

INOCULAÇÃO DE *Candida albicans* EM RATOS SIALOADENECTOMIZADOS PORTADORES DE PLACA ACRÍLICA NO PALATO

Candida albicans INOCULATION IN SIALOADENECTOMIZED RATS WITH PALATAL ACRYLIC PLAQUES

Antonio Olavo Cardoso Jorge

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos / UNESP

Marcos Augusto do Rego

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté
Faculdade de Odontologia / UNICID / UMC/ UNIVAP

Oslei Paes de Almeida

Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi verificar os efeitos da xerostomia, provocada pela sialoadenectomia, no desenvolvimento de candidose bucal, após colocação de placa acrílica recobrindo o palato de ratos. Foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus*) divididos em seis grupos, que receberam os seguintes tratamentos: a) 3 inoculações de *Candida albicans*; b) adaptação de placa acrílica no palato; c) adaptação de placa acrílica e 3 inoculações de *C. albicans*; d) sialoadenectomia e 3 inoculações de *C. albicans*; e) sialoadenectomia e adaptação de placa acrílica; e, f) sialoadenectomia, adaptação de placa acrílica e 3 inoculações de *C. albicans*. Após 25 dias dos tratamentos, os animais foram sacrificados e procedeu-se a observações macroscópicas, foram feitos esfregaços corados pelo Gram e os palatos e línguas foram processados para observações histológicas. A adaptação de placa acrílica em ratos sialoadenectomizados possivelmente alterou hábitos alimentares, ocorrendo perda de peso e comprometimento sistêmico significativo do animal; mesmo assim, as diferenças nas lesões produzidas naqueles que receberam *C. albicans* foram menos intensas que o esperado. Portanto, a adaptação de placa acrílica no palato não demonstrou, nos resultados deste trabalho, ser bom modelo experimental para estudar a influência da xerostomia sobre a presença de *C. albicans* na boca de ratos.

PALAVRAS-CHAVE: xerostomia, sialoadenectomia, candidose, *Candida albicans*.

INTRODUÇÃO

A candidose experimental na cavidade bucal de ratos tem se mostrado modelo adequado para estudo, principalmente quando da utilização do dorso da língua (JORGE et al., 1993). O modelo tem sido utilizado também para verificar os efeitos da xerostomia no desenvolvimento de candidose, assim como na recuperação de *Candida albicans* e outras espécies de *Candida* da cavidade bucal de ratos (JORGE et al., 1993; TOTTI et al., 1996 a, b; SANTOS, 1999; RANGEL, 2001).

Outro modelo experimental utilizado para estudo de candidose, principalmente da forma crônica (estomatite por prótese total), foi desenvolvido por meio da adaptação de placa acrílica recobrindo o palato de animais. Butz-Jørgensen (1971) produziu infecção experimental por *C. albicans* na mucosa do palato de macacos abaixo da placa acrílica, correlacionando a infecção com a transformação de *C. albicans* da forma de levedura para pseudohifa. Após reinfecção, o autor verificou inflamação mais intensa, quando comparada com a lesão primária, fato que salientou como a capacidade de *C. albicans* de estimular respostas de hipersensibilidade. Olsen e Bondevik (1978) desenvolveram modelo experimental semelhante em ratos, com a adaptação de placa

acrílica nos maxilares e inoculações de *C. albicans*. Após uma semana de permanência das placas, inflamação generalizada desenvolveu-se no palato da maioria dos animais, a qual foi mais severa e persistente nos ratos que, além da placa, receberam inoculações de *C. albicans*.

Com a metodologia proposta por Olsen e Bondevik (1978), porém com as placas acrílicas permanecendo por quatro semanas, Shakir, Martin e Smith (1981) demonstraram, após uma semana, infiltração de células inflamatórias agudas e colonização da superfície da mucosa do palato por leveduras; na segunda semana, a inflamação aumentou, microabscessos foram observados e pseudohifas penetraram na queratina; na quarta semana as alterações foram intensificadas e o epitélio apresentou-se marcadamente hiperplástico, com penetração de pseudohifas. As mudanças histológicas no epitélio foram dependentes da presença da placa acrílica, pois, quando a mesma foi removida, as alterações epiteliais se resolviam em duas semanas; entretanto, exames microbiológicos da superfície da mucosa revelaram que o microrganismo persistia.

Com o mesmo modelo experimental, Shakir, Martin e Smith (1983) testaram a habilidade de *C. albicans* sorotipos A e B, *C. tropicalis* e *Torulopsis glabrata* em produzir candidose no palato de ratos. *C. albicans* sorotipo A produziu consistente candidose, e o sorotipo B somente a produziu em dois dos cinco animais testados, indicando diferença de patogenicidade entre os dois sorotipos. *C. tropicalis* e *T. glabrata* não induziram alterações no palato sobre as condições testadas, e sua colonização na mucosa, como comensal, dependeu da presença da placa acrílica.

O número de mitoses no epitélio do palato após adaptação de placas acrílicas, sofre pequeno decréscimo inicial, com posterior aumento mais intenso nos animais infectados por *C. albicans* (SHAKIR; MARTIN; SMITH, 1986b). Após sete dias de permanência da placa acrílica e inoculações de *C. albicans*, foi também observado aumento significativo no número de células de Langerhans na mucosa do palato de ratos (FRANCIS; FARTTHING, 1989).

Após produzir candidose no palato de ratos portadores de placa acrílica por duas semanas, Shakir et al. (1986a) verificaram que a remoção das placas resultaram em completa resolução histológica da lesão em duas semanas. A recolocação das placas após o período de recuperação, sem subsequente inoculação de *C. albicans*, produziu o reaparecimento da candidose em duas semanas.

O objetivo do presente trabalho foi verificar os efeitos da xerostomia, provocada pela sialodectomia, na presença e no desenvolvimento de candidose, após colocação de placa acrílica recobrindo o palato de ratos

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus*, Albinus, Wistar), machos, com peso inicial de 170 a 200 gramas, os quais foram alimentados com ração (Purina) e água *ad libitum*. Inicialmente, observou-se a ausência de leveduras do gênero *Candida* e da espécie *C. albicans* nos ratos que foram utilizados, baseando o isolamento e identificação em Martins e Jorge (1998). A seguir, a sialodectomia foi provocada em 24 ratos, retirando-se cirurgicamente as glândulas salivares parótida, submandibular e sublingual pela técnica descrita por Cheyne (1939), modificada. Após a sialodectomia, a verificação da presença de *Candida* foi repetida imediatamente antes do uso do animal nos experimentos, para verificar se a cirurgia não propiciou o desenvolvimento de leveduras na cavidade bucal.

Placas acrílicas recobrindo o palato dos animais foram colocadas dez dias após a sialodectomia, sendo a primeira inoculação de *C. albicans* feita imediatamente após a adaptação da placa no palato, e, a seguir, mais duas inoculações, em dias seguidos. As placas acrílicas foram confeccionadas em resina acrílica de ortondia (Jet-Clássico) sobre o palato de um rato fixado em formol a 10% com peso igual aos usados no experimento, como descrito por Olsen e Bondevik (1978). As placas recobriram o palato desde a distal dos terceiros molares até os incisivos, que tinham a região cervical totalmente envolvida pela resina. Após a polimerização, as placas foram retiradas, receberam acabamento com pedra-montada e foram polidas com escovas de Robson, taça de borracha e pedra-pomes. Para adaptação das placas acrílicas, os animais foram anestesiados com Thionembutal; as placas, posicionadas no palato e nos incisivos, e reembaçadas no palato com a mesma resina. Após novo polimento, foi feito um sulco na região palatina dos incisivos superiores dos animais, com broca carbide cilíndrica fissurada (nº1), para aumentar a retenção, e as placas, cimentadas com a mesma resina, ao redor dos incisivos.

Os ratos foram sacrificados 25 dias após a primeira inoculação de *C. albicans*, colocação da placa, ou ambos. Foram utilizados 48 ratos divididos em seis grupos de oito, que receberam os seguintes tratamentos: a) inoculação *C. albicans*; b) adaptação de placa acrílica no palato; c) adaptação de placa acrílica e inoculação de *C. albicans*; d) sialoadenectomia e inoculação de *C. albicans*; e) sialoadenectomia e adaptação de placa acrílica no palato; e f) sialoadenectomia, adaptação de placa acrílica no palato e inoculação *C. albicans*.

Durante 25 dias os animais foram alimentados com ração triturada e umedecida, de consistência pastosa. Os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical, e a placa acrílica, removida. Após observações macroscópicas, foram feitos esfregaços corados pelo Gram, para observação de leveduras (ANTONELLI; JORGE, 1999). Os palatos foram fixados em formol a 10% por 24 horas e processados, para observações microscópicas.

A análise estatística foi realizada por meio do teste *t* de Student, para comparação entre duas médias, sendo considerado o nível de significância em 5%.

RESULTADOS

Os resultados estão descritos a seguir, nos seis grupos, de acordo com o tratamento que foi instituído.

a) Inoculação de *C. albicans*

Ratos normais receberam três inoculações de 10^8 células *C. albicans*, e, após 25 dias, apresentavam ganho de peso compatível com a idade (Tabela 1). Macroscopicamente, a cavidade bucal não apresentou alterações e fungos não foram observados nos esfregaços. Nos cortes histológicos corados pela Hematoxilina-Eosina (HE) e pelas técnicas do ácido periódico de Schiff (PAS), Gram para tecidos e Gomori-Grocott, a língua e o palato dos ratos estavam normais, sendo observadas leveduras na superfície do epitélio do palato de um (12,5%) e na língua de dois (25%) animais (Tabela 2).

b) Adaptação de placa acrílica no palato

A permanência da placa acrílica no palato durante 25 dias provocou perda de peso, e os animais estavam clinicamente abatidos (Tabela 1). O palato mostrava diminuição das rugosidades palatinas nas regiões premolar e intermolar e retração gengival palatina em cinco dos oito animais. Nos esfregaços feitos do material presente entre a placa e o palato, corados pelo Gram, observou-se grande quantidade de resíduos alimentares, pêlos, células descamadas, cocos e bacilos Gram-positivos e negativos, porém leveduras não foram encontradas.

Histologicamente, o epitélio do palato apresentou-se hiperqueratótico, com áreas de acantose e material amorfo com numerosas bactérias na superfície. Os tecidos conjuntivo e muscular não apresentaram alterações.

c) Adaptação de placa acrílica e inoculação de *C. albicans*

Os animais que receberam inoculações de *C. albicans* e usaram placa acrílica no palato durante 25 dias perderam peso e estavam abatidos. O palato perdeu as rugosidades palatinas, com aplainamento das regiões premolar e intermolar. Apenas um animal não perdeu totalmente as rugosidades palatinas. Todos os animais apresentaram retração da gengiva palatina, principalmente ao nível do primeiro molar. Em dois animais, extensa lesão periodontal com perda de osso alveolar foi observada.

Entre a placa acrílica e o palato havia material semelhante ao da placa bacteriana que, nos esfregaços, mostrou presença de resíduos alimentares, células descamadas, alguns leucócitos e muitas bactérias, principalmente cocos Gram-positivos, aderidas às células descamadas ou livres. Fungos foram observados em 3 dos 8 ratos examinados.

As alterações histológicas foram semelhantes às observadas no grupo placa acrílica, com hiperqueratose e acantose em algumas áreas. Dois animais apresentaram leveduras: um no epitélio da língua, na região das papilas verdadeiras; o outro, na região intermolar do palato.

d) Sialoadenectomia e inoculação de *C. albicans*

Após sialoadenectomia, os animais receberam três inoculações de *C. albicans*, e, 25 dias após a primeira inoculação, o desenvolvimento dos ratos, ganho de peso e aparência estavam normais. Macroscopicamente a boca apresentou-se seca, com resíduos alimentares aderidos aos dentes e mucosas, mas o palato e o dorso da língua estavam normais. Nos esfregaços, observaram-se bactérias e células descamadas, e, em apenas um animal, leveduras estavam presentes. Não foram observados alterações histológicas neste grupo, e as leveduras foram observadas em dois animais, na superfície do epitélio do palato e da língua.

e) Sialoadenectomia e adaptação de placa acrílica no palato

Após sialoadenectomia e 25 dias da permanência de placa acrílica no palato, os ratos perderam peso e estavam abatidos, com perda de pêlos nas regiões abdominal e cervical. A mucosa bucal apresentou-se ressecada, com resíduos de alimentos aderidos aos dentes e à placa acrílica. No palato houve perda das rugosidades na região premolar e intermolar, com a mucosa irregular e resíduos aderidos à superfície.

Os animais apresentaram retração da gengiva palatina, principalmente ao nível do primeiro molar. Dois animais tinham lesão periodontal avançada, com exposição radicular, e, em um deles, a reabsorção atingiu a bifurcação. Um rato apresentou fenda profunda no palato, preenchida por placa bacteriana e com comunicação com a cavidade nasal. Outro animal apresentou ulceração no tubérculo intermolar da língua.

Nos esfregaços do material entre a placa acrílica e o palato, muitas células descamadas e grande quantidade de bactérias isoladas ou aderidas às células e alguns leucócitos foram observados. Histologicamente, o epitélio do palato apresentava-se acantótico, com difícil diferenciação entre as camadas granulosa e espinhosa. A camada basal mostrou-se irregular e hiperplásica, com perda de definição das rugosidades palatinas e presença de bactérias, inclusive entre as camadas irregulares da queratina.

f) Sialoadenectomia, adaptação de placa acrílica no palato e inoculação *C. albicans*

Após sialoadenectomia, três inoculações de *C. albicans* e permanência de placas acrílicas no palato durante 25 dias, os ratos estavam muito debilitados, com acentuada perda de peso e ausência de pêlos nas regiões dorsal, abdominal e cervical; mucosa bucal ressecada, com presença de resíduos alimentares. No palato houve perda das rugosidades e dois animais apresentaram destruição periodontal extensa na região palatina do primeiro molar. Nos esfregaços, leveduras estavam presentes em cinco animais.

Microscopicamente o palato e a língua tinham alterações como no grupo sialoadenectomia e placa acrílica, sendo encontradas leveduras no palato de 6 animais (75%) e na língua de quatro (50%). O epitélio apresentou acantose acentuada, hiperqueratose e hiperplasia da camada basal. Na superfície da queratina, bactérias, principalmente cocos Gram-positivos, células epiteliais descamadas e restos de queratina estavam presentes.

TABELA 1 – Médias e desvio-padrão do peso em gramas de ratos normais e sialoadenectomizados, imediatamente antes da sialoadenectomia; após 10 dias (inoculação de *C. albicans* e/ou adaptação de placa acrílica) e depois de 25 dias dos tratamentos (n=8)

GRUPOS	INICIAL	10 DIAS	25 DIAS
<i>C. albicans</i>	185,6 ± 20,1	194,8 ± 32,4	209,2 ± 7,8
Placa acrílica	187,3 ± 9,4	192,8 ± 7,3	183,3 ± 5,4*
Placa acrílica e <i>C. albicans</i>	180,3 ± 11,6	185,4 ± 8,5	174,0 ± 7,3*
Sialoadenectomia e <i>C. albicans</i>	186,3 ± 17,7	179,8 ± 11,8	206,6 ± 17,8
Sialoadenectomia e placa acrílica	184,1 ± 17,1	178,9 ± 14,7	140,8 ± 22,9*, **,***
Sialoadenectomia, placa acrílica e <i>C. albicans</i>	192,6 ± 20,4	186,0 ± 19,3	132,4 ± 21,2*, **,***

Diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%:

* em relação ao grupo *C. albicans*;

** em relação ao peso inicial;

*** em relação ao grupo placa acrílica.

TABELA 2 – Número de ratos normais e sialoadenectomizados que apresentaram *C. albicans* em esfregaços do palato e na superfície da língua e do palato em preparados histológicos, após inoculação de *C. albicans* e/ou adaptação de placa acrílica no palato (n=8)

GRUPOS	ESFREGANDO	CORTES HISTOLÓGICOS	
		PALATO	LÍNGUA
<i>C. albicans</i>	0	1	2
Placa acrílica	0	0	0
Placa acrílica e <i>C. albicans</i>	3	1	1
Sialoadenectomia e <i>C. albicans</i>	1	2	2
Sialoadenectomia e Placa acrílica	0	0	0
Sialoadenectomia, Placa acrílica e <i>C. albicans</i>	5	6	4

DISCUSSÃO

A permanência de placa acrílica, após três inoculações consecutivas de *C. albicans* na boca de ratos normais, não revelou penetração de pseudohifas no epitélio, em nossos resultados, e em apenas um animal foi observada presença de leveduras no palato. Apesar de o epitélio do palato apresentar hiperqueratose e áreas de acantose, as alterações foram semelhantes às do grupo que recebeu apenas a placa acrílica. Olsen e Bondevik (1978) relataram reação inflamatória e alterações epiteliais evidentes nos ratos portadores de placa acrílica e inoculados com *C. albicans*, o que não foi possível visualizar no presente trabalho; porém, os autores também não observaram penetração de pseudohifas no epitélio. Shakir, Martin e Smith (1981) observaram penetração de pseudohifas na queratina e alterações no epitélio, após inoculação de *C. albicans* e permanência de placa acrílica no palato de ratos por duas a quatro semanas, demonstrando que as lesões eram dependentes da presença da placa acrílica, pois, quando a mesma era removida, as alterações se resolviam em duas semanas.

Olsen e Bondevik (1978) relataram que ratos com placas acrílicas apresentaram redução inicial de peso, recuperado após dez a doze dias de permanência da placa. Em nossos resultados, os ratos com placa acrílica e aqueles que receberam também inoculações de *C. albicans* toleraram a presença de placas, com ligeira perda de peso após 25 dias de permanência das mesmas. Por outro lado, nos animais sialoadenectomizados a colocação de placa acrílica produziu acentuada perda de peso, com diferença significativa em relação ao peso inicial, e os animais apresentaram-se muito abatidos, após 25 dias de permanência da placa.

Ratos sialoadenectomizados portadores de placa acrílica apresentaram perda das rugosidades palatinas, alterações gengivais e lesão periodontal evidente. O epitélio apresentou hiperqueratose e camada basal irregular e hiperpásica. Os ratos sialoadenectomizados com placa acrílica, que receberam inoculações de *C. albicans*, apresentaram alterações semelhantes no epitélio, porém ligeiramente mais acentuadas, e leveduras em número mais elevado nos esfregaços e nos cortes histológicos que nos demais grupos; porém, pseudohifas invadindo o epitélio não foram observadas.

Macacos portadores de placa acrílica apresentaram lesões no palato mais extensas, com invasão intraepitelial de pseudohifas mais freqüentes, que regrediam mais lentamente nos animais com fluxo salivar diminuído por meio de drogas (OLSEN; HAANAES, 1977). Os resultados desse trabalho não mostraram, entretanto, penetração de pseudohifas no epitélio do palato dos ratos sialoadenectomizados portadores de placa acrílica, nos quais a *C. albicans* foi inoculada.

A estomatite por prótese total em humanos caracteriza-se por reação inflamatória severa, atrofia e hiperplasia do epitélio (BUDTZ-JÖRGENSEN, 1990), porém as áreas atingidas freqüentemente não demonstram invasão dos tecidos pela *C. albicans*, o que poderia justificar os resultados do trabalho (IACOPINO; MATHEW, 1992). Por outro lado, a aderência de *C. albicans* ocorre na superfície acrílica das próteses, tanto em seres humanos como *in vitro* (EL-AZIZI; KHARDORI, 1999; ELLEPOLA; SAMARANAYAKE, 1998).

A adaptação de placa acrílica em animais sialoadenectomizados, possivelmente, alterou os hábitos alimentares dos ratos, os quais deixaram de se alimentar adequadamente, mesmo com a administração de ração moída e molhada. A perda de peso e comprometimento sistêmico do animal foram bastante significativas, e,

mesmo assim, as diferenças nas lesões produzidas naqueles que receberam *C. albicans* foram menos intensas que o esperado. Portanto, a adaptação de placa acrílica no palato não demonstrou ser bom modelo experimental para estudar a influência da xerostomia sobre a presença de *C. albicans* na boca de ratos sialoadenectomizados.

ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the xerostomy effects, stimulated by the sialoadenectomy, in the course of oral candidosis, after setting the acrylic plaque recovering the rat palats. 48 rats (*Rattus norvegicus*), divided in six groups, were used and received the following treatments: a) 3 *Candida albicans* inoculations; b) palatal acrylic plaque adaptation; c) acrylic plaque adaptation and 3 *C. Albicans* inoculations; d) sialoadenectomy and 3 *C. albicans* inoculations; e) sialoadenectomy and acrylic plaque adaptation; and, f) sialoadenectomy, acrylic plaque adaptation and 3 *C. albicans* inoculations. After 25 days of treatment, the animals were killed and macroscopical observations as well as Gram coloured rubbing were done and the palats and tongues were processed for histological observation. The acrylic plaque adaptation in sialoadenectomized rats probably altered eating habits, occuring loss of weight and meaningful systemic commitment of the animal and, even though, the differences in the lesions procuced on those received *C. albicans* were less intense than expected. Therefore, the palatal acrylic plaque adaptation didn't appear to be a good experimental pattern to study the xerostomy influence on the presence of *C. albicans* in the mouths of the rats.

KEY-WORDS: xerostomy, sialoadenectomy, candidosis, *Candida albicans*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONELLI, C. M.; JORGE, A. O. C. Detecção de leveduras do gênero *Candida* no dorso da língua através de esfregaço e cultura. *Rev.Biociências*, v.5, n. 2, jun./dez., 1999.

BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Denture stomatitis: an experimental model in monkeys. *Acta Odontol. Scand.*, v. 30, p. 313-325, 1972.

BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol. Scand.*, v. 48, p. 61-69, 1990.

CHEYNE, V. D. A description of the salivary glands of the rat and procedure for their extirpation. *J. Dent. Res.*, v. 18, p. 457-468, 1939.

EL-AZIZI, M.; KHardORI, N. Factors influencing adherence of *Candida* spp. To host tissues and plastic surfaces. *Indian J. Exp. Biol.*, v. 37, n. 10, p. 941-951, 1999.

ELLEPOLA, A. N.; SAMARANAYAKE, L. P. Adhesion of oral *Candida albicans* isolates of denture acrylic folowing limited exposure to antifungal agents. *Arch. Oral Biol.*, v. 43, p. 999-1007, 1998.

FRANCIS, C. A.; FARTHING, P. M. The response of Langerhans cells to palatal cover plates in the rat. *Arch. Oral Biol.*, v. 34, p. 377-381, 1989.

IACOPINO, A. M.; MATHEW, W. F. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *J. Am. Dent. Assoc.*, n. 123, p. 46-51, 1992.

JORGE, A. O. C. et al. Oral candidiasis established in the sialoadenectomizes rat. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v. 22, n. 2, p. 54-56, 1993.

- JORGE, A. O. C. et al. Effect of sialoadenectomy on the carriage of *Candida albicans* in the mouths of rats. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v. 22, n. 3, p. 138-140, 1993.
- MARTINS, C. A. P.; JORGE, A. O. C. Métodos utilizados para caracterização de leveduras do gênero *Candida*. *Rev. Biociências*, v. 4, n. 1-2, p.7-19, 1998.
- OLSEN, I.; BONDEVIK, O. Experimental *Candida*-induced denture stomatitis in the Wistar rat. *Scand. J. Dent. Res.*, v. 86, p. 392-398, 1978.
- OLSEN, I.; HAANAES, H. R. Experimental palatal candidosis in saliva flow in monkeys. *Scand. J. Dent. Res.*, v. 85, p. 135-141, 1977.
- RANGEL, A. L. C. A. *Aderência de Candida albicans, Candida tropicalis e Candida krusei na superfície da língua de ratos normais e xerostômicos*. 2001. 74 p. Dissertação (Mestrado em Estomatopatologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba.
- SANTOS, E. B. *Efeitos da xerostomia e do tratamento com 4NQO no desenvolvimento de candidose na língua de ratos*. 1999. 182p. Tese- (Doutorado em Biologia e Patologia Buco-Dental) Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba.
- SHAKIR, B. S.; MARTIN, M.V.; SMITH, C. J. Effect on experimental palatal candidosis in the wistar rat of removal and reinsertion of acrylic appliances. *Arch. Oral Biol.*, v. 31, p. 617-621, 1986.
- SHAKIR, B. S.; MARTIN, M.V.; SMITH, C. J. Induced palatal candidosis in the wistar rat. *Arch. Oral Biol.*, v. 26, p. 787-793, 1981
- SHAKIR, B. S.; MARTIN, M.V.; SMITH, C. J. Relative effectiveness of various yeasts, *Candida* spp. and *Torulopsis glabrata* for inducing palatal infection in the wistar rat. *Arch. Oral Biol.*, v. 28, p. 1069-71, 1983.
- SHAKIR, B. S.; MARTIN, M.V.; SMITH, C. J. Epithelial mitotic activity during the induction of palatal candidosis in the wistar rat. *J. Oral Pathol.*, v. 31, p. 617-621, 1986.
- TOTTI, M.A.G., et al. Recuperação de *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* da cavidade bucal de ratos normais e sialoadenectomizados. *Rev. Odonto. UNESP.*, v. 25, n. 1, p. 119-124, 1996.
- TOTTI, M.A.G., et al. Implantation of *Candida albicans* and other *Candida* species in the oral cavity of rats. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 25, p. 308-310, 1996.