

# Influência da Saliva na Estomatite Protética

Maria Helena Figueiral\*, António Mano Azul\*\*, Patrícia Fonseca\*\*\*

Eugénia Pinto\*\*\*\*, Fernando Morais Branco\*\*\*\*\*

**Resumo:** A Estomatite Protética (EP) afecta quase metade da população portuguesa portadora de prótese removível superior e está claramente associada à infecção por fungos. Atendendo a esta prevalência, torna-se importante entender os factores predisponentes que lhe estão associados. Um desses factores é a saliva, cuja quantidade e pH podem condicionar o crescimento fúngico na cavidade oral. Este estudo teve como principal objectivo pesquisar a possível relação da saliva (quantidade e pH) com a presença de fungos e de EP. A população estudada foi constituída por 99 indivíduos adultos, de ambos os sexos, portadores de prótese acrílica maxilar que frequentam a consulta de Prótese Removível da FMDUP. Procedeu-se ao estudo da saliva com Dentobuff® Strip (determinação da taxa de secreção de saliva estimulada e do pH salivar). Seguiu-se o exame microbiológico de culturas da saliva em Sabouraud Dextrose Agar e avaliação do crescimento microbiano, através da contagem de UFC. Constatámos que a relação entre a quantidade de saliva e a presença de fungos é estatisticamente significativa ( $p=0,041$ ), o mesmo não se verificando com a presença de EP ( $p=0,830$ ). Relativamente ao pH, da análise estatística comparativa entre os grupos com e sem EP resulta um valor de  $p=0,205$ , não se tendo encontrado diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. No entanto, relativamente à presença de fungos, a diferença do pH da saliva entre os dois grupos era estatisticamente significativa ( $p=0,007$ ). Conclusão: a menor quantidade e o baixo pH da saliva estão directamente associados à presença de fungos, mas não à existência de EP.

**Palavras-Chave:** Prótese Removível; Estomatite Protética; Saliva

**Abstract:** The Denture-Induced Stomatitis (DIS), affects almost half of Portuguese population wearing upper removable prosthesis and is clearly associated to the infection by yeasts. Considering its prevalence, it becomes important understand the predisposing factors that are associated with DIS. One of those factors is the saliva, whose quantity and pH can conditioned the growth of yeasts in the oral cavity. The principal aim of this study was to research the possible relationship of the saliva (quantity and pH) with the presence of yeasts and DIS. The studied population was constituted by 99 adult individuals of both sexes, wearing maxillary acrylic prosthesis that frequented the consultation of Removable Prosthesis of FMDUP. The study of the saliva was done with Dentobuff® Strip (determination of the rate of secretion and the pH of the stimulated saliva). Then it was done the microbiological exam of the saliva in Sabouraud Dextrose Agar and evaluation of the microbial growth, through UFC counting. We verified that the relationship between the quantity of saliva and the presence of yeasts is statistically significant ( $p=0,041$ ); the same is not true to the presence of DIS ( $p=0,830$ ). Relatively to the pH, the comparative statistical analysis between the groups with and without DIS gives us a  $p=0,205$ , so didn't exist statistic significant differences between the two groups. However, relatively to the presence of yeasts the difference of the saliva pH between the two groups was statistically significant ( $p=0,007$ ). Conclusion: The smallest quantity and the low pH of the saliva are directly associated with the presence of yeasts, but not with the existence of DIS.

**Key-words:** Removable Prosthesis; Denture-Induce Stomatitis; Saliva

(Figueiral MH, Azul AM, Fonseca P, Pinto E, Branco FM. Influência da Saliva na Estomatite Protética. Rev Port Estomatol Cir Maxilofac 2006;47:197-202)

\*Médica Dentista, Professora Associada da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

\*\*Médico Estomatologista, ISAVE

\*\*\*Médica Dentista, Mestre em Reabilitação Oral pela Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

\*\*\*\*Professora Auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

\*\*\*\*\*Professor Catedrático da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

## INTRODUÇÃO

A Estomatite Protética (EP), patologia oral que afecta quase metade da população portuguesa portadora de prótese removível superior<sup>(1)</sup>, está claramente associada à infecção por fungos leveduriformes, em particular a *Candida albicans*<sup>(2-9)</sup>. Atendendo à prevalência desta patologia, torna-se importante entender os factores predisponentes que lhe estão associados para, tanto quanto possível, os corrigir ou eliminar.

Sendo a *Candida* um fungo comum e comensal do organismo humano, é necessário que ocorram determinadas circunstâncias para que se torne patogénica<sup>(10)</sup>.

A presença de uma prótese, que impede a normal auto-limpeza e massagem da mucosa de suporte e o contacto permanente desta com a saliva, cria um ambiente propício ao desenvolvimento de fungos, sendo por si só um factor que facilita o desenvolvimento de EP. Contudo, há muitos portadores de prótese que não apresentam qualquer sinal de inflamação da mucosa o que nos leva a concluir que têm de coexistir outros factores para haver EP.

Têm sido referidos vários factores predisponentes para as Candidoses orais, que também se aplicam à EP uma vez que é considerada pela maioria dos autores uma lesão associada à *Candida*<sup>(8,9,11)</sup>. Um desses factores é a saliva que, para além de reduzir a capacidade de adesão da *C. albicans*, é um potente inibidor da síntese da protease ácida deste fungo, pelo que é uma boa defesa contra as candidoses orais<sup>(12-16)</sup>. Assim, todas as situações que provoquem diminuição da quantidade de saliva - Síndrome de Sjögren<sup>(17,18)</sup>, radioterapia da cabeça e pescoço<sup>(19-26)</sup>, fármacos xerostomizantes<sup>(18,20,28,29)</sup> - favorecem o estabelecimento da EP<sup>(20,29,30)</sup>.

Por outro lado, sempre que há descida do pH da saliva (nomeadamente pela ingestão de hidratos de carbono) criam-se condições para o desenvolvimento de fungos<sup>(30)</sup> e, consequentemente, de EP.

Por isso, decidimos pesquisar a possível relação da saliva (quantidade e pH) com a presença de fungos e de EP.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A população estudada era constituída por 99 indivíduos adultos (maiores de 18 anos), de ambos os sexos, portadores de prótese acrílica maxilar com recobrimento de pelo menos 50% do palato duro que frequentavam a consulta

de Prótese Removível da Faculdade de Medicina Dentária do Porto. Foram excluídos os pacientes com patologias e/ou medicação com efeito xerostomizante.

Dos 99 indivíduos que constituíram a amostra, 58 (58,6%) eram do sexo feminino e 41 (41,4%) eram do sexo masculino.

As suas idades variavam entre o valor mínimo de 18 anos e o máximo de 86 anos, sendo a idade média de 60,9 anos.

### Avaliação da presença de Estomatite Protética

Os pacientes observados foram classificados em casos (com presença de EP) e controlos (sem EP). Consideramos EP todo o processo inflamatório da mucosa de suporte de uma prótese dentária removível, parcial ou total<sup>(1,2)</sup>. Este processo inflamatório inclui os 3 tipos da classificação de Newton<sup>(31)</sup>: tipo I - inflamação simples localizada; tipo II - inflamação simples generalizada e tipo III - hiperplasia papilar do palato. Assim sendo, a EP estava presente em 45 dos pacientes observados sendo os restantes 54 controlos (sem EP).

### Estudo da Saliva

Procedeu-se ao estudo da saliva por intermédio de um produto de diagnóstico, o Dentobuff® Strip (Orion Diagnostica), que nos permite atingir dois objectivos:

a) Determinar a taxa de secreção de saliva estimulada por mastigação de um bloco de parafina. Para isso adoptámos a seguinte metodologia, de acordo com as instruções do fabricante:

1. o paciente não deve ingerir alimentos nem fumar desde pelo menos uma hora antes da realização das provas; aconselha-se que o paciente adopte uma postura direita e relaxada;
2. o paciente deverá mastigar o bloco de parafina incluída no estojo durante 30 segundos, cuspidando ou engolindo a saliva segregada;
3. o paciente mastigará o bloco de parafina durante mais 5 minutos, recolhendo a saliva num vaso graduado;
4. após 5 minutos, é medida a quantidade de saliva e determinada a velocidade de secreção. A velocidade normal de secreção é de aproximadamente 1 ml/min. Valores inferiores a 0,7 ml/min são considerados muito baixos.

b) Determinar o pH salivar. Do mesmo modo, de acordo com as instruções do fabricante, procedemos da seguinte forma:

1. colocou-se a tira da prova Dentobuff® Strip, com a superfície de prova para cima, sobre uma superfície absorvente (um guardanapo de papel), sem tocar na zona da prova;
2. deitou-se uma gota da saliva recolhida após estimulação, com a ajuda da pipeta que vem incluída no estojo, sobre toda a superfície de prova;
3. cinco minutos depois, foi comparada a cor da superfície de prova com o índice de cores fornecido pelo Dento-buff® Strip: à cor azul correspondia a um pH maior ou igual a 6, à verde, um pH entre 4,5 e 5,5 e à amarela, um pH menor ou igual a 4 (Figura 1).

Uma coloração irregular (mistura de cores), pode ser devida à mucina da saliva. Neste caso, o pH da saliva determina-se pela cor de valor mais baixo. No entanto, se a coloração for demasiado irregular, a prova deverá ser repetida.

### Avaliação da presença de fungos

A saliva foi conservada em recipientes estéreis, de forma a permitir o exame microbiológico.

Realizaram-se 2 culturas por cada participante:

#### A) Saliva estimulada

Com uma micropipeta Gilson recolheram-se 200 µl da saliva estimulada por mastigação de um bloco de parafina. Esta amostra foi semeada por inundação e espalhamento sobre a superfície do meio;

#### B) Diluição da saliva estimulada

Conforme descrito no ponto anterior, recolheram-se 20 µl de saliva estimulada e diluíram-se em 180 µl de água destilada esterilizada, totalizando, assim, os mesmos 200 µl do ponto anterior. Todo o restante procedimento foi idêntico ao anteriormente referido.

As amostras colhidas foram semeadas em placas de Petri contendo meio de Sabouraud Dextrose Agar, adicionado de substâncias com propriedades antibacterianas (Gentamicina + Cloranfenicol) e de um indicador (tetrazólio-TTC) (SANOFI Pasteur - referência 63734). Optámos por um meio de cultura com estes antibióticos de forma a inibir o crescimento de bactérias sensíveis, as quais provavelmente também estariam presentes e, assim, poderíamos obter culturas maioritariamente de fungos leveduriformes.

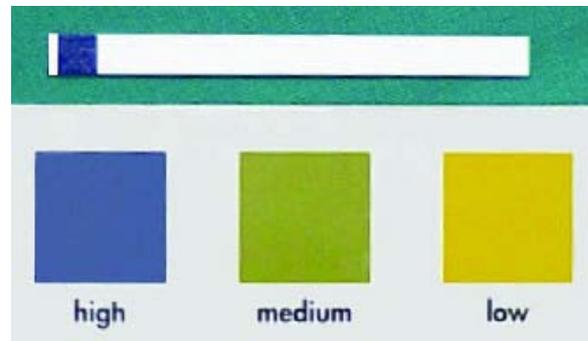


Figura 1 - Teste de saliva – determinação do pH da saliva estimulada

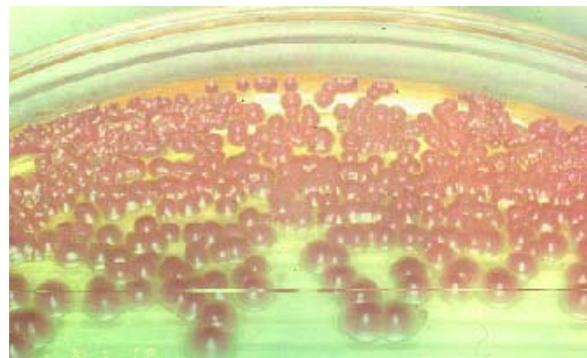


Figura 2 - Placa com colônias de fungos leveduriformes (unidades formadoras de colônias).

A incubação das placas para o desenvolvimento dos fungos ocorreu, para qualquer das amostras, em estufa a 37°C e durante 48 horas, após as quais se procedeu à avaliação do crescimento microbiano, através da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e registou-se o crescimento microbiano existente em cada uma das placas (Figura 2).

Todos os dados recolhidos foram analisados no programa estatístico Epi-info versão 6.04a.

## RESULTADOS

### Quantidade de saliva

Avaliámos a taxa de salivacão em ml por 5 minutos. Agrupámos os resultados encontrados em duas categorias:

- Hipossalivação: inferior a 4 ml / 5 min.
- Salivação normal: igual ou superior a 4 ml / 5 min.

No estudo desta variável obtivemos hipossalivação em 33,3% da população, apresentando os restantes 66,7% uma taxa de salivação normal.

Pela análise estatística verificámos que a quantidade de saliva está significativamente relacionada com a presença de fungos ( $p=0,041$ ), mas não com a EP ( $p=0,830$ ) (Tabela 1).

VARIÁVEIS A ANALISAR			COM EP	SEM EP	Valor de p	COM FUNGOS	SEM FUNGOS	Valor de p
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	
QUANTIDADE DE SALIVA (ml/5mn) n=99	0-3,9	33(33,3)	15 (45,5)	18 (54,5)	<b>0,830</b>	27 (81,8)	6 (18,2)	<b>0,041</b>
	= ou >4	66(66,7)	30 (45,5)	36 (54,5)		39 (59,1)	27 (40,9)	
pH DE SALIVA n=99	4,5-5,5	12 (12,1)	8 (66,7)	4 (33,3)	<b>0,205</b>	12 (100)	0 (0,0)	<b>0,007</b>
	>ou =6	87 (87,9)	37 (42,5)	50 (57,5)		54 (62,1)	33 (37,9)	

Tabela 1 - Frequência da quantidade de pH da saliva na população e distribuição nos grupos com e sem Estomatite Protética (EP)

Os nossos resultados indicam que a idade não afecta significativamente a taxa de secreção salivar ( $p=0,096$ ), o mesmo não acontecendo com o sexo, tendo os homens um maior fluxo salivar do que as mulheres ( $p=0,001$ ).

### pH salivar

Na população estudada não encontramos nenhum valor de pH da saliva igual ou inferior a 4,0. A um pH entre 4,5 e 5,5 correspondia 12,1% ( $n=12$ ) da população e a grande maioria (87,9% -  $n=87$ ) tinha um pH maior ou igual a 6,0.

Relativamente a esta variável, a análise estatística comparativa entre os grupos com e sem EP dá-nos um valor de  $p=0,205$ , verificando-se, assim, que não existia diferença significativa entre os dois grupos no que se refere ao pH da saliva.

No entanto, relativamente à presença de fungos a diferença do pH da saliva entre os dois grupos era significativa ( $p=0,007$ ), já que se detectou a presença de fungos em todos os indivíduos com pH inferior a 6 e só em 62,1% dos indivíduos com pH maior ou igual a 6 (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

Segundo Närhi *et al.*<sup>(30)</sup>, são considerados níveis de hipossalivação os valores de secreção de saliva não estimulada abaixo de 0,1 ml/min e de saliva estimulada abaixo de

0,8 ml/min. De acordo com estes critérios, um terço da nossa população (33,3%) apresenta níveis de hipossalivação.

No nosso trabalho não encontramos relação entre a taxa de secreção salivar e o estabelecimento de EP.

Contudo, em relação à contagem de fungos na saliva estimulada existia uma diferença significativa entre os indivíduos com hipossalivação e com taxa de secreção salivar normal, sendo detectado um maior número de fungos no primeiro grupo. Estes resultados levam-nos a pensar que a saliva poderá ter um efeito inibidor sobre a colonização por fungos, dificultando o estabelecimento de patologia.

De acordo com Närhi *et al.*<sup>(30)</sup>, quanto menor a taxa de secreção de saliva, maior o número de fungos recolhidos da área de suporte da prótese. A explicação apontada para este resultado seria o facto da utilização de prótese maxilar impedir a saliva de chegar ao palato e não permitir que os factores antimicrobianos da saliva actuassem.

Para Sakki *et al.*<sup>(29)</sup>, a taxa de secreção de saliva é uma das variáveis mais fortemente associada à EP e à presença de fungos.

A taxa de secreção salivar pode ser influenciada por diversos factores. Na nossa investigação, constatámos que a classe de hipossalivação era na sua maioria (81,8%) constituída por mulheres. De acordo com os nossos resultados estão os de Parvinen e Larmas<sup>(32)</sup>, que concluíram que o sexo tem importância na secreção salivar, tendo os

homens mais fluxo salivar que as mulheres, enquanto que a idade não afecta significativamente a taxa de secreção salivar.

Neste estudo, encontrámos diferenças estatisticamente significativas relativas à presença de fungos e ao pH da saliva. Apesar dos valores de pH que encontrámos não variarem muito, ainda assim, a presença de fungos é tanto mais frequente quanto mais baixo é o pH da saliva.

Olsen e Birkeland<sup>(33)</sup> verificaram que nem o pH da saliva nem o da placa microbiana da prótese afectam a patogenicidade da *C. albicans*. Todavia, Närhi *et al.*<sup>(30)</sup>, numa população com 307 indivíduos, encontraram a seguinte relação entre o pH da saliva e a presença de fungos: em indivíduos com pH da saliva menor ou igual a 4, observaram contagem de fungos elevada em 52% dos casos; quando o pH se situava entre 4,5 e 5,5 a percentagem de indivíduos com contagem elevada baixou para 31%; para pH igual ou superior a 6 encontraram 25% de casos com contagem elevada.

Para Parvinen e Larmas<sup>(32)</sup>, o pH da saliva que, segundo estes autores, não é significativamente influenciado pela idade, interfere na adesão da *C. albicans*, facilitando-a quando o seu valor é baixo. Por sua vez, a actividade da *C. albicans* ainda leva a uma maior queda do pH, optimizando-se, assim, as condições para o desenvolvimento deste fungo.

A relação entre a saliva (quantidade, pH, constituintes) e a patogenicidade da *Candida albicans*, nomeadamente no que se refere à sua capacidade de adesão, continua a ser alvo de variados estudos e publicações<sup>(11-14)</sup>. À semelhança do nosso trabalho, todos eles têm vindo a confirmar a influência da saliva no desenvolvimento fúngico.

## CONCLUSÃO

A menor quantidade e o baixo pH da saliva estão directamente associados à presença de fungos, mas não à existência de EP.

## BIBLIOGRAFIA

1. Figueiral MH: Tese de Doutoramento: Estomatite Protética - Identificação e caracterização dos factores etiológicos e predisponentes. Porto: Faculdade de Medicina Dentária do Porto, 2000.
2. Budtz-Jørgensen E, Theilade E, Theilade J: Quantitative relationship between yeasts and bacteria in Denture-Induced Stomatitis. *Scand J Dent Res* 1983; 91: 134-42.
3. Bergendal T, Isacson G: A combined clinical, mycological and histological study of denture stomatitis. *Acta Odontol Scand* 1983; 1: 33- 44.
4. Theilade E, Budtz-Jørgensen E: Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with Denture-Induced Stomatitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3: 8-13.
5. Catalan A, Herrera R, Martinez A: Denture plaque and palatal mucosa in Denture Stomatitis: scanning electron microscopic and microbiologic study. *J Prosthet Dent* 1987; 57: 581-6.
6. Frank R, Steuer P: Transmission electron microscopy of plaque accumulation in Denture Stomatitis. *J Prosthet Dent* 1985; 53: 115-124.
7. Ellepola A, Samaranayake L: Adhesion of oral *Candida albicans* isolates to denture acrylic following limited exposure to antifungal agents. *Arch Oral Biol* 1998; 43: 999-1007.
8. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL, Redding SW: Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98:53-9.
9. Yildirim MS, Hasanreisoglu U, Hasirci N, Sultan N: Adherence of *Candida albicans* to glow-discharge modified acrylic denture base polymers. *J Oral Rehabil* 2005;32:518-25.
10. Fetter A, Partisani M, Koenig H, Kremer M, Lang J: Asymptomatic oral *Candida albicans* carriage in HIV-infection: frequency and predisposing factors. *J Oral Pathol Med* 1992; 22: 57-9.
11. Holmstrup P, Axell T: Classification and clinical manifestations of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990; 48: 57- 59.

12. Moura JS, da Silva WJ, Pereira T, Del Bel Cury, Rodrigues Gracia RC: Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four *Candida* species. *J Prosthet Dent* 2006;96:205-11.
13. Holmes AR, Bandara BM, Cannon RD: Saliva promotes *Candida albicans* adherence to human epithelial cells. *J Dent Rest* 2002;81:28-32.
14. San Millan R, Elguezabal N, Regulez P, Moragues MD, Quindos G, Ponton J: Effect of salivary secretory IgA on the adhesion of *Candida albicans* to polystyrene. *Micriobiology* 2000;146:2105-12.
15. Edgerton M, Scannapieco FA, Reddy MS, Levine MJ: Human submandibular-sublingual saliva promotes adhesion of *Candida albicans* to polymethylmethacrylate. *Infect Immun* 1993;61:2644-52.
16. Germaine GR, Tellefson LM: Effect of pH and Human Saliva on Protease Production by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1981; 31: 323-326.
17. Dorey J, Blasberg B, MacEntee M, Conklin R: Oral Mucosal Disorders in Denture Wearers. *J Prosthet Dent* 1985; 53: 210- 213.
18. Budtz-Jørgensen E: Etiology, pathogenesis, therapy and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990; 48: 61- 69.
19. Dreizen S: Oral Candidiasis. *Amer J Med* 1984: 28- 33.
20. Kostiala I, Kostiala AAI, Kahanpaa A: Oral Mycoses and their treatment. *Acta Odontol Scand* 1979; 37: 87-101.
21. Dreizen S, Mccredie KB, Keating MJ, Bodey GP: Oral Infections Associated With Chemoterapy in Adults With Acute Leukemia. *Oral Inf Leukemia* 1982; 71: 133-46.
22. Rifkind D, Marchioro TL, Schneck SA, Hill RB: Systemic Fungal Infections Complicating Renal Transplation and Immunosuppressive Therapy. *Am J Med* 1967; 43: 28-38.
23. Rutkauskas JS, Davis JW: Effects of Chlorhexidine during Immunosuppressive Chemotherapy: A Preliminary Report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 441-48.
24. Epstein JB, Freilich MM, Le ND: Risk Factors for Oropharyngeal Candidiasis in Patients Who Receive Radiation Therapy for Malignant Conditions of the Head And Neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 169-74.
25. Silverman S, Luangjarmekorn L, Greenspan D: Occurrence of Oral *Candida* in Irradiated Head and Neck Cancer Patients. *J Oral Med* 1984; 39: 194-6.
26. Ramirez-Amador V, Silverman S, Mayer P, Tyler M, Quivey J: Candidal colonization and oral candidiasis in patients undergoing oral and pharyngeal radiation therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 84: 149-53.
27. Lucas V: Association of psychotropic drugs, prevalence of denture-related stomatitis and oral candidosis. *Com Dent Oral Epidemiol* 1993; 21: 313-16.
28. Fotos P, Vincent S, Hellstein J: Oral Candidosis - Clinical, historical and therapeutic features of 100 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74: 41-9.
29. Sakki T, Knuuttila M, Laara E, Anttila S: The association of yeasts and Denture Stomatitis with behavioral and biologic factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1997; 84: 624-9.
30. Närhi TO, Ainamo A, Meurman JH: Salivary Yeasts, Saliva and Oral Mucosa in the Elderly. *J Dent Res* 1993; 72: 1009-14.
31. Newton A: Denture Sore Mouth - A Possible Etiology. *Br Dent J* 1962: 357- 360.
32. Parvinen T, Larmas M: Age dependency of Stimulated Salivary Flow Rate, pH, and Lactobacillus and Yeast Concentrations. *J Dent Res* 1982; 61: 1052- 1055.
33. Olsen I, Birkeland J: Denture Stomatitis - Yeast occurrence and pH of saliva and denture plaque. *Scand J Dent Res* 1977; 85: 130- 134.