



## **AÇÃO DE SOLUÇÃO AQUOSA DE ERVA MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) NAS CARACTERÍSTICAS SUPERFICIAIS DE CANDIDA ALBICANS NO PROCESSO DE ADESÃO EM RESINA ACRÍLICA**

Bianca Martins Lachimia (PIBIC/FA), André Gasparetto (Orientador), e-mail: bilachimia@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR

### **Ciências da Saúde - Odontologia**

**Palavras-chave:** hidrofobicidade, biofilme, colonização

#### **Resumo:**

A erva mate (*Ilex paraguariensis*) é um vegetal de amplo uso na região sul do Brasil, consumida preferencialmente na forma de chimarrão. O objetivo desta pesquisa foi verificar o efeito desta infusão sobre o processo de colonização de *Candida albicans* em superfície de resina acrílica de uso odontológico. Foram realizados ensaios que quantificaram os efeitos nas características hidrofílicas ou hidrofóbicas desta levedura e os efeitos na adesão em resina acrílica e a formação de biofilme.

#### **Introdução**

As espécies de *Candida* fazem parte da microbiota oral de aproximadamente 50% da população. Em indivíduos imunocomprometidos, podem comportar-se como patógenos oportunistas, produzindo infecções que vão desde lesões mucosas superficiais até disseminações sistêmicas graves e invasivas, potencialmente fatais.<sup>1,2</sup> Além de diversas formas de candidose oral, essas leveduras podem estar envolvidas em lesões endodônticas persistentes e doenças periodontais.<sup>3</sup> A espécie mais comumente isolada dessas infecções é *C. albicans*, seguida das espécies *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*.<sup>4</sup> Tratando-se das características superficiais da *Candida albicans*, alguns estudos indicam que o nível de





hidrofobicidade da superfície celular está intimamente relacionado ao potencial patogênico. Sendo a adesão um pré-requisito na colonização e infecção, o seu papel na patogenicidade de diversas doenças causadas por fungos é amplamente reconhecido. É tido que o estágio inicial de várias doenças microbianas envolve a adesão de microorganismos no tecido alvo.<sup>5</sup> Na cavidade oral, próteses em geral, restaurações de resina composta e aparelhos ortodônticos, são susceptíveis à colonização e à patogênese de leveduras. A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma árvore nativa da América do Sul, utilizada para o preparo e consumo de chá, chimarrão, ou tereré, tem sido estudada ao longo dos anos, visto suas propriedades e possibilidade de seu uso na indústria farmacêutica. No Brasil, a região Sul e o estado do Mato Grosso do Sul destacam-se como consumidores da erva-mate, e pode ser consumida com água gelada, o tereré também como chá ou chimarrão pelo processo de infusão. Apesar destes estados estarem a frente na quantidade de consumo, o seu uso é disseminado por todo território brasileiro, portanto de grande relevância na pesquisa.<sup>6</sup>

## **Materiais e métodos**

### *Cepas e condições de cultura*

As cepas de *Candida albicans* (ATCC 90028), foram obtidas do estoque de culturas de leveduras do Laboratório de Micologia Médica da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

Para todos os ensaios, as amostras foram reativadas em Caldo Sabouraud Dextrose (CSD) por 24 h a 35°C, e após, cultivadas em Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) por mais 24 horas. Colônias isoladas de culturas de *C. albicans*, foram suspensas em uma solução salina tampão fosfato (PBS) até a concentração requerida para cada ensaio. As concentrações celulares finais em cada suspensão foram ajustadas microscopicamente em câmara de Neubauer.

### *Hidrofobicidade*

Após cultivo em caldo sabourand, por 24 horas, as células foram sedimentadas, por meio de centrifugação a 3.000 g, durante 5 minutos e em seguida lavadas três vezes com solução tampão fosfato uréia magnésio (PUM) e ressuspensas no mesmo tampão até atingir concentração de  $10^7$  células/ml. Alíquotas de da suspensão foram transferidas placas de 96





poços e em seguida adicionado de n-hexadecano. A mistura permaneceu incubada em banho maria por 10 minutos a 30°C.

Em seguida foi homogeneizada em agitador de tubos, por dois intervalos de 30 segundos, com 5 segundos de repouso entre eles. Então foi transferida para uma placa de 96 poços onde foi determinada a leitura em placa.

Os testes foram realizados em triplicata e o resultado expresso com o percentual de células adsorvidas ao n-hexadecano, em relação ao controle, no qual não será adicionado o n-hexadecano. Os isolados foram considerados hidrofóbicos quando mais de 50% das células migrarem do Tampão PUM para o n-hexadecano e hidrofílicos quando mais de 50% das células permanecerem no tampão PUM.

## Resultados e Discussão

No ensaio da hidrofobicidade, contia no tubo sem extrato: 350 µl do inóculo da levedura (concentração  $10^7$ ) + 350 µl (diluyente), já nos tubos com infusão de erva mate tínhamos 350 µl do inóculo da levedura (concentração  $10^7$ ) + 350 µl (infusão erva mate).

Nos tubos contendo inóculo e diluyente, foram lidos com uma porcentagem de 3, sendo considerada uma amostra hidrofóbica. O mesmo aconteceu com os tubos onde contia a infusão da erva mate, porem a leitura foi de 2%. Sendo assim pode-se afirmar que as leveduras se mostraram mais hidrofóbicas na presença da erva mate que em ambiente sem o extrato.

## Tabela Hidrofobicidade

Composição	Porcentagem de contagem
Inóculo + diluyente	3% de células
Inóculo + infusão erva mate	2% de células

## Conclusões

Quando células hidrofóbicas e hidrofílicas são comparadas, as hidrofóbicas aderem mais à superfície e à objetos inanimados, assim como, são mais resistentes à fagocitose e tem maior capacidade em formar tubos germinativos. A hidrofobicidade da superfície celular no gênero *Candida* varia com as condições de crescimento, morfologia celular, condições da fase de crescimento e mesmo entre as diferentes espécies do gênero.





As características de cada microorganismo são alteradas quando são expostas a diferentes compostos, no caso dessa pesquisa, a erva mate em forma de infusão exerceu um efeito pequeno mas significativo, pois aumentou o potencial hidrofóbico que a célula fungica apresentava.

### Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador a oportunidade de participar de um projeto de iniciação científica de uma instituição acadêmica. Aos co-autores por se mostrarem tão dedicados ao auxiliar na realização dos ensaios, leitura, e processo de aprendizado. Agradeço também a instituição por promover projetos tão enriquecedores como este.

### Referências

1. DE REPENTIGNY L, et al. Characterization of binding of *Candida albicans* to small intestinal mucin and its role in adherence to mucosal epithelial cells. **Infect Immun**. 2000;68:3172-9.
2. LEUNG WK, et al. Oral colonization, phenotypic, and genotypic profiles of *Candida* species in irradiated, dentate, xerostomic nasopharyngeal carcinoma survivors. **J Clin Microbiol**. 2000;38:2219-26.
3. SUNDQVIST G, et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. 1998;85:86-93.
4. SANT'ANA PL, et al. Multicenter Brazilian study of oral *Candida* species isolated from Aids patients. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2002;97:253-7.
5. PIZZO G, et al. Effect of antimicrobial mouthrinses on the in vitro adhesion of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. **Clin Oral Invest** 2001;5:172—6.
6. ELLEPOLA ANB, SAMARANAYAKE LP. The effect of limited exposure to antimycotics on the relative cell-surface hydrophobicity the adhesion of oral *Candida albicans* to buccal epithelial cells. **Arch Oral Biol** 1998;43:879—87.

