

PREVALÊNCIA DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Candida albicans* ISOLADAS DA CAVIDADE BUCAL DE CRIANÇAS PORTADORAS E NÃO PORTADORAS DE SÍNDROME DE DOWN

Diorgenes Pinto Santana¹, Thagiane Rodrigues², Sílvia Oliveira de Souza², Plínio Lázaro Faleiro Naves³, Evandro Leão Ribeiro⁴

1 Bolsista CAPES, mestrando em Ciências Moleculares, Universidade Estadual de Goiás, Brasil. diorgenesps@hotmail.com

2 Bolsistas PIBIC/ CNPq, graduandas do curso de Farmácia, Universidade Estadual de Goiás, Brasil.

3 Professor, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Brasil

4 Professor, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Brasil

Resumo

A incidência de infecções fúngicas vem aumentando significativamente nos últimos anos, *Candida albicans* é a levedura responsável pela maioria destas infecções. A candidíase bucal é uma das infecções fúngicas mais frequentes e o período da infância parece ser mais propício para a sua manifestação. As irregularidades metabólicas causadas pela Síndrome de Down, figuram dentre os fatores que podem levar a ruptura do equilíbrio da microbiota bucal e uma maior predisposição do indivíduo a manifestar este tipo de infecção. Como consequência disto, as candidíases bucais são umas das infecções mais frequentes em crianças com Síndrome de Down. *Candida albicans* são as leveduras predominantes como agentes etiológicos destas infecções. O conjunto de determinados fatores de virulência, tais como adesinas, variações fenotípicas, produção de proteinases e fosfolipases, facilitam a penetração nos tecidos e conferem uma maior patogenicidade a estas leveduras. Apesar de alguns recursos terapêuticos estarem disponíveis para o controle da candidíase bucal, constantes recidivas das infecções bucais em crianças portadoras da síndrome de Down, reforçam a necessidade de novas alternativas para o tratamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência de determinados fatores de virulência em cepas de *Candida albicans* isoladas, tanto de crianças portadoras de Síndrome de Down, como de crianças não portadoras desta Síndrome. As características mais prevalentes nas cepas isoladas das crianças portadoras de Síndrome de Down foram a diversidade de morfotipos, alta produção de aspartil proteinase e fosfolipase, formação de tubo germinativo em menor tempo e um maior número de *killer* tipos.

Palavras Chaves: *Candida albicans*; fatores de virulência; leveduras; crianças; Síndrome de Down

Prevalence of virulence factors of *Candida albicans* isolated from oral cavity of children with and without Down Syndrome

ABSTRACT

The incidence of fungal infections has increased significantly in recent years, the yeast *Candida albicans* is responsible for most of these infections. Oral candidiasis is one of the most common fungal infections and childhood period seems to be more conducive to these infections. The metabolic irregularities caused by Down syndrome are listed among the factors that can lead to disruption of the balance of the oral microflora and a willingness of individuals to express this type of infection. As a result, the oral candidiasis is one of the most common infections in children with Down syndrome. *Candida albicans* is the predominant yeasts as etiological agents of these infections. The set of certain virulence factors such as adhesins, phenotypic variation, production of proteinases and phospholipases facilitate tissue penetration and confer greater pathogenicity of these yeasts. Although some therapeutic resources are available for the control of oral candidiasis, constant recurrence of oral infections in children with Down syndrome, reinforcing the need for new alternatives for treatment. The aim of this study was to evaluate the prevalence of certain virulence factors of *Candida albicans* strains isolated from both children with Down syndrome, as children without this syndrome. The characteristics more prevalent in strains isolated from children with Down syndrome were: diversity of morphotypes, high production of aspartyl proteinase and phospholipase, the germ tube formation in less time, and a greater killer types.

Keywords: *Candida albicans*, virulence factors, yeast, children, Down Syndrome

INTRODUÇÃO

Candida são considerados micro-organismos oportunistas presentes na microbiota normal da cavidade oral e dos tratos gastrointestinal e urogenital de seres humanos. Geralmente não ocasionam processos infecciosos em indivíduos saudáveis, mas podem acometer pacientes imunocomprometidos e/ou sob terapia antimicrobiana por um período de tempo prolongado (SUZUKI, 2009; MATOS et al., 2009).

Estas infecções são mais comuns em indivíduos com o sistema imunitário comprometido e a sua frequência vêm aumentando ao longo dos anos. *Candida albicans* é a espécie mais frequentemente identificada como principal responsável, no entanto, o número de infecções provocadas por outras espécies de *Candida* também vem aumentando (CARDOSO, 2007).

Uma vez rompido o equilíbrio biológico entre a microbiota e o organismo hospedeiro, as espécies de *Candida* têm a capacidade de provocar infecções, ocasionando quadros agudos, subagudos ou crônicos, superficiais ou profundos. (NEUFELD, 1999; EGGIMANN et al., 2003; MENEZES & NEUFELD, 2006).

C. albicans é reconhecida por sua maior patogenicidade, secretam proteinases e fosfolipases capazes de degradar, destruir ou transformar constituintes da membrana celular do hospedeiro induzindo a uma disfunção e/ou destruição

física. O papel das enzimas proteolíticas pode ser digerir proteínas do hospedeiro promovendo uma fonte de nitrogênio para a célula e contribuir para adesão e invasão dos tecidos do hospedeiro (HUBE & NAGLIK, 2001). Além disso, esta levedura apresenta dimorfismo - variação de antígeno de parede, expressão de adesinas na superfície e *switching* - variação fenotípica (TRABULSI L.R. & ALTERTHUM F., 2005).

A formação de micélio ou pseudo-micélio pelas espécies de *Candida* tem sido relacionada ao aumento da virulência em decorrência da variabilidade antigênica da superfície e do formato micelial que favorece maior aderência, dificultando a fagocitose extra e intracelular pelo sistema imune (KALO-KLEIN & WITKIN, 1990; MAFFEI, 1996; GALE et al., 1998; VIDOTTO et al., 2002).

O fungo manifesta maior poder invasivo em pacientes debilitados pelo tratamento com antimicrobianos e drogas imunossupressoras e no decurso de doenças crônicas, ou em pacientes com deficiência nutricional e imunodeprimidos. (TRABULSI R.L.; ALTERTHUM F., 2005).

De acordo com RIBEIRO et al (2006) durante a fase de portador assintomático, as leveduras de *Candida* na cavidade oral apresentam-se na forma arredondada e em baixo número. A transição da forma sapróbia para a patogênica é multifatorial e tem associação com ruptura do equilíbrio parasita-hospedeiro. No hospedeiro, essa levedura pode ligar-se a proteínas extracelulares, como a fibronectina, a laminina, o fibrinogênio e colágeno do tipo 1 e 4 (CALDORI & FONSI, 2001; WILLIS, A.M et al., 2006; DOROCKA-BOBKOWSKA et al., 2003).

As implicações médicas da Síndrome de Down abrangem distúrbios cardíacos congênitos, anormalidades de desenvolvimento, traços dimórficos, maior risco à leucemia e a deficiências imunológicas e endócrinas (ROZONE & MUSTACCHI, 1990; DANIELSKI, 2002). A expressão genética da trissomia do cromossomo 21 propicia ainda irregularidades quanto à função bioquímica de diversas substâncias em indivíduos portadores de Síndrome de Down. O nível sanguíneo de superóxido dismutase é detectado em média 1,5 vezes mais acentuado. Isto resulta em uma taxa elevada de conversão de superóxidos (O_2^-) em peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) que pode danificar estruturas celulares de ácido desoxirribonucleico (DNA) e lipídios, e em baixa concentração de superóxidos implica na diminuição da capacidade lítica dos neutrófilos frente às infecções provocadas por *Staphylococcus aureus* e *C. albicans* (COELHO & LOEVY, 1982).

Outras irregularidades metabólicas ocasionadas pelos genes do cromossomo 21 podem manifestar-se em indivíduos acometidos de Síndrome de Down. As deficiências da fosfofrutoquinase e cistationina beta-sintetase que são doenças autossômicas recessivas. A primeira é uma glicogenose tipo VII na qual é necessário o controle da ingestão de carboidratos. A segunda é relacionada ao metabolismo da metionina, aminoácido que atua na utilização dos fosfolipídios (TOMMASO, 2004; ORPHANET, 2005). Estas alterações metabólicas parecem induzir alterações na microbiota de pacientes com síndrome de Down, inclusive *Candida*.

OBJETIVO

Avaliar a prevalência de fatores de virulência em cepas de *Candida albicans* isoladas, tanto de crianças portadoras de Síndrome de Down, como de

crianças não portadoras desta Síndrome e comparar as possíveis diferenças entre estes dois grupos.

METODOLOGIA

Foram isoladas 51 cepas de *C. albicans*, sendo 37 a partir de saliva de crianças com Síndrome de Down (CCSD) e 14 de crianças sem a síndrome (CSSD). As amostras foram obtidas de pacientes atendidos na Unidade da Clínica de Odontologia Infantil da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás, na cidade de Goiânia- GO.

Após a homogeneização de cada amostra contendo saliva dispersa no meio, o material foi semeado assepticamente, em duplicata, em tubos de ensaio contendo 5,0mL de ágar Sabouraud dextrose inclinado acrescido de 0,1 mg/mL de cloranfenicol, pH ajustado entre 5,6 a 6,0 e mantido a temperatura ambiente por 15 dias. Uma amostra de *C. albicans* ATCC 18804 foi empregada como controle em todos os testes realizados.

Morfotipagem

A morfotipagem foi realizada segundo Phongpaichit et al., (1987) e Hunter et al., (1989). As leveduras do gênero *Candida*, cultivadas em tubos de ensaio contendo ágar Sabouraud dextrose por 48 horas a 25°C, foram utilizadas na preparação de 3,0mL de suspensões feitas em água destilada e esterilizada (inóculo ajustado a 3 na Escala de McFarland). Cada suspensão foi inoculada (três por placa de Petri) na superfície do ágar extrato de malte com auxílio de *swabs* esterilizados a fim de formar uma estria padronizada de 8mm de largura por 60mm de comprimento. As placas foram incubadas a 25°C por dez dias, com a inoculação de cada levedura sempre realizada em duplicata. A leitura foi feita com base nos aspectos macromorfológicos da franja e topografia da colônia.

Enzimotipagem (aspartil proteinases e fosfolipases)

As amostras de *Candida*, obtidas de culturas de 24-48 horas em ágar Sabouraud dextrose, foram semeadas em placa de Petri com alça de platina em pontos equidistantes no meio de albumina e incubadas a 37°C durante 24-48 horas para a detecção de produção de aspartil proteinases (RÜCHEL et al., 1982) e no meio enriquecido com gemas de ovo e incubadas por 72-96 horas a 37°C para verificação da produção de fosfolipases (PRINCE et al., 1982).

A leitura de cada atividade enzimática (Pz) das amostras-teste decorreu da detecção de um halo opaco de precipitação ao redor do ponto de inoculação das amostras de levedura, medida através da razão entre o diâmetro da colônia (dc) e o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação (dcp), ou seja, $Pz = dc/dcp$ e utilizada como unidade de medida o centímetro (cm). Os resultados foram agrupados em dois níveis, $Pz > 0,5$ que correspondeu as cepas com baixa atividade enzimática e $Pz \leq 0,5$, alta atividade enzimática.

Tipagem pela sensibilidade a toxinas *killer*

As cepas de *Candida* estudadas, bem como as leveduras produtoras de toxinas *killer* (K1 a K9), foram previamente incubadas em meio de ágar Sabouraud dextrose modificado, sem azul de metileno, a 25°C por 48 horas antes dos testes.

Das amostras-teste, foi preparada uma suspensão em tubos de ensaio de contendo 1,0mL de água destilada e esterilizada, propiciando a formação de inóculo correspondente a 5 na escala McFarland e esta foi adicionada e homogenizada em placa de Petri com 20mL do meio de Sabouraud modificado previamente fundido e resfriado a 45°C. Após a homogeneização, foi semeada com alça de platina no meio solidificado, em pontos eqüidistantes, às amostras de leveduras *killer* (K1 a K9). As placas foram incubadas a 25°C por 72 horas. Foram considerados sensíveis (+), os cultivos que produziram halo incolor e/ou zona de inibição com colônias azuis, ao redor do cultivo padrão, e resistentes (-), crescimento ao redor das leveduras *killer*.

Análise estatística

A prevalência das características / fatores de virulência nos grupos CCSD e CSSD foi analisada por meio do teste de Fisher. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes com $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfotipagem

A morfotipagem de 51 *C. albicans*, permitiu caracterizar 11 morfotipos. No grupo CCSD observou-se o predomínio do morfotipo 5530 (colônia fúngica com franja contínua em leque, igual ou maior 40 a 6mm, de textura intermediária e superfície lisa). O grupo CSSD caracterizou-se pelo elevado número do morfotipo 5240 (colônia fúngica com franja contínua em leque, igual ou menor a 2mm, de textura fina e superfície lisa) (Tabela 1).

Tabela 1. Morfotipos de *Candida albicans* isoladas da cavidade bucal de crianças com e sem Síndrome de Down.

Morfotipo	<i>Candida albicans</i>	
	CCSD n=37	CSSD n=14
2330	-	2
3240	2	-
5240	-	6
3340	2	-
5320	2	3
5330	7	3
5340	3	-
5530	15	-
5540	3	-
7530	1	-
7540	2	-

Enzimotipagem

Aspartil proteinases

Na tabela 2 estão representadas as 30 cepas de *C. albicans* isoladas de ambos os grupos apresentaram alta atividade enzimática para aspartil proteinases. No grupo de CCSD detectaram-se 27 (73,0%) cepas com alta atividade enzimática, enquanto que no outro grupo apenas 3 (21,4%), sendo esta diferença significativa ($p=0,0013$).

Tabela 2. Produção de aspartil proteinases por *Candida albicans* da cavidade bucal de crianças com e sem Síndrome de Down.

Aspartil protease	<i>Candida albicans</i>			
	(CCSD)		(CSSD)	
	n=37	%	n=14	%
Alta produção enzimática	27	73,0	3	21,0
Baixa produção enzimática	10	27,0	11	79,0

Legenda: * $p = 0,0013$

CCSD – Crianças com Síndrome de Down

CSSD – Crianças sem Síndrome de Down

Fosfolipases

Trinta e sete cepas de *C. albicans* isoladas de ambos grupos apresentaram com alta atividade enzimática de fosfolipases (Tabela 3).

Tabela 3. Perfil da atividade de fosfolipases por *Candida albicans* isoladas da cavidade bucal de crianças com e sem Síndrome de Down.

Fosfolipase*	<i>Candida albicans</i>			
	(CCSD)		(CSSD)	
	n=37	%	n=14	%
Alta produção enzimática	30	81,0	01	7,1
Baixa Produção enzimática	7	19,0	13	92,8

Legenda: * $p = 0,0109$

CCSD – Crianças com Síndrome de Down

CSSD – Crianças sem Síndrome de Down

A produção de exoenzimas pelas leveduras *C. albicans* constitui um fator determinante de virulência deste fungo. Diversos estudos têm demonstrado que a maioria das cepas de *C. albicans* é produtor de aspartil proteinases e fosfolipases, reforçando a relevância dessas enzimas como elementos integrantes do mecanismo de virulência fúngica.

Estas observações corroboram os resultados encontrados em nosso estudo. Cerca de 81,0% das cepas de *C. albicans* isoladas de CCSD possuem uma alta atividade enzimática na produção de fosfolipase e apenas 7,1% de CSSD tem essa característica, sendo esta diferença significativa ($p = 0,0001$).

A detecção da produção de enzimas extracelulares por *C. albicans*, isoladas da boca de pacientes diabéticos, fumantes, imunodeprimidos, oncológicos, isenta de lesões clínicas, colonizada por bactérias e fungos e com ausência de dentes cariados, mostrou variações da atividade enzimática com a produção de aspartil proteínases entre 68,7 e 100,0% das amostras e de fosfolipases entre 71,9 e 100,0% (CANDIDO et al., 2000; MARTINS et al., 2002; MARDEGAN et al., 2006).

Em nosso estudo, as cepas provenientes do grupo CCSD mostraram *in vitro* uma maior atividade enzimática, fato esse aliado a uma maior susceptibilidade dos portadores de Síndrome de Down, facilitaria a instalação de um processo infeccioso por *C. albicans* nestes pacientes.

Tipagem pela sensibilidade a toxinas killer

A biotipagem das *C. albicans* da boca de CCSD e CSSD, frente às leveduras produtoras de toxinas *killer*, permitiu a detecção de cinco *killer*-tipos. Maior diversidade destes *killer*-tipos foi verificada no grupo de CCSD. O *killer*-tipo 111 predominou nos dois grupos em estudo, não sendo observada nenhuma diferença significativa entre os dois grupos estudados (Tabela 4).

Tabela 4. *Killer*-tipos de *Candida albicans* da boca de crianças com e sem Síndrome de Down.

Killer – tipo	<i>Candida albicans</i>			
	(CCSD)		(CSSD)	
	n=37	%	n=14	%
111	17	46	11	78,6
112	14	37,8	3	21,4
121	3	8,1	-	-
186	2	5,4	-	-
888	1	2,7	-	-

Legenda: CCSD – Crianças com Síndrome de Down
CSSD – Crianças sem Síndrome de Down

A diversidade de *killer*-tipos foi constatada em ambos os grupos de *C. albicans* com predominância do *killer*-tipo 111 e 112, sendo que o grupo CCSD apresentam maior diversidade (111, 112, 121, 186, 888), enquanto o grupo CSSD apresentaram (111, 112).

Formação do Tubo Germinativo

Todas as cepas de *C. albicans* dos grupos analisados induziram a formação de tubos germinativos dentro de duas horas, sendo que o maior índice de cepas capazes de formá-los em uma hora foi detectado no grupo CCSD, ainda que estes resultados não tenham sido significativos estatisticamente ($p=0,0526$) (Tabela 6).

Tabela 6. Formação de tubos germinativos por *Candida albicans* oriundas da boca de crianças com e sem Síndrome de Down em soro fetal bovino.

Tempo de Formação Tubo Germinativo*	<i>Candida albicans</i>			
	(CCSD)		(CSSD)	
	n=37	%	N=14	%
1 h	17	45,9	02	14,3
2 h	20	54,1	12	85,7

Legenda: * p = 0,0127

h - horas

CCSD – Crianças com Síndrome de Down

CSSD – Crianças sem Síndrome de Down

A análise da formação de tubos germinativos por *C. albicans* em determinado período de tempo mostra a capacidade de aderência das leveduras à mucosa de indivíduos colonizados por este fungo. O dimorfismo morfológico apresentado por *C. albicans* tem papel preponderante na virulência, mediante a passagem da forma leveduriforme (infectante) a filamentosa (parasitária) (LACAZ et al., 1998; SIDRIM & ROCHA, 2004).

Apesar de alguns recursos terapêuticos estarem disponíveis para o controle da candidíase bucal, constantes recidivas das infecções bucais em crianças portadoras da síndrome de Down, reforçam a necessidade de aprofundamento do estudo da relação parasita hospedeiro com vistas ao desenvolvimento de novas alternativas para o controle e tratamento destas infecções.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e a CAPES pela concessão das bolsas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CÂNDIDO, R.C.; AZEVEDO, R.V.P.; KOMEAU, M.C. Enzimotipagem de espécies do gênero *Candida* isoladas na mucosa bucal. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 33(6): 437-442, 2000.

CALDORI, R.A. & FONSI, W. A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology**, v. 9, n.7, p.327-335, 2001.

CARDOSO, B.C. Efeito de antifúngicos em suspensões e biofilmes de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis*. 2007. 85f. **Dissertação (Mestrado em engenharia biológica)** – Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho. 2007.

COELHO, C.R.Z., LOEVY, H.T. Aspectos Odontológicos da Síndrome de Down. São Paulo: **ARS Cvrandi em Odontologia**, p. 9-16, 1982.

DANIELSKI, V. **Síndrome de Down**. São Paulo: Ave Maria, p. 156, 2002. different strains of *C. albicans*. **Sabouraudia**, 20: 233-244, 1982.

DOROCCA-BOBKOWSKA, B. KONOPKA, K.; DUZGUNES, N. Influence of antifungal polyenes on the adhesion of *Candida albicans* and *Candida glabrata* to human epithelial cells in vitro. **Archives of Oral Biology**, v.48, n12, p. 805-814, 2003.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTE, D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically non-immunosuppressed patients. *The Lancet Infectious Diseases*, v.3, p. 685-702, 2003. em: <<http://www.hepcentro.com.br/glicogenoses.htm>>. Acesso em 20 agosto 2010.

GALE, C.A.; BENDEL, C.M.; McCLELLAN, M.; BECKER, J.M.; BERMAN, J.; HOSTETTER, M.K. Linkage of adhesion, filamentous growth and virulence in *C. albicans* to a single gene INT1. **Science**, 279: 1355-1358, 1998.

HUBE B, NAGLIK J. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. **Microbiology**. 2001; 147(8): 1997-2005.

HUNTER, P.R.; FRASER, C.A.M.; MACKENZIE, D.W.R. Morphotype markers of virulence in human candidal infections. **J. Med. Microbiol.**, 28: 85-89, 1989.

KALO-KLEIN, A.; WITKIN, S.S. Prostaglandin E2 enhances and gamma interferon inhibits germ tube formation in *C. albicans*. **Infect. Immun.**, 58: 260-262, 1990.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACARRI, E.M.; MELO, N.T. **Guia para identificação fungos actinomicetos algas de interesse médico**. São Paulo: Sarvier. 1998. p. 445.

MAFFEI, C.M.L. Amostras de *C. albicans* isoladas de gestantes: fatores de virulência, sensibilidade a antifúngicos, tipagem fenotípica e genotípica. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas 1996. 183 p.

MARDEGAN, R.C.; KLEIN, M.I.; GOLVEA, M.B.; RODRIGUES, J.A.O.; GONÇALVES, R.B.; HÖFLING, J. F. Biotyping and genotyping diversity oral *C. albicans* strains from caries-free and caries-actives healthy children. **Braz. J. Microbiol.**, 37: 26-32, 2006.

MARTINS, C.A.P.; KOGA-ITO, C.Y.; JORGE, A.O.C. Presence of *Staphylococcus* spp and *Candida* spp in the human oral cavity. **Braz. J. Microb.**, 33: 236-240, 2002.

MATOS, B. M. et al. Atividade antifúngica do extrato alcoólico de *Mentha piperita*. **Revista de Odontologia da UNESP**, Araraquara, v. 38, n. 4, p. 244-48, jun./ago, 2009.

MENEZES, C.H.P. & NEUFELD, P.M. **Bacteriologia e Micologia**: Para o Laboratório Clínico. 1ª Ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2006, 387p.

NEUFELD, P. M. **Manual de Micologia Médica**: Técnicas de Básicas de Diagnóstico. 1ª Ed. Rio de Janeiro: Programa Nacional de Qualidade, 1999. p.1,214.

ORPHANET. Doenças raras. **Homocistinúria por Deficiência de Cistationina Beta-Sintetase**. São Paulo. 2005. Disponível em: <<http://www.orphanet.com.br>>. Acesso em 30 agosto 2010.

PHONGPAICHIT, S., MACKENZIE, D.W.R., FRASER, C. Strain differentiation of *C. albicans* by morphotyping. **Epiderm. Inf.**, 99: 421-428, 1987.

PRINCE, M.F.; WILKINSON, I.D.; GENTRY, L.O. Plate methods for detection of phospholipase activity in *C. albicans*. **Sabouraudia**, 20: 15-20, 1982.
a Tropical, v.40, n3, p. 272-276, 2007.

RIBEIRO, E.L. et al., Phenotypic aspects of oral strains of *C. albicans* in children with Down's syndrome. **Braz. J. Biol.**, 66(3): 939-944, 2006

ROZONE, G.; MUSTACCHI, Z. **Síndrome de Down Aspectos Clínicos e Odontológicos**, São Paulo: CID. 1990. p. 248.

RUCHEL, R.; TESELLER, R.; TROST, M. A comparison of secretory proteinases from different strains of *C. albicans*. **Sabouraudia**, 20: 233-244, 1982.

SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. p. 388.

SUZUKI, L. C. Desenvolvimento de biofilme formado por *Candida albicans* in vitro para estudo da terapia fotodinâmica. 2009. 48f. **Tese (Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear - Materias)**- Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

TOMMASO, A.M.A. Glicogenose. **Hepcentro Laboratório**. São Paulo. 2004. Disponível em: <<http://www.hepcentro.com.br/glicogenoses.htm>>. Acesso em 30 agosto 2010.

TRABULSI, L.R., ALTERTHUM F. **Microbiologia**. 4ª ed. São Paulo. Ed. Ateneu. p. 495 – 500, 2005.

VIDOTTO, V.; PONTÓN, J.; AOKI, S.; QUINDÓS, G.; MANTOAN, B.; PUGLIESE, A.; ITO-KUWA, S.; NAKAMURA, K. Differences in extracellular enzymatic activity between *C. dubliniensis* and *C. albicans*. **Rev. Iberoam. Micol.**, 21: 70-74, 2002.

WILLIS, A. M. et al., Identificação microbiológica e sensibilidade in vitro de *Candida* isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n3, p. 272-276, 2007.