sup>68</sup>.

Algumas horas após o nascimento, a cavidade bucal do recém-nascido adquire sua colonização pioneira e as possíveis fontes de microrganismos para a cavidade bucal deste são as mãos, pele e cavidade bucal dos pais ou de pessoas que cuidam do bebê, sendo que a não observância dos princípios de biossegurança no ambiente hospitalar, associado à fragilidade dos mecanismos de defesa orgânica do recém-nascido, deixa-o exposto aos riscos de contaminação ainda no próprio ambiente hospitalar, sendo que bebês prematuros e de baixo peso são os mais expostos à contaminação<sup>62</sup>.

Saiman *et al.*<sup>52</sup> (2001) recuperaram 2.989 leveduras isoladas de amostras das mãos de atendentes saudáveis de um centro de cuidados intensivos neonatal, 19% dos atendentes foram positivos para *C. parapsilosis* e 5% foram positivos para *C. albicans*. No entanto, entre 2.157 bebês atendidos nesse centro, houve maior prevalência para *C. albicans* (14%), seguida de *C. parapsilosis* (7%) e outras espécies de *Candida* (3%). Segundo os autores, a principal fonte de *C. parapsilosis* para bebês internados em centros de cuidados intensivos são as mãos dos atendentes que têm contato direto com as crianças.

Russel e Lay<sup>51</sup> (1973) detectaram, através de um estudo longitudinal, a presença de espécies de *Candida* e leveduras em bebês, do dia do nascimento até completarem um ano de idade. As amostras foram coletadas através de swab da mucosa vestibular, mucosa jugal e sublingual da cavidade bucal. A prevalência de *Candida* foi de 5,7% nas primeiras horas após o nascimento, aumentando após o retorno das crianças para o ambiente domiciliar e atingindo 82% após quatro semanas, mas declinando para 50% em 1 ano. *C. albicans* representou a espécie predominante (56%) seguida em menor proporção por *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. pseudotropicalis*. Estimativas do anticorpo sérico neonatal para *C. albicans*, não teve correlação com a colonização oral inicial ou subsequente pelo organismo.

Alguns autores relatam a predominância de *C. parapsilosis* em amostras salivares de crianças saudáveis, positivas para leveduras, nas faixas etárias de 12 a 24 meses 14 e 15 dias a 16 meses de idade<sup>9</sup>. Entretanto, em estudo realizado por Kleinegger *et al.*<sup>23</sup> (1996), *C. albicans* foi a mais freqüente espécie detectada em crianças acima de dois anos de idade, sendo *C. parapsilosis* a segunda espécie mais freqüentemente encontrada.

Martin e Wilkinson<sup>34</sup> (1983) isolaram leveduras da mucosa do palato duro e de um "pool" de saliva de 122 crianças, com média de idade de 9 anos e 10 meses, sendo 63 meninos e 59 meninas. Do total da amostra 71,3% foram positivos para leveduras. A colonização foi três vezes maior nas meninas do que nos meninos. As espécies isoladas foram *C. albicans* (71%), sendo 71,5% dessas do sorotipo A e 26,3% do sorotipo B; *Saccharomyces spp.* (19,7%) e *C. tropicalis* (8,6%).

A recuperação de leveduras da cavidade bucal na in-

fância tem sido associada ao uso de chupeta, má-nutrição, infecções respiratórias, irrompimento do primeiro dente após os seis meses de idade, hábitos maternos como "esfriar" a comida da criança assoprando-a, e "limpar" a chupeta da criança com a boca, uso de mamadeira noturna contendo soluções açucaradas, múltiplas lesões de cárie na cavidade bucal, higiene bucal deficiente, terapia antibiótica, idade e sexo<sup>10,14,43,46,58</sup>.

Segundo Sio *et al.*<sup>58</sup> (1987) o hábito de usar chupeta pode perturbar o ecossistema microbiano da cavidade bucal, resultando em um aumento da recuperação de leveduras orais, quando comparado a crianças que não apresentam este hábito.

Ollila *et al.*<sup>43</sup> (1997) avaliaram a ocorrência de Lactobacilos e *Candida* nas amostras salivares de 166 crianças na idade de 1-4 anos (média de 2,5 anos) em relação aos possíveis fatores de risco para a colonização desses microrganismos. Os fatores de risco examinados foram hábitos de sucção, hábitos de alimentação, sintomas de infecções respiratórias e terapia antibiótica, ao tempo da amostragem. Lactobacilos ocorreram em 18% das amostras salivares das crianças e *Candida* em 24%. Houve forte associação entre a ocorrência de lactobacilos e o uso de chupetas e terapia antibiótica. A associação entre teste positivo para *Candida* e uso de chupeta também foi significativa. O uso de mamadeira noturna apresentou menor influência sobre a colonização por *Candida spp.* do que o uso de chupeta. A associação entre uso de chupeta e mamadeira noturna aumentou a prevalência de *Candida spp.* em crianças menores de dois anos de idade. Os autores sugerem que o uso de chupeta aumenta a ocorrência salivar de lactobacilos e *Candida spp.* em crianças.

Darwazeh e Al-Bashir<sup>10</sup> (1995) investigaram semi-quantitativamente a colonização assintomática da cavidade bucal por *Candida* em uma população de bebês saudáveis (206), sendo 115 (55,8%) meninos e 91 (44,2%) meninas, entre 2 a 11 meses de idade, determinando sua relação com a idade, sexo, padrão alimentar e uso de chupeta. A relação entre a história de candidose vaginal materna e colonização da cavidade bucal dos bebês também foi investigada. Foram coletadas amostras do dorso da língua, mucosa bucal e palato de todas as crianças. A densidade das leveduras foi estimada como baixa (< 10 colônias), moderada (entre 11 e 50 colônias) ou alta (> 50 colônias). Espécies de *Candida* foram isoladas de 48% dos bebês, sem relação significativa com a idade, sexo ou entre bebês que mavam no peito materno ou em mamadeira. Similarmente, mães com história de candidose vaginal, não apresentaram relação significativa com a colonização bucal das crianças por *Candida*. Quando a densidade do isolamento de *Candida* foi comparada entre um grupo que usava chupeta e outro que não usava, houve alta proporção de isolados (> que 50 colônias) no grupo que utilizava chupeta, embora não significativa ( $p = 0.22$ ). *Candida albicans* foi a espécie mais freqüentemente isolada (30,6%), seguida por *Candida parapsilosis* (5,8%), o que é confirmado por outros estudos em bebês<sup>26,32,51,57</sup>. Outras espécies recuperadas foram:

*C. pseudotropicalis* (4,8%), *C. tropicalis* (2,4%), *C. krusei* (1,4%), *C. glabrata*, *C. lusitanae*, *C. famata* e *C. cerevisiae* (1% cada). Isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram encontrados simultaneamente em dois indivíduos.

Hannula *et al.*<sup>14</sup> (1999) determinaram a ocorrência e estabilidade da colonização bucal por diferentes espécies de *Candida* de 40 crianças saudáveis durante 22 meses, nas idades de 2, 6, 12, 18 e 24 meses. Amostras salivares das mães foram coletadas na primeira coleta das crianças (aos 2 meses) para determinar o papel da mãe como possível fonte de leveduras para a criança. Leveduras foram recuperadas pelo menos uma vez em 43% (17/40) das crianças até a idade de 2 anos; 28% (11/40) foram positivas para leveduras em múltiplas ocasiões de amostragem. Nenhuma diferença significativa foi encontrada na frequência da recuperação de leveduras em diferentes idades (18% de crianças positivas com idade de 2 meses, 13% aos 6 meses, 20% aos 12 meses, 20% aos 18 meses e 13% aos 24 meses). *Candida parapsilosis* foi isolada em 55% (18/33) das crianças levedura-positivas, e predominou nas idades de 12 a 24 meses. A mesma espécie de levedura raramente foi detectada em amostragens sucessivas. Das mães, 50% (20/40) apresentaram leveduras. *C. albicans* foi recuperada de 95% (19/20) das mães levedura-positivas e *C. parapsilosis* de nenhuma das mães. Somente 35% (7/20) dos pares de mãe/criança foram positivos para leveduras e desses, 71% (5/7) apresentaram a mesma espécie de levedura (*C. albicans*), mas somente 3 destes pares (60%), apresentaram perfis de AP-PCR dos isolados de leveduras idênticos, sugerindo possível transmissão. Os autores sugerem que em contraste com a colonização bucal por *Candida* spp. em adultos, a colonização em crianças parece ser inconsistente, sugerindo que estes são colonizadores transitórios nesta população ou que a ocorrência de *Candida* spp. em amostras bucais de crianças com pouca idade possa ser subestimada devido às técnicas de amostragem empregadas.

Segundo Russell e Lay<sup>51</sup> (1973) mudanças na prevalência de leveduras orais ao longo da primeira infância ocorrem devido às mudanças simultâneas no desenvolvimento da microbiota bucal.

### **Cárie dentária em crianças durante a primeira infância**

A cárie dentária é considerada uma doença infecciosa e multifatorial. Os Estreptococos do grupo mutans, principalmente *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus*, são considerados os principais agentes etiológicos da doença cárie, sendo que Lactobacilos e outros microrganismos participam da progressão da doença<sup>29</sup>.

Na dentição decídua, a cárie dentária está entre os mais prevalentes problemas relacionados à saúde de bebês e crianças durante a primeira infância<sup>55</sup>. A chamada "cárie de mamadeira" (na língua inglesa geralmente denominada *nursing bottle caries*, *baby bottle syndrome*, *milk bottle syndrome* ou *baby bottle tooth decay*) é a forma mais comum de manifestação da cárie rampante em

crianças muito jovens e resultam basicamente da interação de três variáveis: (1) colonização prévia das superfícies dentárias por microrganismos patogênicos, o que geralmente ocorre durante a infância<sup>6</sup>; (2) presença de carboidratos fermentáveis que os microrganismos metabolizam a ácidos orgânicos e que neste caso são oferecidos à criança através de mamadeiras contendo leite açucarado, ou qualquer outra solução rica em açúcares, várias vezes ao dia, entre as refeições principais, inclusive durante a noite; (3) superfícies dentárias susceptíveis a desmineralização ácida. Concomitantemente à presença dessas variáveis, o fator tempo apresenta papel preponderante na progressão da doença em relação à frequência e quantidade de exposição à dieta cariogênica e duração do hábito deletério, que afetam a severidade das lesões e o número de dentes envolvidos<sup>50</sup>. Derkson e Ponti<sup>11</sup> (1982), relataram que crianças com cárie de mamadeira praticam o hábito de mamar cerca de 8,3 h/dia comparado com 2,2 h/dia para crianças sem a doença. Podem também estar associados à doença, hábitos como adoçar chupetas com mel, açúcar ou xaropes, uso da mamadeira por tempo prolongado, além dos 12 meses de idade<sup>50</sup> e ausência de higiene adequada. À noite, o fluxo salivar é fisiologicamente reduzido ou praticamente nulo, ocorrendo estagnação de carboidratos no biofilme dentário, por horas seguidas.

Os primeiros sinais clínicos da cárie precoce na infância, especificamente associada ao uso de mamadeira, são caracterizados por presença de uma "mancha branca" opaca (lesão cariosa subsuperficial, pré-clínica, desmineralizada), acompanhando a linha da gengiva na superfície vestibular dos incisivos decíduos superiores. Se o processo não for interrompido, as lesões evoluem para cavitação e os próximos dentes a serem atacados são os primeiros molares superiores e inferiores decíduos, seguidos pelas faces vestibulares dos caninos decíduos e oclusais dos segundos molares decíduos. Nesta fase, provavelmente já foram destruídas as coroas dos dentes anteriores superiores decíduos. A característica clínica da cárie de mamadeira constitui-se na ausência de lesões nos incisivos inferiores decíduos<sup>35,50</sup>.

No Brasil, a prevalência de cavidades de cárie em relação à idade das crianças tem sido estimada em 10% aos 12 meses de idade; 50% aos 36 meses<sup>38</sup>; 11% na faixa etária entre 0 a 2 anos e 26% na faixa etária entre 3 a 4 anos<sup>56</sup>. Na cidade de Piracicaba – SP, em estudo realizado com 322 crianças entre 6 e 36 meses de idade, observou-se uma prevalência de cárie em 0%, 3%, 14%, 38% e 48,5%, nas faixas etárias de 6 a 12 meses, 13 a 18 meses, 19 a 24 meses, 25 a 30 meses e 31 a 36 meses, respectivamente<sup>35</sup>.

### **Presença de *Candida* spp. na cavidade bucal de indivíduos cárie-ativos**

Leveduras são mais prevalentes na saliva e biofilme dentário de indivíduos cárie-ativos do que livres de cáries<sup>13,15,48</sup>. Entretanto, não está estabelecido se leveduras orais desempenham algum papel na etiologia da doença cárie.

Estudos *in vitro* têm confirmado o alto potencial acidogênico de *C. albicans*<sup>53,54</sup>. Os ácidos produzidos por *C. albicans* são acetato, piruvato, formato e propionato, que mostram citotoxicidade direta. No entanto, é consenso que a cariogenicidade depende não somente do pH terminal, mas também de vários fatores, incluindo a capacidade do microrganismo em colonizar a superfície dentária<sup>7</sup>. Kaminishi *et al.*<sup>21</sup> (1986) caracterizaram uma enzima colagenolítica produzida por este microrganismo capaz de desnaturar o colágeno da dentina humana. Sen *et al.*<sup>56</sup> (1997) observaram através de microscopia eletrônica de varredura, que as hifas de *C. albicans* podem penetrar em micro-rachaduras na superfície dentária, migrando para o interior dos túbulos dentinários. No entanto, este comportamento ecológico de *C. albicans* deve ser investigado em relação às condições *in vivo*.

Apesar do considerável volume de pesquisas sobre a cárie, há poucos registros sobre *Candida* spp. na microbiota do biofilme dentário<sup>19,49</sup>. Existe a hipótese de que se uma pequena quantidade de leveduras for incorporada ao biofilme dentário ou ao tecido dentário cariado, estes poderiam servir como reservatórios, junto a outras regiões do trato gastro-intestinal, para episódios recorrentes de candidose oral em indivíduos imunocomprometidos<sup>18</sup>. Uma periculosidade adicional pode haver em crianças com cárie precoce na infância na presença de leveduras, particularmente aquelas com comprometimento do sistema imune, considerando os problemas sistêmicos desenvolvidos em função da cárie em crianças na primeira infância, e que podem ser agravados por esses microrganismos patogênicos considerados oportunistas na cavidade bucal<sup>10,15,33</sup>.

A recuperação de *Candida* spp. de indivíduos cárie-ativos tem sido extensivamente estudada em portadores de doenças imunocomprometedoras, incluindo diversas síndromes, AIDS, diabetes e câncer, já que essa população sofre freqüentemente de lesões bucodentais, com tendência a apresentarem múltiplas cavidades de cárie e maior prevalência de *Candida* spp. na cavidade bucal, favorecendo o surgimento de candidoses<sup>18</sup>. São poucos os estudos que relacionaram o saprofitismo bucal por *Candida* spp. e o estado de saúde dos dentes em indivíduos saudáveis.

Hodson e Craig<sup>15</sup> (1972) avaliaram a prevalência de microrganismos com aparência morfológica semelhante a *C. albicans* em crianças com cárie, na faixa etária de 3 a 6 anos, particularmente do tipo associado com o uso de chupeta embebida em substâncias açucaradas e aleitamento artificial. Este grupo de crianças apresentava pobre higiene bucal e alta incidência de cáries. Adicionalmente, os autores investigaram histologicamente a presença de leveduras em 30 cavidades de cárie de dentes extraídos dessas crianças. A recuperação de leveduras foi de 56% (18/32) e 90% (27/30) no biofilme dentário e cavidades de cárie, respectivamente. As crianças cárie-ativas foram comparadas com um grupo livre de cáries, sendo que a incidência de leveduras no biofilme dentário do primeiro grupo foi quase o dobro da apresentada no grupo livre de cáries. Embora a amostra tenha consistido de um número pequeno de

crianças, em um estudo piloto, os resultados sugeriram que uma alta incidência de leveduras pode ser esperada em crianças com muitas lesões de cárie. Segundo os autores, a influência de lesões de cárie sobre a proliferação de leveduras na cavidade bucal parece ser maior do que o alto consumo de doces açucarados e o uso de chupeta pelas crianças.

Wetzel *et al.*<sup>70</sup> (1993) relacionaram a síndrome da cárie de mamadeira com o aumento da presença de *Candida albicans* isolada da saliva e de material cariado de 46 crianças entre 23 e 77 meses de idade. Segundo os autores, o hábito do uso da mamadeira que se estenda por tempo superior aos 12 meses de idade, leva não somente à problemática da doença cárie, mas também à mudanças patológicas na microbiota bucal, sendo que a invasão por *Candida* spp. deveria levar a reconsiderar o desenvolvimento de cárie em bebês.

Marchant *et al.*<sup>33</sup> (2001) estudaram a microbiota predominante nas lesões de cárie de mamadeira. Amostras da dentina infectada de 52 dentes decíduos cariados, de uma amostra de 14 crianças com cárie de mamadeira, foram estudadas e comparadas com a microbiota da superfície do esmalte saudável de crianças livres de cárie. A bactéria *Streptococcus mutans* apresentou proporção significativamente maior nas lesões, enquanto *S. oralis*, *S. sanguis* e *S. gordonii* apresentaram proporção significativamente maior no biofilme do que em amostras das lesões. *Actinomyces israelii* constituiu 18,2% da microbiota das lesões, mas não foi isolado de amostras do biofilme. As espécies *C. albicans*, *Lactobacillus* spp. e *Veillonella* spp. também apresentaram significativa maior proporção na dentina cariada do que nas amostras do biofilme. Os autores sugerem uma etiologia não-específica para as cáries de início precoce na infância, nas quais as características fisiológicas da microbiota infectante, na sua composição, são determinantes no processo da doença.

Moalic *et al.*<sup>36</sup> (2001) realizaram um estudo epidemiológico em 353 estudantes, com idade média de 21,3 anos, para determinar a relação potencial entre a presença de *C. albicans* na cavidade bucal e o estado de saúde dos dentes. O valor médio do índice CPO da amostra foi 7,6 e a freqüência da colonização foi 58,6%, sendo *C. albicans* presente em 93,7% dos casos. A maior prevalência de *C. albicans* foi relacionada ao sexo masculino, a fumantes, pH intrabucal inferior a 7, biofilme dentário abundante e tempo decorrido desde a última higienização dentária superior a 8 horas. Houve relação positiva entre a presença de cárie e densidade de *C. albicans* (UFC). Segundo os autores, embora seja difícil estabelecer o papel específico de cada fator, os resultados sugerem que pesquisas futuras são necessárias para elucidar o possível papel de *C. albicans* na etiologia da cárie.

Em estudo realizado por Radford *et al.*<sup>48</sup> (2000) *S. mutans*, *Lactobacillus* e leveduras foram isolados significativamente com maior freqüência de crianças com um ano de idade e com cárie, comparadas com crianças livres de cárie. O padrão sócioeconômico dessas crianças foi determinante apenas na freqüência de isolamen-

to de leveduras, sendo que as crianças residentes em áreas de maior carência também apresentaram maior presença de cárie, comparadas às crianças provenientes de áreas mais favorecidas.

Moreira *et al.*<sup>37</sup> (2001) avaliaram biotipos de *Candida* spp. da cavidade bucal de 239 escolares distribuídos em cinco categorias socioeconômicas (A a E) em Piracicaba – SP, Brasil. As amostras da saliva foram analisadas quanto ao fluxo salivar, pH, capacidade tampão e parâmetros microbianos. A prevalência de *Candida* spp. na amostra foi de 47,3%. A espécie mais comum em todas as categorias socioeconômicas foi *C. albicans*, seguida por *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Não houve relação estatística significativa entre o fluxo e capacidade tampão salivar e UFC/ml de *Candida* spp. A prevalência de *Candida* spp. não diferiu substancialmente entre os grupos; no entanto, houve maior ocorrência nas categorias socioeconômicas menos favorecidas (classes B e C). Somente em 5% da amostra houve ocorrência de mais de uma espécie (*C. albicans* associada a *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ou *C. krusei*). Houve ainda, significativa relação entre o índice de cárie e categorias socioeconômicas e não houve relação positiva entre o risco de cárie e a presença de *Candida* na cavidade bucal.

A avaliação do crescimento de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Candida* spp., tem sido proposta como teste auxiliar na determinação do risco de cárie, juntamente com a contagem de colônias de outros microrganismos relacionados à cárie, como *Streptococos* do grupo *mutans* e *Lactobacillus*, associados a testes salivares como a determinação do fluxo salivar e capacidade tampão<sup>13,44,45</sup>.

Parvinen e Larmas<sup>44</sup> (1981) avaliaram a relação do fluxo e pH salivar com a concentração de *Lactobacillus* e leveduras na saliva. O estudo foi conduzido em uma amostra de 642 indivíduos adultos (acima de 30 anos), incluindo 316 mulheres e 326 homens. A recuperação de leveduras orais foi inversamente proporcional ao aumento do fluxo e pH salivar. Para fluxo salivar  $\leq$  a 5 ml/5min, leveduras foram recuperadas em 84% da população feminina e 76% da população masculina. Para valores do fluxo salivar que excederam 15ml/5min, a recuperação de leveduras diminuiu para 44% na população feminina e 41% na população masculina.

Pienihäkkinen *et al.*<sup>46</sup> (1987) compararam, em um estudo longitudinal, os resultados obtidos anualmente de avaliações da presença e quantidade de *Lactobacillus* e leveduras salivares em 298 crianças (de 6 a 11 anos de idade), para distinguir indivíduos de alto ou baixo risco à cárie. Os resultados demonstraram que a presença de leveduras salivares é mais significativa para o prognóstico de cárie do que a avaliação do número de *Lactobacillus* salivares, projetando o aumento de cárie em 3 anos. A sensibilidade e especificidade de leveduras como teste de risco de cárie foi 74% e 75%, respectivamente, quando combinadas com *Lactobacillus* os valores foram 69% e 83%, respectivamente. Segundo os autores, indivíduos com densidade de leveduras salivares superior a 400 UFC/ml, apresentam atividade de cárie acentuada.

Gárbis *et al.*<sup>13</sup> (1999) avaliaram a associação de testes salivares e microbiológicos de cárie e experiência de cárie em 349 adolescentes húngaros na faixa etária de 14 a 16 anos. A proporção de adolescentes livres de cárie foi 4,6% da amostra total, os valores de CPOD foram  $7,24 \pm 4,86$  e os valores de CPOS foram  $10,50 \pm 8,35$ ; baixa capacidade tampão foi relatada em 6,3% das crianças examinadas. A proporção de hospedeiros de *S. mutans*, *Lactobacillus* e leveduras na saliva foi 89,7; 73,9 e 47,7%, respectivamente. Houve correlação significativa entre os índices CPOD, CPOS e contagens microbiológicas salivares.

Há poucos dados na literatura específica sobre o efeito do tratamento dentário na redução da densidade de *Candida* spp. na cavidade bucal. Starr *et al.*<sup>61</sup> (2002) investigaram a prevalência de *C. albicans* em 150 crianças, na faixa etária de 8 a 11 anos, durante 3 anos. A maioria das crianças nunca tinha sido submetida a tratamento odontológico anteriormente. Foram realizadas amostras com swab da mucosa jugal e gengiva em cinco ocasiões: pré-tratamento dentário, 3 a 7 meses após o tratamento e 12-, 24- e 36 meses pós-tratamento dentário. As crianças eram sistemicamente saudáveis e todas apresentavam cárie no início do tratamento. Em cada visita sucessiva, respectivamente, 47%, 32%, 21%, 27% e 28% das crianças foram positivas para *C. albicans* em cada sítio amostrado, resultando em redução de quase 50% na prevalência desses microrganismos, da época da primeira amostragem até 36 meses após o tratamento dentário e os cuidados de higiene oral ( $p < 0.0005$ ). A contagem média de *C. albicans* entre crianças foi de 900 a 2500 UFC/ml, dependendo do sítio amostrado e período de avaliação. O número de UFC/ml de *C. albicans* da mucosa jugal e gengiva foram altamente correlacionados em cada visita (coeficiente de correlação não-paramétrico 0,65 a 0,79,  $p < 0,00005$ ). No entanto, crianças colonizadas por *C. albicans* mantiveram a colonização ao longo do tempo, mesmo após o tratamento.

Sziegoleit *et al.*<sup>64</sup> (1999) avaliaram o efeito do tratamento dentário e/ou aplicação local de anfotericina B na colonização bucal por *Candida* spp. Amostras da saliva e das lesões de cárie foram obtidos de 54 crianças e adolescentes cárie-ativos e meninos e meninas livres de cárie. Espécies de *Candida* spp. foram isoladas da saliva de 36 (66,7%) dos indivíduos cárie-ativos, mas da saliva de somente um (2%) dos indivíduos livres de cárie. *Candida* spp. foi detectada em material removido das lesões de cárie de 44 (81,5%) das crianças cárie-ativas. Pacientes com lesões de cárie e colonizados por *Candida* spp. foram randomicamente divididos em três grupos de 10 indivíduos cada e tratados por restauração dentária completa, aplicação local de anfotericina B ou combinação de ambos os tratamentos. O controle microbiológico final demonstrou que, quando somente o tratamento dentário foi aplicado, este eliminou 90% dos fungos da cavidade bucal, enquanto a aplicação local de anfotericina B como único tratamento apresentou um efeito mínimo sobre a colonização por *Candida* spp. nas lesões de cárie. Quando, adicionalmente ao tratamento

dentário, anfotericina B foi aplicada, os fungos foram completamente eliminados da cavidade bucal de todos os indivíduos.

### Conclusão

O estudo da prevalência de *Candida* spp. na cavidade bucal humana de indivíduos cárie-ativos é im-

portante do ponto de vista taxonômico, patogênico e epidemiológico, e a redução da incidência desses microrganismos oportunistas pode contribuir para se evitar a formação de reservatórios intrabucais de infecção por esses microrganismos e suas consequências no envolvimento de diversas patologias bucais.

### Referências

1. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* 1980; 25(1):1-10.
2. Berdicevsky I, Ben-Aryeh H, Szargel R, Gutman D. Oral *Candida* in children. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984 Jan; 57(1):37-40.
3. Borrromeo GL, McCullough MJ, Reade PC. Quantitation and morphotyping of *Candida albicans* from healthy mouths and from mouths affected by erythematous candidosis. *J Med Vet Mycol* 1992; 30(6):477-80.
4. Cannon RD, Chaffin WL. Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10(3):359-83.
5. Cannon RD, Nand AK, Jenkinson HF. Adherence of *Candida albicans* to human salivary components adsorbed to hidroxyapatite. *Microbiology* 1995 Jan; 141(1):213-9.
6. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of *mutans streptococci* by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 1993 Jan; 72(1):37-45.
7. Clarkson BH, Krell D, Wefel JS, Crall J, Feagin FF. In vitro caries-like lesions production by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces viscosus* using sucrose and starch. *J Dent Res* 1987 Mar; 66(3):795-8.
8. Contreras I, Ponton J, Quindos G. Prevalence of *Candida parapsilosis* in the oral cavities of infants in Spain. *Clin Infect Dis* 1994 Mar; 18(3):480-1.
9. Coulter WA, Murray SD, Kinirons MJ. The use of a concentrated oral rinse culture technique to sample oral *Candida* and lactobacilli in children, and the relationship between *Candida* and *lactobacilli* levels and dental caries experience: a pilot study. *Int J Paediatr Dent* 1993 Mar; 3(1):17-21.
10. Darwazeh AM, Al-Bashir A. Oral candidal flora in healthy infants. *J Oral Pathol Med* 1995 Sep; 24(8):361-4.
11. Derkson GD, Ponti P. Nursing bottle syndrome: prevalence and etiology in a nonfluoridated city. *J Can Dent Assoc* 1982 Jun; 48(6):389-93.
12. Eggert FM, Drewell L, Bigelow JÁ, Speck JE, Goldner M. The pH of gingival crevices and periodontal pockets in children, teenagers and adults. *Arch Oral Biol* 1991; 36(3):233-8.
13. Gárbis K, Nagy G, Madléna M, Dénes ZS, Márton S, Zeszthelyi G *et al.* Associations between microbiological and salivary caries activity tests and caries experience in Hungarian adolescents. *Caries Res* 1999 May-Jun; 33(3):191-5.
14. Hannula J, Saarela M, Jousimies-Somer H, Takala A, Syrjanen R, Konönen E *et al.* Age-related acquisition of oral and nasopharyngeal yeast species and stability of colonization in young children. *Oral Microbiol Immunol* 1999 Jun; 14(3):176-82.
15. Hodson JJ, Craig GT. The incidence of *Candida albicans* in the plaques of teeth of children. *Dent Pract Dent Rec* 1972; 22:296-301.
16. Holmes AR, Cannon RD, Jenkinson HF. Interactions of *Candida albicans* with bacteria and salivary molecules in oral biofilms. *J Ind Microbiol* 1995 Sep; 15(3):208-13.



17. Holmes AR, Roderick McNAB, Jenkinson HF. *Candida albicans* binding to the oral bacterium *Streptococcus gordonii* involves multiple adhesin-receptor interactions. *Infect Immun* 1996 Nov; 64(11):4680-5.
18. Jacob LS, Flaitz CM, Nichols CM, Hicks MJ. Role of dentinal carious lesions in the pathogenesis of oral candidiasis in HIV infection. *J Am Dent Assoc* 1998 Feb; 129(2):187-94.
19. Jainkittivong A, Johnson DA, Yeh CK. The relationship between salivary histatin levels and oral yeast carriage. *Oral Microbiol Immunol* 1998 Jun; 13(3):181-7.
20. Jenkinson IIF, Lala IIC, Shepherd MG. Coaggregation of *Streptococcus sanguis* and other streptococci with *Candida albicans*. *Infect Immun* 1990; 58:1429-36.
21. Kaminishi H, Hagihara Y, Hayashi S, Cho T. Isolation and characteristics of collagenolytic enzyme produced by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1986 Aug; 53(2):312-6.
22. Kennedy MJ. Inhibition of *Candida albicans* by the anaerobic oral flora of mice *in vitro*. *Sabouraudia* 1981; 19:205-8.
23. Kleinegger CL, Lockhart SR, Vargas K, Soll DR. Frequency, intensity, species, and strains of oral *Candida* vary as a function of host age. *J Clin Microbiol* 1996 Sep; 34(9):2246-54.
24. Knight L, Fletcher, J. Growth of *Candida albicans* in saliva: stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids, and *diabetes mellitus*. *J Infect Dis* 1971 Apr; 123(4):371-7.
25. Lamkin MS, Oppenheim FG. Structural features of salivary function. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4(3-4):251-9.
26. Lay KM, Russel C. *Candida* species and yeasts in mouth of infants from special care of maternity hospital. *Arch Dis Child* 1977 Oct; 52(10):794-6.
27. Lenander-Lumikari, M. Inhibition of *Candida albicans* by the peroxidase/SCN-/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system. *Oral Microbiol Immunol* 1992 Oct; 7(5):315-20.
28. Lockhart SR, Reed BD, Pierson CL, Soll DR. Most frequent scenario for recurrent *Candida* vaginitis is strain maintenance with "substrain shuffling": demonstration by sequential DNA fingerprinting with probes Ca3, C1, and CARE2. *J Clin Microbiol* 1996 Apr; 34(4):767-77.
29. Loesche WJ. *Cárie dental: uma infecção tratável*. São Paulo: Editora Cultura Médica; 1993.
30. Loesche WJ, Gusberti F, Mettraux G, Higgins T, Syed S. Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. *Infect Immun* 1983 Nov; 42(2):659-67.
31. Lynch E, Beighton D. A comparison of primary root caries lesions classified according to colour. *Caries Res* 1994; 28(4):233-9.
32. Manning DJ, Coughlin RP, Poskitt, EME. *Candida* in the mouth or dummy? *Arch Dis Child* 1985 Apr; 60(4):381-2.
33. Marchant S, Brailsford SR, Twomey AC, Roberts GJ, Beighton D. The predominant microflora of nursing caries lesions. *Caries Res* 2001 Nov-Dec; 35(6):397-406.
34. Martin MV, Wilkinson GR. The oral yeast flora of 10-year-old schoolchildren. *Sabouraudia* 1983 Jun; 21(2):129-35.
35. Mattos-Graner RO, Rontani RMP, Gavião MBD, Bocatto HACR. Caries prevalence in 6-36-month-old Brazilian children. *Community Dent Health* 1996 Jun; 13(2):96-8.
36. Moalic E, Gestalin A, Quinio D, Gest PE, Zerilli A, Le Flohic AM. The extent of oral fungal flora in 353 students and possible relationships with dental caries. *Caries Res* 2001 Mar-Apr; 35(2):149-55.
37. Moreira D, Spolidorio DM, Rodrigues JA, Boriollo MF, Pereira CV, Rosa EA *et al*. *Candida* spp. biotypes in the oral cavity of school children from different socioeconomic categories in Piracicaba-SP, Brazil. *Pesqui Odontol Bras* 2001 Jul-Sep; 15(3):187-95.
38. Morita MC, Walter LRF, Guillain M. Prévalence de la carie dentaire chez de enfants brésiliens de 0 a 36 mois. *J Odontostomatol Pédiatr* 1993; 3(1):19-28.

39. Negróni M, González MI, Levin B, Cuesta A, Iovanniti C. *Candida* carriage in the oral mucosa of a student population: adhesiveness of the strains and predisposing factors. *Rev Argent Microbiol* 2002 Jan-Mar; 34(1):22-8.
40. Nikawa H, Samaranayake LP, Tenovuo J, Pang KM, Hamada T. The fungicidal effect of human lactoferrin on *Candida albicans* and *Candida krusei*. *Arch Oral Biol* 1993 Dec; 38(12):1057-63.
41. Odds FC. *Candida and candidosis*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Baillière Tindall; 1988. 468p.
42. Odds FC. *Candida* infections: an overview. *Crit Rev Microbiol* 1987; 15(1):1-5.
43. Ollila P, Niemelä M, Uhari M, Larmas M. Risk factors for colonization of salivary *Lactobacilli* and *Candida* in children. *Acta Odontol Scand* 1997 Jan; 55(1):9-13.
44. Parvinen T, Larmas M. The relation of stimulated salivary flow rate and pH to *Lactobacillus* and yeast concentrations in saliva. *J Dent Res* 1981 Dec; 60(12):1929-35.
45. Pienihäkkinen K. Salivary *Lactobacilli* and yeast in relation to caries increment. Annually repeated measurements versus a single determination. *Acta Odontol Scand* 1988 Feb; 46(1):57-62.
46. Pienihäkkinen K, Scheinin A, Banoczy J. Screening of caries in children through salivary *Lactobacilli* and yeasts. *Scand J Dent Res* 1987 Oct; 95(5): 397-404.
47. Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 1994 Dec; 220(6):751-8.
48. Radford JR, Ballantyne HM, Nugent ZJ, Beighton D, Robertson M, Longbottom C *et al*. Caries-associated microorganisms in infants from different socio-economic backgrounds in Scotland. *J Dent* 2000 Jul; 28(5):307-12.
49. Rams TE, Slots J. *Candida* biotypes in human adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1991 Jun; 6(3):191-2.
50. Ripa LW. Nursing caries: a comprehensive review. *Pediatr Dent* 1988 Dec; 10(4):268-82.
51. Russell C, Lay KM. Natural history of *Candida* species and yeasts in the oral cavities of infants. *Arch Oral Biol* 1973 Aug; 18(8):957-62.
52. Saiman L, Ludington E, Dawson JD, Patterson JE, Rangelfrausto S, Wiblin RT *et al*. Risk factors for *Candida* species colonization of neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J* 2001 Dec; 20(12):1119-24.
53. Samaranayake LP, Geddes DAM, Weetman DA, MacFarlane TW. Growth and acid production of *Candida albicans* in carbohydrate supplemented media. *Microbios* 1983; 37(148):105-15.
54. Samaranayake LP, Hughes A, Weetman DA, MacFarlane TW. Growth and acid production of *Candida* species in human saliva supplemented with glucose. *J Oral Pathol* 1986 May; 15(5):251-4.
55. Schemmel RA, Krohn-Lutz K, Lynch P, Kabara JJ. Influence of dietary disaccharides on mouth microorganisms and experimental dental caries in rats. *Arch Oral Biol* 1982; 26(6):435-41.
56. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LSW. Colonization of *Candida albicans* on cleaned human dental hard tissues. *Arch Oral Biol* 1997 Jul; 42(7):513-20.
57. Sharp AM, Odds FC, Evans EGV. *Candida* strains from neonates in a special care baby unit. *Arch Dis Child* 1992 Jan; 67(1):48-52.
58. Sio JO, Minwalla FK, George RH, Booth IW. Oral *Candida*: is dummy carriage the culprit? *Arch Dis Child* 1987 Apr; 62(4):406-8.
59. Slots J, Rams TE. New views on periodontal microbiota in special patient categories. *J Clin Periodontol* 1991 Jul; 18(6):411-20.
60. Soll DR. *Candida* commensalisms and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. *Acta Trop* 2002 Feb; 81(2):101-10.
61. Starr JR, White TC, Leroux B, Luis HS, Bernardo M, Leitão J *et al*. Persistence of oral *Candida albicans* carriage in healthy Portuguese school-children followed for 3 years. *Oral Microbiol Immunol* 2002 Oct; 17(5):304-10.
62. Stenderup A. Oral mycology. *Acta Odontol Scand* 1990 Feb; 48(1):3-10.

63. Stevens DA, Odds FC, Scherer S. Application of DNA typing methods to *Candida albicans* epidemiology and correlations with phenotype. *Rev Infect Dis* 1990 Mar-Apr; 12(2):258-66.
64. Sziegoleit F, Sziegoleit A, Wetzel WE. Effect of dental treatment and/or local application of amphotericin B to carious teeth on oral colonization by *Candida*. *Med Mycol* 1999 Oct; 37(5):345-50.
65. Tobgi RS, Samaranayake LP, MacFarlane TW. *In vitro* susceptibility of *Candida* species to lysozyme. *Oral Microbiol Immunol* 1988 Mar; 3(1):35-9.
66. Tomita NE, Bijella VT, Lopes ES, Franco LJ. Prevalência de cárie dentária em crianças da faixa etária de 0 a 6 anos matriculadas em creches: importância de fatores socioeconômicos. *Rev Saude Pública* 1996 Out; 30(5):413-20.
67. Van Burik JAH, Magee PT. Aspects of fungal pathogenesis in humans. *Annu Rev Microbiol* 2001; 55:743-72.
68. Waggoner-Fountain LA, Walker MW, Hollis RJ, Pfaller MA, Ferguson JE, Wenzel RP *et al.* Vertical and horizontal transmission of unique *Candida* species to premature newborns. *Clin Infect Dis* 1996 May; 22(5):803-8.
69. Webster CE, Odds FC. Growth of pathogenic *Candida* isolates anaerobically and under elevated concentrations of CO<sub>2</sub> in air. *J Med Vet Mycol* 1986; 25:47-53.
70. Wetzel WE, Hanisch S, Sziegoleit A. The germ colonization of the oral cavity in small children with the nursing bottle syndrome. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1993; 103(9):1107-12.

Recebido em 01/9/2004

Aceito em 13/12/2004

