

# Ação antimicrobiana de soluções de uso doméstico sobre a espécie *Candida albicans* proveniente de cultura de estoque da cavidade bucal de idosos

## *The antimicrobial action of domestic solutions on yeast candida*

Lidianne Gama Cabral Coelho<sup>1</sup>, Lourimar Viana N. F de Souza<sup>2</sup>, Elaine Alves de Oliveira<sup>3</sup>, Suely Maria Rodrigues<sup>4</sup>, Andréa Maria Duarte Vargas<sup>5</sup>, Efigênia Ferreira e Ferreira<sup>5</sup>

### RESUMO

Leveduras comuns na cavidade bucal (gênero *Candida* e a espécie *C. albicans*), em idosos e em situações específicas (uso contínuo de próteses e higiene bucal deficiente), deixam o estado comensalista e se transformam na forma parasitária produzindo candidoses bucais. Na presente pesquisa foi verificada a atividade antimicrobiana, *in vitro*, de soluções de uso caseiro sobre a espécie *C. albicans* proveniente de cultura de estoque da cavidade bucal de idosos com ou sem lesões. O experimento foi dividido em duas etapas: na primeira, através da prova de difusão em Agar Saboraud, as soluções de vinagre caseiro, bicarbonato de sódio e hipoclorito de sódio a 2,5% foram avaliados quanto ao poder de inibição frente à espécie *Candida albicans*; na segunda etapa, através da prova do poder germicida, foi caracterizada a resistência do fungo às soluções. O resultado demonstrou que não houve halo de inibição em nenhuma das soluções testadas. Pode-se concluir que, as soluções de uso caseiro não possuem eficácia sobre a espécie *Candida albicans*; a receita caseira de higienização bucal e da prótese recomendadas pelos cirurgiões-dentistas não tem efeito algum sobre essa levedura.

**Descritores:** *Candida albicans*. Higienização de prótese. Soluções caseiras.

### INTRODUÇÃO

A cavidade bucal é um sistema de crescimento aberto. Isto significa que este local aloja uma grande variedade de microrganismos que são repetidamente introduzidos e removidos deste sistema, e, somente se estabelecem aqueles que possuem capacidade de aderência às superfícies da cavidade bucal ou que de alguma outra maneira, fiquem retidos<sup>1</sup>.

Dentro do grupo das leveduras patogênicas, estão as do gênero *Candida* que são classificadas no Reino *Fungi*, como membros do grupo *Eumycota*. A espécie mais conhecida causadora de candidoses bucais é a *Candida albicans*. Possuem tanto a capacidade fermentativa quanto assimilativa, sendo capazes de crescer em uma variedade de substratos

orgânicos e proliferam bem em cultivos aeróbicos. Desta forma, este fungo deixa a sua condição de saprófita e passa, ocasionalmente, a exercer a ação parasitária quando a virulência do mesmo supera a resistência do hospedeiro<sup>2</sup>.

*Candida albicans*, a espécie mais importante do gênero *Candida*, causa estomatite, vaginite e candidíase mucocutânea crônica, assim como outras doenças. É uma levedura oval com brotamento único. Em tecidos, pode aparecer como leveduras em brotamento ou como brotamentos alongados, chamadas “pseudohifas”. A invasão cutânea ocorre em áreas úmidas e quentes as quais se tornam avermelhadas e exsudativas<sup>3</sup>.

Esse fungo é altamente infectável devido ao seu grande nível de patogenicidade e propriedade

<sup>1</sup>Aluna do Curso de Ciências Biológicas, UNIVALE

<sup>2</sup>Prof. Adjunta do Curso de Ciências Biológicas, UNIVALE

<sup>3</sup>Bióloga, Especialista em Imuno-patologia

<sup>4</sup>Prof. Adjunta do Curso de Odontologia, UNIVALE

<sup>5</sup>Prof. Adjunta da Faculdade de Odontologia, UFMG

de aderência. É um germe comensal bucal em 40% até 65% de cavidades bucais adultas. A superfície dorsal da língua e a mucosa palatal são sítios que favorecem a candidose bucal<sup>4</sup>.

As células *C. albicans*, que crescem suplementadas com uma alta concentração de galactose, sacarose e glicose ou maltose, aderem mais ao acrílico do que células crescidas em meio contendo uma concentração mais baixa de glicose. Esta observação pode ser altamente relevante quando consideramos que uma dieta enriquecida de carboidratos pode predispor indivíduos a infecções de *C. albicans*<sup>5</sup>.

As infecções causadas pela *C. albicans* são muito comuns em portadores de próteses totais, portanto cabe ao cirurgião dentista motivar e instruir o paciente com medidas preventivas, com métodos de higiene bucal e desinfecção das próteses, a fim de evitar o acometimento dessas infecções<sup>6</sup>.

A correta manutenção das próteses removíveis é dependente dos agentes higienizadores associada à conscientização e habilidade do paciente na execução do método de higienização. É importante salientar que, tanto a conscientização do paciente como a indicação e o treinamento de um método adequado a cada um, é de responsabilidade do cirurgião-dentista. Além disso, o mesmo deve estar bem atualizado a respeito dos agentes de limpeza disponíveis no mercado e suas relações com a condição sócio-econômica e de saúde geral do paciente portador de próteses. Os limpadores químicos utilizados com mais frequência são os peróxidos alcalinos, os hipocloritos e os desinfetantes<sup>7-8</sup>.

Leveduras são comuns na cavidade bucal de indivíduos saudáveis predominando o gênero *Candida* e a espécie *C. albicans*. Em determinadas pessoas principalmente idosas, e em situações específicas (uso de próteses totais ou parciais removíveis), estes microrganismos deixam o estado comensalista podendo se transformar na forma parasitária produzindo candidoses bucais. Estas lesões podem estar relacionadas ao uso contínuo das próteses e à higiene bucal deficiente<sup>9</sup>.

A higiene apropriada das próteses é um importante meio para a manutenção da saúde bucal. Além disso, o cirurgião-dentista deve estar constantemente atualizado a respeito dos agentes de limpeza adequados e eficazes disponíveis no mercado. Os produtos químicos para higienização das próteses totais são comuns em outros países, o mesmo não ocorrendo no Brasil, onde poucos materiais são colocados à disposição do paciente e por períodos curtos de duração<sup>10</sup>.

Neste estudo, pretende-se verificar a atividade antimicrobiana de soluções de uso doméstico sobre a espécie *C. albicans*, proveniente de cultura de estoque da cavidade bucal de idosos com ou sem lesões.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Teste de difusão no Agar Saboraud

#### Soluções testadas

Foram selecionados três produtos de uso doméstico: vinagre caseiro puro, hipoclorito de sódio ativo a 2,5% e bicarbonato de sódio. As concentrações utilizadas foram:

Vinagre caseiro puro:

- Um copo - 150 ml;

- Meio copo (75 ml) de vinagre diluído em meio copo de água filtrada - 50%

- Um terço do copo (50 ml) de vinagre diluído em 100 ml de água filtrada - 33%

a) Hipoclorito de sódio ativo a 2,5%

- Uma colher de café (2 ml) diluída em um copo de água filtrada (150 ml);

- Uma colher de café (2 ml) diluída em meio copo de água filtrada (75 ml);

- Uma colher de café (2 ml) diluída em 50 ml de água filtrada.

b) Bicarbonato de sódio

- Uma colher de chá (10 g) diluída em um copo de água filtrada (150 ml);

- Uma colher de chá (10g) diluída em meio copo de água filtrada;

- Uma colher de chá (10 g) diluída em 50 ml de água.

#### Microrganismos utilizados

Os tipos de microrganismos utilizados neste estudo foram *C. albicans* e *C. albicans* ATCC. As amostras de *C. albicans* foram obtidas de pacientes idosos internos em asilos da cidade de Belo Horizonte - MG, no qual foi realizada a coleta de material da cavidade bucal dos indivíduos com ou sem lesões. Essas amostras foram mantidas em tubos de ensaio com tampa de rosca, em meio Agar Saboraud dextrosado e estocadas a 4 °C.

#### Meios de cultura

a) Ágar Saboraud (BIOBRÁS)-500g

b) Caldo Saboraud dextrosado (BIOBRÁS)- 100g

#### Controle negativo

Foi utilizado a nistatina (antibiótico) na concentração de 0,008g por 1 ml de di-metil sulfóxido(DMSO).

### Padronização e semeadura das amostras

Proveniente dos tubos de armazenagem, as colônias de *C. albicans* foram transferidas para tubos contendo caldo Saboraud, os quais foram incubados a 37°C na estufa bacteriológica por 48 horas para favorecer o crescimento do fungo.

### Procedimentos

Após o crescimento do fungo no tubo de ensaio que se encontrava na estufa, foi padronizada a turbidez do inóculo microbiano pelo método de Mac Farland do tubo 4 (12x10 UFC/ml). Semeou-se 0,1 ml da cultura de *C. albicans* na superfície do Ágar Saboraud, previamente esterilizado em autoclave por 20 minutos a 01 atm e distribuído assepticamente em placa de petri de 5,0 cm de diâmetro.

O inóculo da cultura teste foi então espalhado na superfície dos meios de cultura com auxílio de uma alça de Drigalski, deixando-se a placa secar a temperatura ambiente por um período de 15 minutos. As soluções testadas foram filtradas com o filtro de Millipore e levadas para o interior da placa de petri através de discos de papel de filtro estéreis de 6 mm de diâmetro, que foram umedecidos com a mesmas.

A incubação das placas foi realizada por um período de 24 horas à temperatura de 37 °C. Concluídos os procedimentos experimentais dessa fase, foi realizada a interpretação do resultado do trabalho através da leitura dos halos de inibição, utilizando-se régua milimetrada, sendo os valores expressos pela média aritmética, considerando que foram realizados para cada solução três testes (triplicata). Ocorrendo o mesmo procedimento para

a *C. albicans* ATCC.

### **Prova do poder germicida**

Para a realização desta fase, foram utilizadas culturas de *C. albicans* e *C. albicans* ATCC, repicadas dos tubos de armazenagem, procedendo-se novamente ao ajuste da turbidez do inóculo pela escala de McFarland de acordo com o tubo 4. A partir de então, cada inóculo foi levado a tubos de ensaio estéreis, onde os objetos (corpo de prova) de vidro confeccionado entraram em contato com a amostra microbiana durante 30 minutos.

Os corpos de prova foram retirados do tubo de ensaio procedendo-se à remoção do excesso com papel de filtro estéril, posteriormente foram imersos em outro tubo de ensaio estéril contendo as soluções: bicarbonato de sódio, hipoclorito de sódio, vinagre puro e para o controle negativo a nistatina (0,008 g/ml), durante 3 minutos, seguindo as mesmas concentrações realizadas na primeira fase. Foram repassados para outros tubos estéreis contendo 4 ml de caldo Saboraud, com incubação de 24 horas em 37°C.

Após 24 horas, foi analisada a turbidez de cada tubo. Para um resultado mais preciso, foi retirada uma alçada de cada tubo e repicada na placa petri estéril contendo Agar saboraud e incubados a 37°C por 24 horas.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Para representar as diferentes concentrações foram utilizados os respectivos códigos expressos no Quadro 1.

**Quadro 1-** Concentrações e respectivos códigos das substâncias utilizadas.

Bicarbonato de sódio	Código utilizado	Hipoclorito de sódio	Código utilizado	Vinagre	Código utilizado
10g e 150ml de água	B1	2ml e 150ml de água	H1	Vinagre puro	V1
10g e 75ml de água	B2	2 ml e 75ml de água	H2	75ml de água 75ml de vinagre	V2
10g e 50ml de água	B3	2 ml e 50ml de água	H3	50ml de vinagre 100ml de água	V3

### **Teste de Difusão no Agar Saboraud**

As culturas de *C. albicans* provenientes da cavidade bucal de idosos e a *C. albicans* ATCC apresentaram os mesmos resultados em relação às

soluções das diferentes concentrações. A Tabela 1 demonstra que a levedura (*C. albicans*) possui resistência em relação às três soluções testadas.

**Tabela 1-** Distribuição da eficácia das soluções em relação à levedura.

Levedura	Hipoclorito de sódio	Vinagre	Bicarbonato de sódio
<i>C. albicans</i>	0	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC	0	0	0

Com relação às três concentrações de bicarbonato de sódio testadas, não houve nenhum halo de inibição. Alguns trabalhos científicos indicam esta solução para a higienização bucal e de próteses removíveis, porém não há na literatura nenhum estudo que comprove sua eficácia.<sup>11-12</sup>

De acordo com Marchini et al.<sup>13</sup>, o hipoclorito de sódio a 2,5% (puro) apresenta ação bactericida e fungicida. Neste experimento pode-se observar que as soluções testadas (H1, H2 e H3) não inibiram a levedura, pois não houve a presença de halo.

Em relação aos discos umedecidos em vinagre, os mesmos não apresentaram halo de inibição. Sesma et al.<sup>14</sup> indicam a utilização periódica de solução contendo vinagre para higienização das próteses removíveis (total e parcial). No entanto, este experimento comprovou que a solução de vinagre não possui nenhuma ação inibitória sobre a *C. albicans*.

Houve um crescimento da levedura sem tentativa de inibição no controle positivo, ou seja, o disco não foi umedecido em nenhuma solução.

Segundo Lima et al.<sup>15</sup> a concentração inibitória mínima para a ação da nistatina varia de 1,56 a 6,25g/ml. A concentração da nistatina utilizada nesta pesquisa para o controle negativo foi de 0,008g/ml, dosagem esta relativamente alta quando comparada com o autor citado, mas foi a única que conseguiu inibir a *C. albicans*. Porém, a metodologia possui influência na concentração que deve ser usada, como por exemplo, a difusão no agar saboraud exige uma concentração maior, pois é um meio sólido. Na prova do poder germicida apesar de ser um meio líquido, o corpo de prova (bastão) ficou pouco tempo em contato com o antifúngico. Nas duas placas pode-se observar um halo de inibição de 10mm, ou seja, um tamanho significativo para este tipo de controle.

### Prova do Poder Germicida

Os resultados da segunda fase do experimento apresentaram crescimento microbiano. Os inóculos foram repicados em placas de petri com Agar Saboraud e observados após 24 horas o crescimento dos mesmos. Pode-se comprovar uma turbidez presente nos tubos B1 e B2 da *C. albicans* e ATCC, ou seja, houve resistência dos microrganismos.

Observou-se um crescimento da levedura tanto em H1 como em B3 da *C. albicans*. As concentrações H2 e H3 apresentaram crescimento microbiano, porém menor quando comparado com todas as outras soluções e concentrações testadas neste experimento.

Ficou demonstrado neste estudo que houve resistência da levedura sobre V1 e V2. Como também um crescimento da levedura em V3 e o controle positivo.

Não se descarta a possibilidade dessas soluções possuírem efeito levedurístico sobre a *C. albicans*, uma vez que a higienização recomendada pelos cirurgiões-dentistas possa ter efeito preventivo ou mesmo sobre uma candidíase atrófica, pois, ainda não há uma grande quantidade de colônias. No presente trabalho a quantidade de colônias do fungo foi alta, simulando talvez, uma candidíase aguda pseudomembranosa, que neste caso, só com uso de antifúngico para deter a infecção.

### CONCLUSÃO

O experimento realizado por difusão no Agar Saboraud e na prova do poder germicida com as soluções de hipoclorito de sódio a 2,5%, bicarbonato de sódio e vinagre não apresentaram eficácia sobre a *C. albicans*.

A higienização caseira recomendada pelos cirurgiões-dentistas com estas soluções não apresentaram efeito algum. Vale lembrar, que foram testadas concentrações maiores do que aquelas indicadas por estes profissionais, mas mesmo assim não obteve eficácia, fato comprovado pelo experimento realizado.

### ABSTRACT

This comparative study aims to assess the *in vitro* antimicrobial activity of solutions for domestic use on species of *Yeast Candida*. The experiment was separated into two stages. In the first stage, using the Agar Sabouraud diffusion method, vinegar, sodium bicarbonate, and sodium hypochlorite were assessed regarding their inhibition activity against species of *Candida albicans*. The second stage characterized the fungus's resistance to the solutions by means of test results regarding the power of germicide activity. The results revealed no halo of inhibition in any of the analyzed solutions. It can therefore be concluded that domestic uses are virtually ineffective against *Candida Albicans*. Likewise, the home-made prescription for buccal and prosthesis hygiene recommended by the dental surgeons has no effect whatsoever on this yeast.

**Uniterms:** *Candida albicans*. Domestic solutions. Prosthesis hygiene.

### REFERÊNCIAS

1. Fonseca JB. Candidíases: aspectos de interesse odontológico. São Paulo: Universidade de São Paulo. 1989. 189p.

2. Chimenos E, Lopez PD. Fármacos antifúngicos utilizados em el tratamiento de la micosis. *Medicina Oral*, 1998; 3:78-90.
3. Koneman A et al. *Diagnostic microbiology*. 5 ed. New York: Lippincott Philadelphia. 1997, 390p.
4. Pinto ML. Doença periodontal no idoso: medidas preventivas. *Rev Fac Odontol Univ Fed Bahia* 1987; 7:67-74.
5. Samaranayake LP, McFarlane TW. The adhesion of yeast *Candida albicans* to epithelial cells on human origin in vitro. *Oral Biol*. 1981; 26:815-20.
6. Dixon DL et al. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. *J Prosthet Dent*. 1999; 81:207-14.
7. Nicholson RJ et al. Calculus and stain removal from acrylic resin dentures. *J Prosthet Dent*. 1968; 20:326-9.
8. Polysois GL. Denture cleasing habits: a survey. *Aust Dent J*. 1983; 28:171-3.
9. Farias JG, Sperança PA, Santana EJB. Estudo Comparativo da ação antimicrobiana de soluções desinfetantes domésticas e hospitalares sobre espécies do gênero *Candida*. *Rev Fac Odontol Univ Fed Bahia* 2001; 22:43-53.
10. Pinto-Coelho CM et al. Avaliação preliminar das lesões da mucosa bucal associadas ao uso de prótese removível. *Rev Fac Odontol Ribeirão Preto* 2000; 3:3-9.
11. Moreira AC et al. Estudo clínico e microbiológico de candidoses bucais. *Rev Fac Odontol Univ Fed Bahia* 2001; 23:54-8.
12. Gomes JB et al. Candidíase oral: aspectos etiológicos, fisiopatológicos e preventivos em portadores de próteses totais. *Revisão da literatura*. *ROBRAC* 2003;15:28-32.
13. Marchini L et al. Prótese dentária na terceira idade. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2001; 55:83-7.
14. Sesma N et al. Eficiência de métodos caseiros de higienização e limpeza de próteses parciais removíveis. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 1999; 53:351-4.
15. Lima EM et al. Avaliação dos materiais e métodos de higiene utilizados por pacientes usuários de próteses removíveis em atendimento na Clínica da FOP-UNICAMP. *Rev Odonto Ciênc*. 2004; 19:90-5.