



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

**STHEFANNE GONDIM MOTA**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO  
*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI* CONTRA ESPÉCIES  
DE *CANDIDA SPP***

**ARACAJU**

**2018**

**STHEFANNE GONDIM MOTA**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO  
*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI* CONTRA ESPÉCIES  
DE *CANDIDA SPP***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito para conclusão do curso de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Ricardo Saquete Martins Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Diego Moura Tanajura

Linha de pesquisa: Diagnóstico, tratamento e reabilitação em Saúde.

**ARACAJU**

**2018**

**STHEFANNE GONDIM MOTA**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO  
*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI* CONTRA ESPÉCIES  
DE *CANDIDA SPP***

Aracaju, 26 de julho de 2018

Monografia aprovada como requisito parcial à conclusão do curso de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

---

Prof. Dr. Paulo Ricardo Saquete Martins Filho - Orientador (Presidente)  
Universidade Federal de Sergipe

---

Me. Mário Luís Tavares Mendes - 1º Examinador  
Universidade Federal de Sergipe

---

Prof. Dr. Luiz Alves de Oliveira Neto - 2º Examinador  
Universidade Federal de Sergipe

Todos queremos crescer. Somos desesperados para chegar lá. Agarrar todas as oportunidades que pudermos para viver. Nos ocupamos tanto tentando sair do ninho que não pensamos no fato de que será frio lá fora... frio pra caramba. Porque crescer significa deixar as pessoas para trás. E no momento em que estamos firmes, estamos sozinhos.

Meredith Grey

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço a Deus, a quem devo minha vida, por nunca me abandonar e me dar forças para seguir, sempre me trazendo paz e lucidez em momentos essenciais e por iluminar meus passos, me dando a oportunidade de conviver com pessoas que me ajudaram a concretizar esse sonho.*

*À minha família por serem meu alicerce, por sempre acreditarem em meu potencial e terem me permitido trilhar este caminho, além de sempre me apoiar nos momentos mais difíceis e nas escolhas a serem tomadas.*

*A família Nascimento e ao meu amor, Marco, pelo apoio incondicional, acolhimento, generosidade e companheirismo.*

*Aos meus amigos por todo companheirismo e cumplicidade, em especial a Franciel e a Evânia por me socorrerem sempre que necessário (e olhe que foram muitas), por sempre me ouvirem, me aconselharem e me fazerem seguir em frente mesmo nos momentos mais conturbados.*

*A Jéssica Deise (in memoriam) que me fez perceber o quanto somos mortais e que um dia esse fim chegará até nós também “lá foi você, para um lugar onde eu não posso trazê-la de volta”.*

*A minha dupla Sandra Bugs, pelas risadas diárias, momentos divididos e companheirismo.*

*A todos os professores que tive o prazer de conhecer na minha jornada acadêmica, em especial aos meus orientadores Prof. Dr. Paulo Saquete e Prof. Dr. Diego Tanajura pela oportunidade de iniciação científica, aprendizagem, dedicação e pelos momentos de ensinamento no LPI.*

*A Mario Mendes que teve papel fundamental na elaboração deste trabalho e de meu conhecimento científico, além de toda paciência.*

*Aos pacientes e funcionários do Departamento de Odontologia pela compreensão e suporte durante meu aprendizado.*

*À Universidade Federal de Sergipe, minha segunda casa, abrigo e porto seguro à pesquisa e prática científica. Saber que possuímos apoio e excelência desde o ensino à produção científica, credita sonhos e idealizações que sem o apoio da instituição seriam impossíveis de serem alcançados. Orgulho de ter feito parte desta instituição.*

*Às agências de fomento, CAPES, FAPITEC e CNPq. A efetiva participação no fazer científico e apoio financeiro mostram ainda mais que a ciência não funciona sozinha, mas com a colaboração de todos os envolvidos. Meus mais sinceros agradecimentos.*

*Agradeço a todos que contribuíram no decorrer desta jornada.*

## RESUMO

Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica do *Schinus Terebinthifolius Raddi* contra espécies de *Candida spp*, Sthefanne Gondim Mota, Aracaju – SE, Brasil, 2018.

A estomatite protética (EP) é uma patologia caracterizada por um processo inflamatório moderado ou intenso, apresentando aspecto eritematoso, difuso ou pontilhado da mucosa palatina sob a base da prótese, além de edema e congestão. A etiologia da doença é multifatorial, no entanto, o uso de próteses má higienizadas, tabagismo, carência nutricional e má higienização bucal, podem atuar como fatores predisponentes, embora a infecção por candida seja considerada o principal fator etiológico. A *Candida albicans* é a espécie fúngica mais comumente associada em pacientes com EP e as próteses mucossuportadas são consideradas facilitadoras em potencial da EP. O tratamento consiste na combinação de antifúngico e higienização da prótese. Entretanto, é observado um aumento na resistência das leveduras aos tratamentos existentes. Desta forma, é urgente a avaliação de novos compostos com características antifúngicas e novos esquemas terapêuticos para o tratamento das infecções fúngicas orais. A finalidade do nosso trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade antifúngica do *Schinus Terebinthifolius Raddi* (STR) contra espécies de *Candida spp*. Inicialmente, avaliamos a atividade antifúngica do STR através do teste disco difusão e microdiluição em caldo, posteriormente avaliamos os dados através de estatística descritiva e pelo teste de Kruskal-Wallis usando GraphPad 5.0. O método do disco de fusão mostrou que todas as quatro espécies de *Candida spp*. avaliadas foram sensíveis (halo >10 mm) ao STR nas concentrações de 80%, 90% e 100% respetivamente. Os ensaios de micro diluição demonstrou que o STR reduziu a viabilidade de *C. albicans* em 97,46% ( $p < 0,0064$ ), 97,37% ( $p < 0,0064$ ), 95,78% ( $p < 0,05$ ), 94,78% ( $p < 0,05$ ) e 94,38% ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de 10%, 8%, 6%, 4% e 2% respetivamente. Para a espécie *C. glabrata* o STR diminui a viabilidade nas concentrações de 10%, 8% e 6%, apresentando uma redução de 92,43% ( $p < 0,05$ ), 91,91% ( $p < 0,05$ ) e 91,87% ( $p < 0,05$ ) respetivamente. As espécies *C. tropicalis* e *C. krusei* apresentaram um comportamento semelhante com reduções de viabilidade nas concentrações de 10% ( $p < 0,05$ ), 8% ( $p < 0,05$ ) e 6% ( $p < 0,05$ ). Dessa forma, podemos concluir que o STR possui atividade antifúngica sobre diferentes espécies de *Candida spp*, sendo um fitoterápico promissor para o tratamento da EP.

**Descritores:** *Candida*; Estomatite sob prótese; *Schinus*.

## ABSTRACT

In vitro evaluation of the antifungal activity of *Schinus Terebinthifolius Raddi* against *Candida spp* species, Sthefanne Gondim Mota, Aracaju-SE, Brazil, 2018.

The denture stomatitis (DE) is a pathology characterized by a moderate or intense inflammatory process, presenting an erythematous, diffuse or dotted aspect of the palatal mucosa under the prosthesis, in addition to edema and congestion. The etiology of the disease is multifactorial, however, the use of poorly sanitized prostheses, smoking, nutritional deficiency and poor oral hygiene may act as predisposing factors, although candida infection is considered the main etiological factor. The *Candida albicans* is the most commonly associated fungal species in patients with DE, and muco suported prostheses are considered to be potential facilitators of DE. The treatment consists on the combination of antifungal and hygiene of the prosthesis. However, an increase in yeast resistance to existing treatments is observed. Thus, it is urgent to evaluate new compounds with antifungal characteristics and new therapeutic schemes for the treatment of oral fungal infections. The aim of our study was to evaluate in vitro the antifungal activity of *Schinus Terebinthifolius Raddi* (STR) against species of *Candida spp*. Initially we evaluated the antifungal activity of the STR through the test disc diffusion and microdilution in broth, and, posteriorly, we evaluated the data through descriptive statistics and the Kruskal-Wallis test using GraphPad 5.0. The fusion disk method showed that all four species of *Candida spp.* were sensitive (halo >10 mm) at the STR at 80%, 90% and 100% concentrations respectively. Microdilution assays demonstrated that STR reduced the viability of *C. albicans* in 97.46% ( $p < 0.0064$ ), 97.37% ( $p < 0.0064$ ), 95.78% ( $p < 0.05$ ), 94.78% ( $p < 0.05$ ) and 94.38% ( $p < 0.05$ ) in the concentrations of 10%, 8%, 6%, 4% and 2% respectively. For *C. glabrata*, STR decreases the viability with at concentrations of 10%, 8% and 6%, presenting a reduction of 92.43% ( $p < 0.05$ ), 91.91% ( $p < 0.05$ ) and 91.87% ( $p < 0.05$ ) respectively. The species *C. tropicalis* and *C. krusei* presented a similar behavior with reductions in viability at concentrations of 10% ( $p < 0.05$ ), 8% ( $p < 0.05$ ) and 6% ( $p < 0.05$ ). Thus, we can conclude that STR has antifungal activity on different species of *Candida spp*, being a promising phytotherapeutic medicine for the treatment of DE.

**Keywords:** *Candida*; Stomatitis, Denture; *Schinus*.

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> Classificação de Newton A, B e C.....	15
<b>Figura 2</b> Morfologias levedura de <i>C. albicans</i> A, B e C .....	23
<b>Figura 3</b> Distribuição geográfica da espécie <i>S. terebinthifolius</i> no Brasil.....	24
<b>Figura 4</b> Folhas e frutos de <i>S. terebinthifolius Raddi</i> .....	25
<b>Figura 5</b> Perfil de sensibilidades das espécies de <i>Candida spp</i> .....	31

## **LISTA DE QUADROS**

**Quadro 1** Identificação cromogênica das espécies de *Candida spp*.....26

## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> Percentagem das espécies de <i>Candida</i> nas amostras.....	29
<b>Tabela 2</b> Média dos halos inibitórios.....	30

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**AIDS:** Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

**EP:** Estomatite Protética

**HIV:** Portadores da Imunodeficiência

**PTR:** Prótese Total Removível

**PT:** Prótese total

**SDA:** Ágar Sabouraud Dextrose

**STR:** *Schinus Terebinthifolius Raddi.*

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	12
<b>2 OBJETIVO GERAL.....</b>	14
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	15
3.1 Nomenclatura, definição e classificação da estomatite protética.....	15
3.2 Fatores etiológicos da estomatite protética.....	16
3.3 Prevalência da estomatite protética.....	17
3.4 Sinais e sintomas da estomatite protética.....	18
3.5 Diagnóstico e tratamento da estomatite protética.....	18
3.6 <i>Candida spp.</i> e sua etiologia .....	21
3.7 Morfologia da <i>Candida albicans</i> .....	22
3.8 Nomenclatura, distribuição geográfica e propriedades do <i>Schinus Terebinthifolius Raddi</i> .....	23
<b>4 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</b>	26
4.1 Desenho do estudo.....	26
4.2 Origem das amostras.....	26
4.3 Extração do óleo essencial do <i>Schinus Terebinthifolius Raddi</i> .....	26
4.4 Avaliação <i>in vitro</i> do óleo essencial de <i>Schinus Terebinthifolius Raddi</i> para diferentes linhagens clínicas e padrões de <i>Candida spp.</i> .....	27
4.4.1 Microdiluição em caldo.....	27
4.4.2 Teste disco de fusão.....	27
4.7 Avaliação estatística.....	28
<b>5 RESULTADOS.....</b>	29
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	32
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	34
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	35
<b>ANEXO - I PARECER CONSUBSTACIADO DO CEP.....</b>	41

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, as próteses podem ser classificadas de acordo com a característica de sua fixação, conforme a distribuição do esforço mastigatório ao osso alveolar e quanto ao número de dentes que irá substituir. Em relação ao suporte, as próteses podem ser classificadas como dento-suportada, dento-muco-suportada e muco-suportada (TODESCAN, SILVA, SILVA, 1996). Essa última é considerada facilitadora em potencial da estomatite protética (OLIVEIRA et al., 2000). Tal patologia é a mais prevalente entre os usuários de próteses removíveis, com uma taxa que varia de 15% a 75% (GENDREAU e LOEWY, 2011; WEBB, THOMAS, WHITTLE, 2005).

A estomatite protética (EP) é um processo inflamatório moderado ou intenso que envolve a mucosa do palato recoberta pela prótese muco-suportada (LALLA e DONGARI-BAGTZOGLOU, 2014). Na maioria das vezes, a EP é descrita como uma doença assintomática, porém, em alguns casos existem relato de dor, ardor ou prurido. Sendo assim, Newton em 1962, estabeleceu uma classificação baseada nos aspectos clínicos das EP dividindo-a em: hiperemia puntiforme, hiperemia difusa e hiperemia granular, classe I, II e III respectivamente. (DELGADO, et al., 2016).

Embora a etiologia da EP seja multifatorial, fatores como a utilização de próteses dentárias má higienizadas e precária higienização bucal, tendem a aumentar a predisposição a doença, contudo, a infecção por *Candida* é o principal fator etiológico (SILVA, MARTINS-FILHO, PIVA, 2011).

A *C. albicans* caracteriza-se por ser um microrganismo do tipo comensal, sendo o grande causador da candidíase. Esse fungo é um microrganismo comumente encontrado na boca, trato respiratório, digestivo e vaginal de pacientes saudáveis. O mesmo, entretanto, não possui o hábito de se manifestar patologicamente em ambientes saudáveis, necessitando, portanto, de um ambiente com baixa capacidade competitiva, de maneira que beneficie seu crescimento (NETO, DANESI, UNFER, 2005).

Microrganismos do gênero *Candida* estão presentes na cavidade oral de aproximadamente 50% da população, sendo normalmente assintomáticos, exceto se houver alguns fatores, como o imunocomprometimento, nos quais esse fungo pode atuar como agente infeccioso, levando a candidíase (MAYER, WILSON, HUBE, 2013; SALERNO et al., 2011).

A candidíase é a infecção fúngica mais comum na cavidade oral, sendo a *Candida albicans* a espécie mais comumente encontrada. Ela é um fungo trimórfico que pode se apresentar sob forma de levedura (inócuas), pseudo-hifa e hifa (patogênica), (BASTIDAS e HEITMAN, 2009). Esse fungo tem a capacidade de se aderir à superfície da prótese, ou seja, ao acrílico. A rugosidade superficial da resina termopolimerizável e as interações hidrofóbicas são considerados como os principais fatores que afetam essa adesão e subsequente formação de biofilme (GEBREMEDHIN et al., 2014; SKUPIEN et al., 2013). A adesão é modulada por fatores do hospedeiro, como: saliva, pH e presença de bactérias no meio bucal (WILLIAMS e LEWIS, 2000).

Os achados clínicos da mucosa bucal associados os exames laboratoriais constituem as principais formas de diagnosticar a EP (LEITE, PIVA, MARTINS-FILHO, 2015). Sendo assim, o tratamento da EP integra a combinação de antifúngico tópico, higienização da cavidade oral e da prótese, bem como a substituição da mesma. É sabido que as infecções fúngicas na cavidade bucal são de difíceis de tratar, em decorrência da etiologia multifatorial da doença e do aumento da resistência aos antifúngicos tradicionais (MARTINS-FILHO, SILVA, PIVA, 2011).

Portanto, é de suma importância o estudo de outras substâncias medicamentosas eficazes para EP e com menor efeito colateral ao paciente. Diante desse cenário as alternativas fitoterápicas são promissoras e são cada vez mais pesquisadas para tratamento de doenças da cavidade bucal (NAIR, 2016), entre elas o *Schinus Terebinthifolius Raddi* (STR). Pertencente à família Anacardiaceae, o STR possui distribuição tropical e subtropical, ocorrendo com frequência em diversos estados brasileiros, dentre eles Sergipe. Além disso, apresenta potencial efeito fungicida, catalogado pelo Ministério da Saúde como um medicamento fitoterápico eficaz, que o torna um alvo expressivo para estudos e pesquisas. (MENDONÇA, SILVA-MANN e RABBANI, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

## 2 OBJETIVO

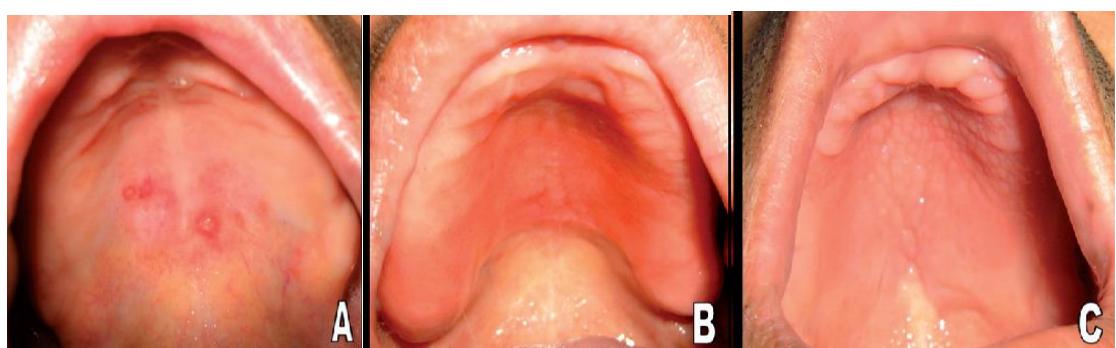
Avaliar *in vitro* a atividade antifúngica do *Schinus Terebinthifolius Raddi* contra espécies de *Candida spp.*

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Nomenclatura, definição e classificação da estomatite protética

A estomatite protética (EP) é uma patologia caracterizada por um processo inflamatório moderado ou intenso que atinge principalmente a mucosa do palato coberta total ou parcialmente pela prótese muco-suportada, apresentando alterações eritematosas, como hiperemia, edema, congestão e petequias hemorrágicas (LALLA e DONGARI-BAGTZOGLOU, 2014). Conforme dados da literatura, a EP recebe outros nomes, a exemplo: candidíase eritematosa, ferimento por dentadura, estomatite por prótese associado a *Candida spp*, estomatite induzida por prótese, candidíase associada ao uso de prótese, candidíase atrófica crônica, e outras denominações (LEITÃO, 2012).

Visando melhorias no diagnóstico da EP, Newton em 1962, elaborou uma classificação baseando-se nos aspectos clínicos das lesões, ele as dividiu em três tipos: hiperemia puntiforme (classe I), hiperemia difusa (classe II) e hiperemia granular (classe III). A Hiperemia puntiforme (classe I) - É definida pela hiperemia dos ductos de glândulas salivares palatinas menores, o que confere aspecto eritematoso puntiforme, podendo ocupar áreas dispersas ou pequenas áreas localizadas no palato (**Figura 1A**); Hiperemia difusa (classe II) - É apontado por muitos estudos como o tipo mais comumente encontrado, apresentando um mucosa lisa e atrófica, com aspecto eritematoso em toda região sob a prótese (**Figura 1B**); Hiperemia granular (classe III) - É frequentemente associada à câmara de succção, acometendo a região central do palato com aparência clínica nodular e rugosa da mucosa, como demonstrado na **Figura 1C** (SAMARANAYAKE, KEUNG LEUNG, JIN, 2009; SKUPIEN, et al., 2013; DELGADO et al., 2016).



**Figura 1 A:** Mucosa palatina com aspecto eritematoso puntiforme. **B:** Mucosa palatina lisa e atrófica com aspecto eritematoso difuso em toda região sob a prótese. **C:** Mucosa palatina com hiperplasia papilar e aspecto nodular. Fonte: (Silva, Martins-Filho e Piva, 2011).

Barbeau et al (2003) alterou a classificação proposta por Newton (1962) ao levar em consideração a extensão do processo inflamatório. As alterações proporcionaram a criação de subclasses para a EP dos tipos II e III. A subclasse A diz respeito a inflamação que se propaga em um ou dois quadrantes do palato, já a subclasse B diz respeito a inflamação que se propaga em mais de dois quadrantes do palato. Portanto, a classificação de Newton nos permite determinar os tipos de EP, enquanto as subclasses de Barbeau et al (2003) determina a extensão da inflamação palatina (LEITÃO, 2012).

Vale ressaltar, que a classificação de Newton (1962) é largamente utilizada por diversos pesquisadores, porém, ela tende a gerar desordens quando estes tentam estabelecer relações entre o tipo de EP com achados clínicos (LEITÃO, 2012).

### 3.2 Fatores etiológicos da estomatite protética

A etiologia da doença é multifatorial, e fatores como o uso de próteses dentárias, hipossalivação, má higiene bucal e da prótese, placa microbiana, radiação da cabeça e pescoço e alergia ao monômero residual, podem atuar como fatores predisponentes, no entanto, a infecção por *candida* é considerada o principal fator etiológico e protagonista da EP (LEITE, PIVA, MARTINS-FILHO, 2015; NEVES, 2015; SILVA, MARTINS-FILHO, PIVA, 2011).

De acordo com Batista et al. (1999) pacientes portadores de próteses totais (PT), frequentemente apresentam a EP, dessa forma, Oliveira et al. (2000) afirmam que as próteses muco-suportadas são consideradas facilitadoras em potencial desta patologia. Sua etiologia é controversa, podendo estar relacionada principalmente a fatores locais, como a *Candida spp* e bactérias (*Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, por exemplo), uma vez que a EP não é resultado exclusivamente de *C. albicans*, e sim resultado de biofilmes multiespécies.

Além dos fatores predisponentes e locais, fatores sistêmicos como idade avançada, HIV, tabagismo, carência nutricional, diabetes mellitus, antibioticoterapia prolongada, corticoterapia, estado de imunossupressão, quimioterapia e discrasia sanguínea facilitam a proliferação dos fungos, levando-os de comensais a patogênicos. No entanto, os estudos mostram que nenhum fator considerado isoladamente é significativo para o estabelecimento da

EP (LEITE, PIVA, MARTINS-FILHO, 2015; NEVES, 2015; SILVA, MARTINS-FILHO, PIVA, 2011).

Alinhado aos demais fatores, as interações hidrofóbicas, bem como a rugosidade superficial da resina acrílica termopolimerizável, são elementos que afetam a adesão da *candida* e subsequente a formação de biofilmes em superfícies acrílicas, atuando na inflamação da mucosa sob a prótese, provocando desta forma a EP (GEBREMEDHIN et al., 2014; SKUPIEN et al., 2013).

### **3.3 Prevalência da estomatite protética**

Na prática odontológica é comum observamos lesões orais decorrentes do uso de próteses, sendo a EP a mais prevalente, com uma taxa entre 15% a 75% (WEBB, THOMAS, WHITTLE, 2005; GENDREAU e LOEWY, 2011). Uma larga faixa da população apresenta risco de desenvolver essa doença, pois o uso de prótese dentaria é fator de risco, e segundo levantamento epidemiológico feito pelo SB Brasil (Pesquisa Nacional de Saúde Bucal) 66,7% da população brasileira faz uso de prótese total superior, com destaque para a região nordeste, 59,5% dos usuários (BIANCHI et al., 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012; THILAKUMARA et al., 2016).

Um levantamento epidemiológico proposto por Silva, Martins-filho e Piva em 2011 na região do sertão do São Francisco, em Sergipe, teve como finalidade, avaliar a prevalência de lesões da mucosa bucal relacionada a prótese. O estudo analisou 102 agricultores, onde 52 indivíduos eram usuários de prótese parcial, 45 indivíduos eram usuários de prótese total e 05 indivíduos eram usuários de ambos. Ademais, nesse estudo, dentre os usuários de prótese parcial, cerca de 79% utilizavam prótese parcial removível acrílica. As lesões mais comuns em mucosas orais relacionadas a dentadura foi a estomatite protética tipo 2 (48,2%), seguida de estomatite protética tipo 1 (21,4%) e estomatite protética tipo 3 (1,8%), constatando que a EP foi a lesão mais comum na população estudada.

O estudo realizado por Senna (2012) avaliou 61 indivíduos, com idade entre 40 e 65 anos, usuários de próteses totais removíveis (PTR) superiores, diagnosticados clinicamente com EP e que buscavam tratamento. Observou-se uma maior prevalência da estomatite protética tipo 2 (69,4 %), seguida da estomatite protética tipo 1 (16,6%) e da estomatite protética tipo 3 (13,8%), similar a sequência encontrada por Silva, Martins-Filho e Piva (2011), entretanto, com percentagens divergentes.

### **3.4 Sinais e sintomas da estomatite protética**

A EP é uma lesão comumente encontrada sobre a base das próteses, apresentando aspecto eritematoso difuso ou pontilhado na mucosa de suporte, congestão, petéquias hemorrágicas com inflamação moderada ou intensa, apesar de ser descrita como uma doença assintomática (Leite, Piva e Martins-Filho, 2015). Além disso, segundo Scalercio et al (2007) pacientes com EP podem apresentar halitose, prurido e queimação. Contudo, em alguns casos existem ainda o relato de ardor, vermelhidão e ou sangramento, inchaço, secura na boca, sabor desagradável, xerostomia e mais raramente disfagia (LEITÃO, 2012; NEVES, 2015; RAMAGE et al., 2004; ZISSIS E YANNIKAKIS, 2001).

Convém ressaltar, que a EP é um tipo de lesão que ocorre com frequência juntamente com a queilite angular e em manifestações mais graves, por exemplo, estão presentes pequenas pápulas e erosões na mucosa, frequentemente associada à presença de candidíase (NEVES, 2015).

### **3.5 Diagnóstico e tratamento da estomatite protética**

O diagnóstico da EP baseia-se nos achados clínicos da mucosa bucal como alteração de cor, textura e na sintomatologia relacionada ao uso de próteses removíveis mal adaptadas. Aliados ao diagnóstico clínico, temos os exames laboratoriais que auxiliam na sua confirmação, como por exemplo, a cultura micológica, exame histopatológico e a citologia esfoliativa (LEITE, PIVA, MARTINS-FILHO, 2015).

A citologia esfoliativa é um método simples, rápido e barato. O procedimento consiste inicialmente da raspagem da mucosa com o auxílio de uma escova ou espátula de madeira e em seguida o examinador, esfrega o material coletado em uma lâmina de vidro, fixa em álcool absoluto e posteriormente cora com papanicolaou. Este sistema de coloração multicolorimática de láminas é utilizado para células colhidas por raspagem em cavidades como a vagina e a mucosa bucal (JORGE et al., 2011; LEITÃO, 2012).

A cultura micológica, é um exame de baixo custo e que permite avaliar a presença de fungos frequentes no material coletado, através de meios específicos, como ágar sabouraud dextrose (SDA). Este meio foi formulado em 1892 por Sabouraud para o cultivo de dermatófitos e é utilizado para o isolamento, cultivo e manutenção de espécies não patogênicas e patogênicas de cogumelo e levedura. Trata-se de um meio com nutrientes que, devido às altas concentrações de carboidratos, favorece o crescimento de diversos fungos leveduriformes e filamentosos. A alta concentração de dextrose serve como fonte de energia e permite a seletividade dos fungos, portanto, tal meio é importante para determinar o conteúdo microbiano na avaliação de fungos em alimentos, determinar o conteúdo microbiano em cosméticos e em diagnósticos de infecção causadas por fungos (BEUCHAT, MANN e GURTNER, 2007; MARTINS et al., 2013; WINN et. al., 2008).

Diante dos achados clínicos e dos exames laboratoriais, o tratamento de eleição para a EP associada a candidíase consiste na combinação de antifúngicos tópicos, como o miconazol a 2% e a nistatina (LALLA e DONGARI-BAGTZOGLOU, 2014; MARCOS-ARIAS et al., 2011; SCALERIO et al., 2007), além de orientação ao paciente quanto à higienização da prótese, adesão ao tratamento e verificação da necessidade da troca da mesma. Entretanto, as infecções fúngicas na cavidade bucal são de difícil tratamento, principalmente devido à etiologia multifatorial da doença e do aumento da resistência aos medicamentos antifúngicos convencionais (MARTINS-FILHO, SILVA, PIVA, 2011).

O miconazol a 2% vem apresentando uma maior taxa de sucesso em comparação a outros antifúngicos em decorrência da sua apresentação na forma de gel. O mesmo funciona como uma moldeira e é aplicado sob a prótese já higienizada, cerca de duas a três vezes por dia entre uma e duas semanas, proporcionando dessa forma um maior tempo de contato com a lesão e regredindo consideravelmente o quadro clínico em um curto período de tempo (SCALERIO et al., 2007).

A nistatina é um antifúngico tópico que atua eliminando as leveduras e diminuindo os sinais clínicos da EP. É administrada cerca de três a quatro vezes ao dia, por duas a quatro semanas e apresentando gosto desagradável, podendo, além disso, ocasionar efeitos colaterais como: náusea, vômito e diarréia. A nistatina apresenta-se sob a forma de suspensão oral, o que proporciona um menor tempo de contato com o fungo, desempenhando um efeito menos eficaz quando comparado com o miconazol a 2%. É importante salientar que, quando a mesma é suspensa, a colonização por leveduras e o aspecto edemaciado se instalam novamente (LEITÃO, 2012; SCALERIO et al., 2007).

Na ausência de melhora por parte dos antifúngicos tópicos, podemos lançar mão de antifúngicos sistêmicos, como cetoconazol, fluconazol e a anfotericina B, porém, devido a hepatotoxicidade, potencialização do efeito da fenitoína e de agentes hipoglicemiantes, por exemplo, nefrotoxicidade, cardiotoxicidade e neurotoxicidade, além de internação previa respectivamente, a utilização destes se dar de forma moderada, não sendo portanto, medicamentos de primeira escolha (LEITÃO, 2012; SCALERCIO et al., 2007).

O estudo prévio realizado por Kulak, Arikán e Delibalta (1994) avaliou três tipos de tratamento para EP, onde foram formados três grupos de 15 pessoas. O primeiro grupo utilizou somente comprimidos de fluconazol, já o segundo utilizou uma associação entre comprimidos de fluconazol e orientações de higienizar a prótese com clorexidina duas vezes ao dia, por fim, o terceiro grupo recebeu novas próteses como forma de tratamento. Ao fim, o estudo permitiu concluir que o tratamento do segundo grupo foi mais eficaz quando comparado com o grupo um e que a substituição da prótese não foi eficiente para tratar a EP e não reduziu a contagem de leveduras.

Nessa perspectiva, Amanlou et al (2006) avaliou a eficácia do miconazol e de um gel a base da planta medicinal *Zataria multiflora* para o tratamento da EP. Dois grupos com doze indivíduos foram formados, onde se avaliaria o grau de eritema no palato e a quantidade de colônias de leveduras oriundas da prótese. O gel a base de miconazol e o gel a base da *Zataria multiflora* reduziram o grau de eritema do palato e a contagem de colônias, porém, o miconazol reduziu um maior número de leveduras na prótese.

Diante do exposto, é evidente que a terapia antifúngica é eficaz no controle da EP, porém o uso indiscriminado desta vem contribuindo para o surgimento de isolados resistentes. É necessário que mediante a terapia antifúngica, haja a limpeza da prótese e diminuição da contaminação por *Candida spp* na superfície da prótese. No entanto, a eficácia do tratamento antifúngico é limitada, havendo recidiva em um curto período de tempo (CROSS et al, 2004; KORAY et al, 2005; KULAK E DELIBALTA, 1994).

Além das drogas antifúngicas utilizadas e mencionadas, a fitoterapia vem se tornando uma alternativa promissora para o tratamento da EP, os medicamentos fitoterápicos, por exemplo, são amplamente utilizados, não só na medicina, mas também como fonte de pesquisa no meio acadêmico para tratamento de infecções microbianas (VIEIRA et al., 2014). As plantas possuem algumas características, entre elas, a sintetização de alcaloides e óleos essenciais como metabólitos secundários, que as tornam biologicamente ativas. Devido a sua composição complexa, os óleos essenciais demonstram uma variedade de ações farmacológicas, caracterizando-os como potenciais fontes para o desenvolvimento de novas drogas. Dentre as

plantas que produzem esses metabólitos secundários biologicamente ativos o *Schinus Terebinthifolius Raddi* se apresenta com bastante potencial (MARTORELLI et al., 2011).

### **3.6 *Candida spp* e sua Etiologia**

A microbiota oral é composta por mais de 500 espécies de microrganismos comensais, embora, em certas situações, como, por exemplo, no imunocomprometimento, na radioterapia e no uso de antibióticos, podem se tornar patogênicos, como é o caso das infecções fúngicas causadas pelo gênero *Candida spp*. Este gênero pertence à família das *Cryptococcaceae*, sendo a espécie *C. albicans* a mais prevalente e patogênica. As infecções derivadas da *Candida spp*. são chamadas de candidíases ou candidoses (SIMÕES, FONSECA, FIGUEIRAL, 2013).

Segundo Leite, Piva e Martins-Filho (2015) a *C. albicans* é a espécie fúngica mais encontrada em pacientes com EP, sendo responsável por aproximadamente 70% dos casos de infecção. Além da *C. albicans*, outras espécies menos comuns também estão envolvidas na etiologia da EP, porém com menor frequência, como, por exemplo, a *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *Candida sp* que são tidas como patógenos capazes de competir com a microbiota bucal tornando-se patogênicas (LEITE, PIVA e MARTINS-FILHO, 2015; PEIXOTO et al., 2014; SENNA, 2012).

A *Candida spp* são fungos leveduriformes que no biofilme exibem uma estrutura tridimensional organizada e consistem de uma rede densa de leveduras e células filamentosas profundamente embebidas em uma matriz extracelular composta de polissacarídeos (GEBREMEDHIN et al., 2014; HERNDAY et al., 2010). Diversas espécies de *candida* estão relacionados a EP, sendo a infecção pela *Candida albicans* o principal fator etiológico (JOURNAL DE L'ORDRE DES DENTISTES DU QUÉBEC, 2013). Sob circunstâncias normais, a *Candida albicans* pode ser encontrada em 80% da população humana sem que isso implique quaisquer efeitos prejudiciais a sua saúde, embora o excesso resulte em candidíase (SARDI et al., 2013).

Na opinião de Leitão (2012) a *C. albicans* é uma espécie patogênica oportunista presente em cerca de 30% a 40% de indivíduos saudáveis, e em 50% a 60% dos usuários de prótese removível. O dimorfismo morfológico caracteriza a capacidade da leveduriforme se transforma em filamentosa (hifas ou pseudo-hifas). As hifas são mais virulentas e invasivas em decorrência

da sua capacidade de se aderir ao tecido epitelial e penetrar nas células do hospedeiro, apresentando, portanto, um maior poder de penetração em comparação com as demais morfologias apresentadas, causando infecção (LEITÃO 2012; DALLE et al., 2010).

Do ponto de vista de vários autores, existem diversos fatores que predispõem a infecção por *C. albicans*, a exemplo, sistema imunológico deficiente, neoplasias, quimioterapia, diabetes, hipoparatireoidismo, hipoadrenalismo, desnutrição, corticoides, antibióticos, drogas imunossupressoras, aumento da idade, alcoolismo, toxicomania, excesso de alimentação, gravidez e portadores do vírus da imunodeficiência humana, HIV, (ARAÚJO, N.S e ARAÚJO, V.C, 1994; CASTRO, 2000; CAWSON, BINNIE, EVESON, 1997; REGEZI e SCIUBBA, 2000).

Segundo Regezi e Sciubba (2000) a *C. albicans* é um patógeno de baixa patogenicidade comumente encontrado no organismo humano, dependente de fatores locais e sistêmicos que predisponham a doença. Dessa forma, infecções por *C. albicans* tem predileção em sua maioria por crianças e idosos, cerca de 5% dos recém-nascidos, 5% de pessoas com doenças neoplásicas e 10% dos pacientes idosos com saúde precária, ou seja, a candidíase é mais frequente em indivíduos em extremos da idade (PEIXOTO et al., 2014).

Segundo Scully (1992) recém-nascidos, diabéticos, antibioticoterapia, xerostomia, imunossupressão e síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) estão associados com a forma aguda da candidíase, enquanto outros fatores como diabetes, prótese superior, perda da dimensão vertical e imunossupressão relacionam-se com a forma crônica da doença.

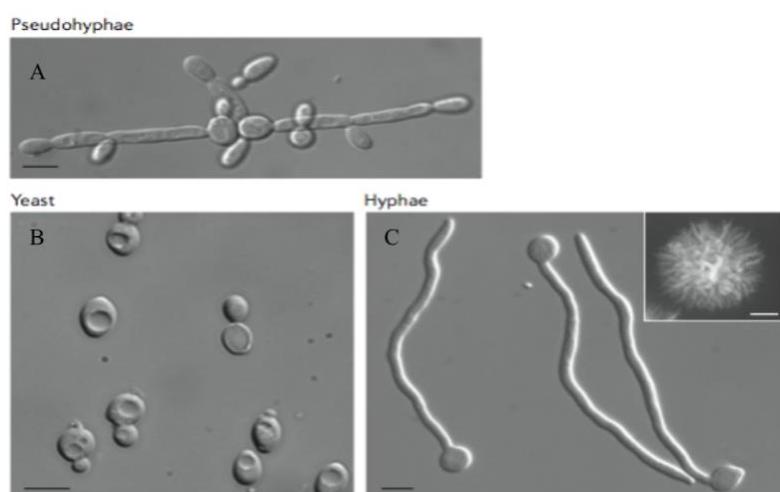
### **3.7 Morfologia da *Candida albicans***

Do acordo com Soll (2003) o êxito da *C. albicans* como patógeno, bem como fungo comensal, depende em grande parte de sua plasticidade morfológica, genética e fisiológica. Para Sudbery, Gow e Berman (2004) a *C. albicans* possui uma característica marcante que é sua capacidade de crescer em três morfologias diferentes, tanto na forma unicelular de levedura (**Figura 2 B**), quanto na morfologia filamentosa de hifa (**Figura 2 C**) ou pseudo-hifa (**Figura 2 A**). A forma de Pseudo-hifa apresenta um tipo celular morfologicamente distinto da forma hifa, exibindo constricções nos septos que separam as células, que também são mais largas do que as hifas. Para Virag e Harris (2006) a forma de hifa também apresenta uma estrutura celular única, chamada *Spitzenkörper*, que se localiza na ponta da hifa e medeia o crescimento direcional da sua estrutura.

Estes diferentes tipos celulares se diferenciam no que se refere ao processo infeccioso. A plasticidade morfológica da *C. albicans* é um importante fator de virulência, sendo que a forma de hifa apresenta propriedades de invadir células endoteliais e epiteliais, causando danos através da produção e secreção de enzimas hidrolíticas (DALLE et al., 2010; FILLER E SHEPPARD, 2006; PHAN et al., 2007; ZHU e FILLER, 2010).

Dalle et al (2010) realizou ensaios *in vitro* e demonstrou que a forma de hifa possui um maior poder de penetração nos tecidos epiteliais, diferentemente da levedura e pseudo-hifas. Além disso, as leveduras ao serem fagocitadas por macrófagos, geram a mudança para a forma de hifa, permitindo seu escape do fagócyto (JIMENEZ-LOPEZ e LORENZ, 2013; UWAMAHORO et al., 2014). Em modelo murino de candidemia, órgãos infectados após inoculação venosa apresentam a forma de hifa, diferentemente dos pacientes humanos, que através da biópsia, foi observado que essa forma é apenas encontrada em tecido epitelial e mucosa (LIONAKIS et al., 2011; SCHERWITZ, 1982). A plasticidade morfológica é, em si, uma importante propriedade de virulência (LEBERER et al., 2008; LO et al., 1997; ROCHA et al., 2001).

Saville et al (2003) sugerem que ambas as formas são importantes para a virulência do fungo. Enquanto o crescimento filamentoso é importante na penetração dos tecidos e na evasão do sistema imunológico, a forma de levedura é importante na disseminação na fase inicial da infecção. Segundo Buffo, Herman e Soll (1984) o fungo *C. albicans* é bem adaptado ao hospedeiro humano e transita da forma de levedura para hifa estimulada por uma grande diversidade de fatores.

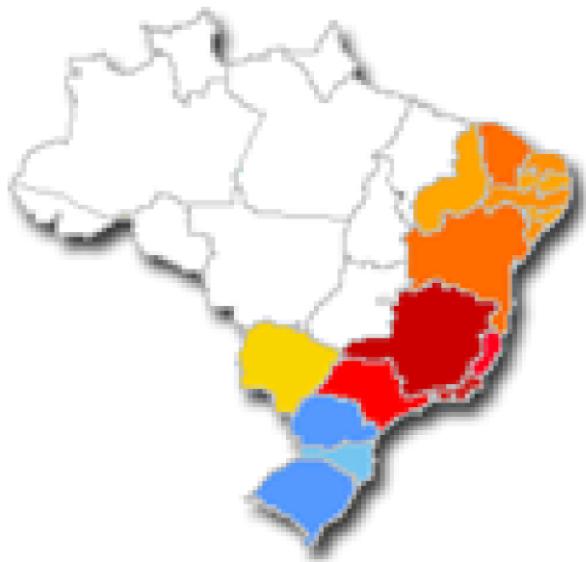


**Figura 2** Morfologias de *C. albicans*. A: Pseudo-hifas. B: Leveduras. C: Hifas.  
Figura adaptada de: (Sudbery, 2011).

### 3.8 Nomenclatura, Distribuição geográfica e propriedades do *Schinus Terebinthifolius Raddi*

A *Schinus terebinthifolius Raddi* é uma planta pertencente à família Anacardiaceae, conhecida popularmente em nosso país como aroeira-da-praia, aroeira-vermelha, aroeira-do-bejo, aroeira-do-sertão, aroeira-vermelha e pimenta brasileira (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Além da origem Brasileira, a espécie *Schinus terebinthifolius Raddi* possui distribuição tropical e subtropical, ocorrendo com frequência em diversos estados brasileiros, dentre eles: Pernambuco, Paraíba, Sergipe, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (MENDONÇA, SILVA-MANN e RABBANI, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Apresenta uma grande capacidade de adaptação em diversos habitats, podendo sobreviver não somente a estações e terrenos secos, mas também em toda a faixa litorânea do Brasil. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).



**Figura 3** Distribuição geográfica da espécie *S. terebinthifolius* no Brasil. Fonte: (Ministério da saúde, 2014).

Tal espécie é usada no Brasil para a cura e reparação de tecidos de feridas cutâneas na forma de uso tópico. Além disso, as folhas e os frutos (onde se concentram a maior quantidade de óleos essenciais), também são utilizados como uma infusão para o tratamento de infecções no trato respiratório, digestivo, urinário, reumatismo e candidíase oral (GOMES, F.S et al., 2013; GOMES, L.J et al., 2013).

O mecanismo de ação dos óleos essenciais não está totalmente esclarecido pela literatura, no entanto, o que se sabe é que tais compostos são capazes de comunicar-se com estruturas lipídicas gerando alterações na parede celular dos fungos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Para Bhavanani e Ballow (2000) aproximadamente 60% e 35% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e antibacterianas, respectivamente.



©2008 Jeffrey Pippen

**Figura 4** Folhas e frutos de *Schinus terebinthifolius Raddi*. Fonte: (Ministério da Saúde, 2014).

Os estudos de Fedel-Miyasato et al., (2014) demonstraram que a espécie *Schinus Terebinthifolius* promoveu resultados positivos no que se refere a cicatrização de feridas, atividades anti-inflamatórias e quimiopreventivos, que pode ser correlacionada com a prevenção e/ou tratamento de doenças degenerativas relacionadas com a inflamação e processos mutagênicos em ratos.

Estudos *in vitro* envolvendo a atividade antifúngica de *Schinus Terebinthifolius* sobre espécies de *Candida spp* (*Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*), mostrou que o *Schinus* desempenhou atividade antifúngica similar a nistatina. A cepa de *C. krusei* foi mais suscetível a ação da tintura do que as demais, e os resultados mostraram a importância das indicações terapêuticas do produto avaliado na clínica odontológica, como método alternativo e de baixo custo no tratamento da *candida* oral e na prevenção da mesma (FREIRES et al., 2011).

Soares et al (2010) realizaram um estudo clínico com dois grupos, o grupo 1 utilizou o spray de tintura de *Schinus* e o grupo 2 utilizou a nistatina suspensão oral como controle, após o período de 15 dias, verificou-se a remissão dos sinais e sintomas da EP, concluindo que a utilização da tintura da casca da aroeira é uma alternativa terapêutica eficaz no tratamento da

EP, proporcionando dessa forma, a remissão dos sinais clínicos e eliminação da infecção por *Candida spp.* presentes na prótese. Diante desses estudos, é evidente que as alternativas fitoterápicas em decorrência de seus efeitos e propriedades, são terapêuticas promissoras para doenças da cavidade bucal, necessitando ser cada vez mais pesquisada.

## 4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

### 4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo experimental *in vitro* no qual avaliou a eficácia da atividade antifúngica do óleo essencial do *Schinus Terebinthifolius Raddi* contra diferentes espécies de *Candida spp.*

### 4.2 Origem das amostras

As amostras foram obtidas do banco micológico no Laboratório de Patologia Investigativa- LPI (Hospital Universitário – Universidade Federal de Sergipe, HU-UFS). Essas amostras foram isoladas de pacientes com estomatite protética, participantes do projeto de pesquisa sob a coordenação do Dr. Paulo Ricardo Saquete Martins Filho, e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP-HU-UFS), código CAAE-42016815.0.1001.5546 (ANEXO I). Selecionamos quinze isolados fúngicos de pacientes com estomatite protética.

As mostras foram identificadas anteriormente pelo método ágar chromagar candida® (probac do Brasil, Brasil), seguindo as instruções do fabricante, conforme Quadro 1.

As etapas laboratoriais da pesquisa foram realizadas no LPI, coordenado pelo Prof. Dr. Paulo Ricardo Saquete Martins Filho.

**Quadro 1** Identificação cromogênica das espécies de *Candida spp.*

Cor típico das colônias	Espécies
Verde	<i>C. albicans</i>
Azul acinzentado	<i>C. tropicalis</i>
Rosa, rugosa	<i>C. krusei</i>
Lilás	<i>C. glabrata</i>

Branca	Outras espécies
--------	-----------------

#### **4.3 Extração do óleo essencial do *Schinus Terebinthifolius Raddi***

A extração do óleo essencial deu-se a partir de plantas selecionadas em fragmentos de mata ciliar de diferentes regiões fitogeográficas do Estado de Sergipe, situados na região do Baixo São Francisco. Os óleos essenciais dos frutos foram extraídos por hidrodestilação em aparelho do tipo *Clevenger*, com tempo de destilação de 180 minutos, após o início da condensação do vapor. As extrações foram realizadas em triplicata, utilizando-se, por amostra, 200g de frutos e dois litros de água destilada. Após a extração, o rendimento de óleo foi lido no próprio aparelho, coletado e armazenado em freezer, em frascos de cor âmbar (laranja-amarelo). O teor de óleo essencial, expresso em porcentagem, foi obtido com base em ml 100g<sup>-1</sup> de massa da amostra original (GOMES, L.J et al., 2013).

A extração e análise da composição química do óleo foi realizado no Laboratório de Recursos Genéticos e Óleos Essenciais, situado no Departamento de Engenharia Agronômica da Universidade Federal de Sergipe, coordenada pela Prof.a Dra. Renata Silva-Mann.

#### **4.4 Avaliação *in vitro* do óleo essencial de *Schinus Terebinthifolius Raddi* para diferentes linhagens clínicas e padrões de *Candida spp***

##### **4.4.1 Microdiluição em caldo.**

Os ensaios de microdiluição foram de acordo com o protocolo recomendado pela *Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI-M27-A3* (PFALLER et al., 2012). As espécies de *Candida* foram plaqueadas em placas de 96 poços,  $2,5 \times 10^3$  células por ml. Em seguida, foram adicionadas diferentes concentrações do óleo essencial do *Schinus Terebinthifolius Raddi* (10, 8, 6, 4 e 2%). Após a placa foi incubada por 48h, a 35°C. Após a incubação, uma alíquota foi retirada da placa e diluída com o corante azul de Trypan. A contagem da viabilidade celular foi realizada em câmara de Neubauer, estabelecendo-se os percentuais de células viáveis em relação aos controles não tratados. As análises foram realizadas em triplicata.

##### **4.4.2 Teste disco difusão**

As placas contendo meio ágar sabouraud dextrose (Oxoid, Brasil) foram semeadas com as espécies de *Candida* obtidas de diferentes pacientes. Nestas placas foram colocados os discos de papel filtros esterilizados em pontos equidistantes, para receber volumes crescentes do óleo essencial do *Schinus Terebinthifolius Raddi* (25, 50, 70, 80, 90 e 100%). Depois, as placas foram incubadas a 35°C por 48h, por fim, foram considerados ativos, os volumes que produziram zonas de inibição igual ou superior a 10 mm.

#### 4.5 Análise estatística

A significância das diferenças observadas foi calculada pelo teste Kruskal-Wallis para comparação de três ou mais grupos independentes usando GraphPad 5.0 (GraphPad 5.0 Software, EUA) e o valor de  $p < 0,05$  foi considerado significante.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Caracterização das espécies de *Candida* spp nas amostras

A partir de 15 amostras de pacientes diagnosticados com estomatite protética, pertencentes ao banco micológico do LPI, foram identificadas quatro espécies diferentes pelo método cromogênico. A *C. albicans* foi a espécie mais prevalente (46,67%), seguida por *C. glabrata* (26,67%), *C. tropicalis* (20.00%) e *C. krusei* (6,7%), como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1** Percentagem das amostras das espécies identificadas pelo método cromogênico da amostra do banco micológico do LPI.

Espécies de <i>Candida</i> spp.	Percentagem das espécies na amostra (n = 15)
<i>C. albicans</i>	46.67%
<i>C. glabrata</i>	26.67%
<i>C. krusei</i>	6.67%
<i>C. tropicalis</i>	20.00%

### 5.2 Avaliação antifúngica do óleo essencial do *Schinus Terebinthifolius Raddi* (STR) contra espécies de *candida* spp pelo método de disco-difusão.

Os resultados da avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de STR utilizando o método de disco-difusão estão apresentados na Tabela 1. Todas as quatro espécies de *Candida* spp. avaliadas foram sensíveis ao STR nas concentrações de 80%, 90% e 100% respetivamente. As concentrações de 25% e 50% não apresentaram halos inibitórios ativos (< 10 mm). A

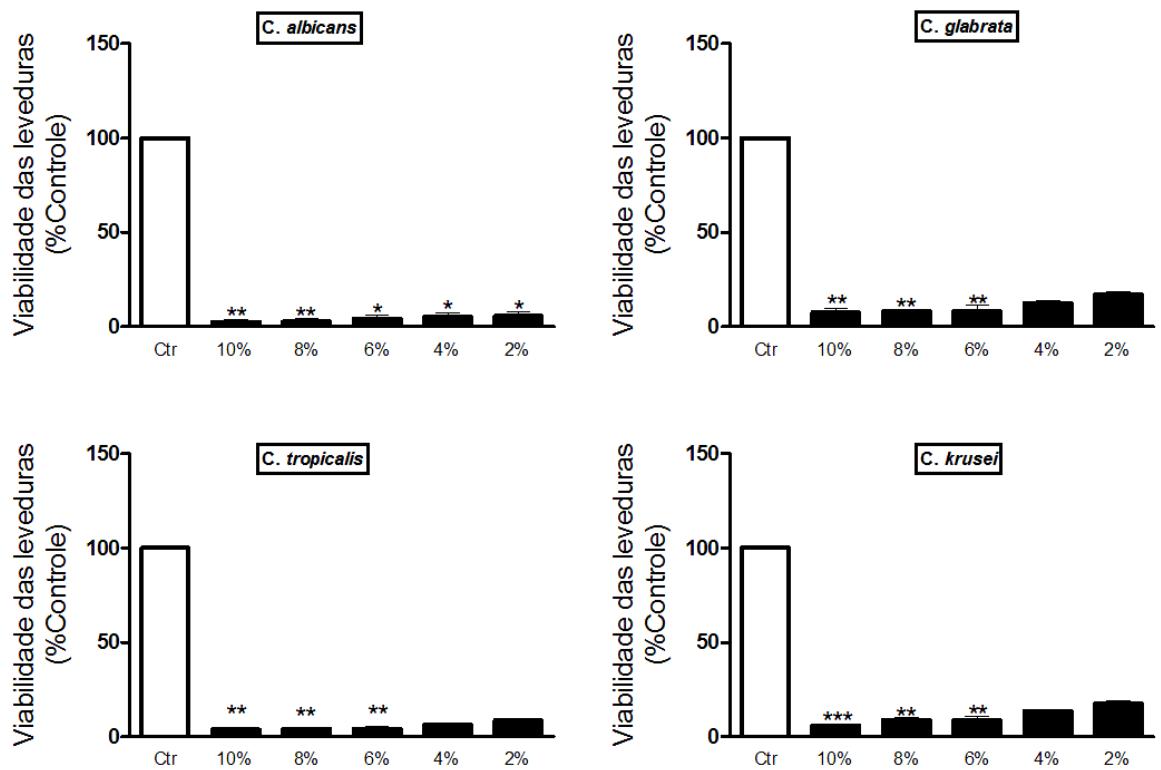
concentração de 70% produziu atividade antifúngica contra as espécies *C. albicans* e *C. glabrata*, com apresentação de halos inibitórios > 10 mm. A mesma concentração não apresentou atividade contra as espécies *C. tropicalis* e *C. krusei* que apresentaram uma média de halo inibitório <10 mm.

**Tabela 2** Média dos halos inibitórios do *Schinus Terebinthifolius Raddi* contra espécies de *Candida spp.* causadoras da estomatite protética.

<b>Espécies de</b>		<b>Concentrações do óleo essencial (Média ± DP)</b>					
<i>Candida</i>		<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>70%</b>	<b>80%</b>	<b>90%</b>	<b>100%</b>
<i>ssp</i>							
<i>C. albicans</i>		7.36±0.13	7.93±0.27	8.56±2.28	10.80±2.89	10±1.82	11.24±1.92
<i>C. glabrata</i>		8.06±0.31	7.47±0.41	7.91±3.30	11.40±3.14	11.30±4.17	14.16±3.10
<i>C.</i>	<i>tropicalis</i>	7.39±0.44	8.96±1.00	6.04±0.06	9.21±1.16	10±0.74	12.34±1.17
<i>C. Krusei</i>		6.48±0.16	6.61±0.16	6.38±0.66	8.84±0.28	11.22±0.76	14.96±0.54

### **5.3 Avaliação antifúngica do óleo essencial do *Schinus Terebinthifolius Raddi* (STR) contra espécies de *candida spp.* pelo método de microdiluição.**

Os resultados dos ensaios de microdiluição estão representados na Figura 5. Os testes estatísticos de Kruskal-Wallis seguida pelas múltiplas comparações de Dunn's mostraram que o STR reduziu a viabilidade da espécie *C. albicans* em 97.46% ( $p < 0.0064$ ), 97.37% ( $p < 0.0064$ ), 95.78% ( $p < 0.05$ ), 94.78% ( $p < 0.05$ ) e 94.38% ( $p < 0.05$ ) nas concentrações de 10%, 8%, 6%, 4% e 2% respectivamente. Para a espécie *C. glabrata* o STR diminui a viabilidade nas concentrações de 10%, 8% e 6%, apresentando uma redução de 92.43% ( $p < 0.05$ ), 91.91% ( $p < 0.05$ ) e 91.87% ( $p < 0.05$ ), respectivamente. As espécies *C. tropicalis* e *C. krusei* apresentaram um comportamento semelhante com reduções de viabilidade somente nas concentrações de 10% ( $p < 0.05$ ), 8% ( $p < 0.05$ ) e 6% ( $p < 0.05$ ).



**Figura 5** Perfil de sensibilidade das espécies de *Candida* spp tratados com diferentes concentrações de STR. O teste Kruskal-Wallis seguida pelas múltiplas comparações de Dunn's mostrou que a espécie *C. albicans* foi sensível a todas as concentrações do STR enquanto que as espécies *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei* foram sensíveis apenas nas concentrações de 10, 8 e 6%.

## 6 DISCUSSÃO

O tratamento usual da EP é baseado na terapia antifúngica com instruções de higiene oral e higiene da prótese para o paciente. Por outro lado, a resistência aos antifúngicos convencionais é o efeito adverso mais notável encontrado no tratamento da EP, levando a uma alta taxa de recorrência dessa infecção. Neste contexto, numerosos produtos naturais e fitoterápicos, incluindo o *Schinus Terebinthifolius Raddi* (STR), são testados quanto à sua potencial ação antifúngica. O STR é um medicamento fitoterápico eficaz com ação anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante (ALVES et al., 2012; BHAVANANI E BALLOW, 2000; GOMES, F.S et al., 2013; MENDES et al., 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; ZIDA et al., 2016). O presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil antifúngico do STR contra espécies de *Candida spp* coletados de pacientes com EP.

Os resultados da avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de STR utilizando o método de disco-difusão mostrou um perfil de sensibilidade das espécies em concentrações acima de 70%. No método de disco-difusão, o halo de inibição do crescimento é medido a partir da circunferência do disco até a borda, onde se observa o crescimento de microrganismos (OSTROSKY et al., 2008), e fornece informações prévias do perfil de sensibilidade das espécies frente a um determinado agente fitoterápico. No presente estudo encontramos um perfil de sensibilidade das espécies tratadas com o STR, o que corrobora com outros estudos que mostraram a ação antifúngica dessa planta (ALVES et al., 2012; TORRES, LIMA e UEDA, 2016). No entanto, o perfil de sensibilidade foi verificado em concentrações altas. Apesar do método disco-difusão ser uma metodologia confiável os resultados da difusão podem ser influenciados por fatores como a natureza química (lipofílica ou hidrofílica) dos produtos naturais e a espessura do meio, não permitindo uma boa e uniforme difusão desses produtos, afetando consequentemente o tamanho dos halos inibitórios. (FREIRES et al., 2011, OSTROSKY et al., 2008).

Em contrapartida, o método de microdiluição considera a relação entre a proporção de crescimento dos microrganismos no meio líquido frente a concentrações da substância em teste, permitindo resultados quantitativos, não sendo influenciados pela velocidade de crescimento do microrganismo. No presente estudo, com a utilização da metodologia de microdiluição encontramos um potencial antifúngico do STR, reduzindo significativamente a viabilidade celular das espécies avaliadas. Esses achados são suportados por outros estudos que explicam a atividade antifúngica do STR pelo seu mecanismo de ação, agindo sobre a parede celular

fúngicas levando a lise da membrana e consequente morte da célula fúngica (ALVES et al., 2012). Por outro lado, a composição do STR, rica em componentes fenólicos, tais como o carvacrol, o eugenol e o timol, proporciona a esse fitoterápico a capacidade de causar distúrbios na membrana citoplasmática fúngicas facilitando a perda da força motriz de protões e o fluxo de elétrons, o transporte ativo e a coagulação dos componentes da célula fúngicas levando a perda da viabilidade dos fungos (BURT et al., 2004).

Apesar dos resultados mostrarem a atividade antifúngica do STR o presente estudo apresenta algumas limitações. Não fizemos uma comparação direta do fitoterápico com um agente antifúngico, bem como a sua citotoxicidade, o que possibilitaria uma melhor indicação como potencial antifúngico para tratamento da estomatite protética. Foi observado também uma dificuldade na diluição do STR, devido a sua natureza de óleo essencial, para sua utilização nos testes de viabilidade.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que o *Schinus terebinthifolius* Raddi possui atividade antifúngica sobre diferentes espécies de *Candida spp*, sendo um fitoterápico promissor para o tratamento da estomatite protética. No entanto, é imperativo a realização de novos estudos microbiológicos e clínicos afim de verificar a viabilidade de seu uso para o tratamento da EP.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, L. A. et al. In vitro activity of schinus terebinthifolius (brazilian pepper tree) on candida tropicalis growth and cell wall formation. **Acta Odontologica Scandinavica.** v. 25, n. 3, p. 287-292, 2012.
- AMANLOU, M. et al. Miconazole gel compared with Zataria multiflora Boiss. gel in the treatment of denture stomatitis. **Phytotherapy Research,** [s.l.], v. 20, n. 11, p.966-969, 2006.
- ARAÚJO, N.S.; ARAÚJO, V.C. **Patologia Bucal.** 1.ed. São Paulo: Artes médicas, p.51-53, 1994.
- BARBEAU, J. et al. Reassessing the presence of Candida albicans in denture-related stomatitis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontontology,** [s.l.], v. 95, n. 1, p.51-59, jan. 2003.
- BATISTA, J.; BIRMAN, E, J.; CURY, A, E. Susceptibility to antifungal drugs of Candida albicans strains isolated from patients with denture stomatitis. **Revista Odontológica da Universidade de São Paulo.** v. 13, n. 4, p. 343-348, out/dez. 1999.
- BASTIDAS, R. J.; HEITMAN, J.. Trimorphic stepping stones pave the way to fungal virulence. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences,** [s.l.], v. 106, n. 2, p.351-352, 7 jan. 2009.
- BEUCHAT, L.R; MANN, D.A; GURTNER, J.B. Comparison of Dry Sheet Media and Conventional Agar Media Methods for Enumerating Yeasts and Molds in Food. **Journal of Food Protection.** v.70, n.11, p. 2661-2664, 2007.
- BHAVANANI, S.M, BALLOW, C.H. New agents for gram-positive bacteria. **Curr Opin Microbiol,** 3(5), 528-534. Outubro, 2000.
- BIANCHI, C.M.P.C et al. Factors Related to oral Candidiasis in elderly users and non-users of removable dental Prostheses. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo,** [s.l.], v. 58, 2016.
- BUFFO, J.; HERMAN, M.A.; SOLL, D.R. A characterization of pH-regulated dimorphism in Candida albicans. **Mycopathologia,** [s.l.], v. 85, n. 1-2, p.21-30, 1984.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology.** v. 94, p. 223–253, 2004.
- CASTRO, A.L. **Estomatologia.** 3.ed. São Paulo: Santos, p.115-7, 2000.
- CAWSON, R.A.; BINNIE, W.H.; EVESON, J.W. **Atlas Colorido de Enfermidades da Boca-Correlações Clínicas e Patológicas.** 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, p.11.9-11.12, 1997.

CROSS, L.J. et al. Evaluation of the recurrence of denture stomatitis and Candida colonization in a small group of patients who received intraconazoli **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 97 (3), 351-8, Março, 2004.

DALLE, F. et al. Cellular interactions of Candida albicans with human oral epithelial cells and enterocytes. **Cellular Microbiology**, [s.l.], v. 12, n. 2, p.248-271, fev. 2010.

DELGADO, A. et al. Estomatite Protética: Uma visão atual. **O JornalDentistry**. P. 18-19, 2016.

FEDEL-MIYASATO, L. E.S. et al. Evaluation of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from Schinus terebinthifolius methanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 24, n. 5, p.565-575, set. 2014.

FILLER, S.G.; SHEPPARD, D.C. Fungal Invasion of Normally Non-Phagocytic Host Cells. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 2, n. 12, p. e129, 2006.

FREIRES, I. A. et al. Atividade antifúngica de Schinus terebinthifolius (Aroeira) sobre cepas do gênero Candida. **Rev Odontol Bras Central**. v. 20, n. 52, p. 41-45, 2011.

GEBREMEDHIN, S. et al. Miconazole activity against candida biofilms developed. **J Physiol Pharmacol.** 65(4):593–600, Agosto, 2014.

GENDREAU, L.; LOEWY, Z.G. Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. **Journal Of Prosthodontics**, [s.l.], v. 20, n. 4, p.251-260, 4 abr. 2011

GOMES, F.S. et al. Antimicrobial lectin from Schinus terebinthifolius leaf. **J Appl Microbiol.** 114(3):672–9, Março, 2013.

GOMES, L.J. et al. **Pensando a Biodiversidade: Aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi)**. P.372. 2013.

HERNDAY, A. D. et al. Genetics and Molecular Biology in Candida albicans. **Methods In Enzymology**, [s.l.], p.737-758, 2010.

JIMÉNEZ-LÓPEZ, C.; LORENZ, M.C. Fungal Immune Evasion in a Model Host–Pathogen Interaction: Candida albicans Versus Macrophages. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 9, n. 11, p. e1003741, 21 nov. 2013.

JORGE, R. J. B. et al. Exame Papanicolaou: sentimentos relatados por profissionais de enfermagem ao se submeterem a esse exame. **Ciência & Saúde Coletiva**. v. 16, n. 5, p. 2443-2451, 2011.

JOURNAL DE L'ORDRE DES DENTISTES DU QUÉBEC. 12 074 participants au rendez-vous. Canadá, 50 (4), 2013.

KORAY, M et al. Fluconazole and/or hexetidine for management of oral candidiasis associated with denture-induced stomatitis. **Oral Diseases**, [s.l.], v. 11, n. 5, p.309-313, set. 2005.

- KULAK, Y.; ARIKAN, A.; DELIBALTA, N. Comparison of three different treatment methods for generalized denture stomatitis. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [s.l.], v. 72, n. 3, p.283-288, set. 1994.
- LALLA, R.V.; DONGARI-BAGTZOGLOU, A. Antifungal medications or disinfectants for denture stomatitis. **Evidence-based Dentistry**, [s.l.], v. 15, n. 2, p.61-62, 27 jun. 2014.
- LEBERER, E. et al. Ras links cellular morphogenesis to virulence by regulation of the MAP kinase and cAMP signalling pathways in the pathogenic fungus *Candida albicans*. **Molecular Microbiology**, [s.l.], v. 42, n. 3, p.673-687, 7 jul. 2008.
- LEITÃO, N. S. **Análise clínica e citológica do efeito do gel de própolis no tratamento da estomatite protética em pessoas idosas. Ensaio clínico randomizado controlado simples cego.** Dissertação (Mestrado em ciências odontológicas) - Departamento de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- LEITE, D.P.; PIVA, M.R.; MARTINS-FILHO, P.R.S. Identificação das espécies de *Candida* em portadores de estomatite protética e avaliação da susceptibilidade ao miconazol e à terapia fotodinâmica. **Revista de Odontologia da Unesp**, [s.l.], v. 44, n. 1, p.12-17, fev. 2015.
- LIONAKIS, M. S. et al. Organ-Specific Innate Immune Responses in a Mouse Model of Invasive Candidiasis. **Journal Of Innate Immunity**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.180-199, 2011.
- LO, H.J. et al. Nonfilamentous *C. albicans* mutants are avirulent. **Cell**. 5; 90(5), 939-949, Setembro, 1997.
- MARCOS-ARIAS, Cristina et al. In Vitro Activities of New Triazole Antifungal Agents, Posaconazole and Voriconazole, Against Oral *Candida* Isolates from Patients Suffering from Denture Stomatitis. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 173, n. 1, p.35-46, 14 ago. 2011.
- MARTINS, S. C. S.; FIÚZA, L.M.C.G.; MARTINS, C.M. Comparação de diferentes meios de cultivo para a avaliação da viabilidade celular de fermentos biológicos. **Enciclopédia biosfera, centro científico conhecer**. Goiânia. v. 19, n. 16, p.2478-2486, 2013.
- MARTINS-FILHO, P.R.S.; SILVA, L.C.F.; PIVA, M.R. The prevalence of actinic cheilitis in farmers in a semi-arid northeastern region of Brazil. **International Journal Of Dermatology**, [s.l.], v. 50, n. 9, p.1109-1114, 19 ago. 2011.
- MARTORELLI, S. B. et al. Efeito antiinflamatório e cicatrizante do extrato hidroalcoolico de *Schinus terebinthifolius raddi* (aroeira) a 30% em orabase- estudo “in vivo.” **Int J Dent.** 10(2):80–90, abril/junho, 2011.
- MAYER, F.L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, [s.l.], v. 4, n. 2, p.119-128, 15 fev. 2013.
- MENDONÇA, V. M.; Silva-Mann, R.; Rabbani, A. R. C. Prospecção tecnológica de óleo essencial de aroeira-da-praia (*Schinus terebinthifolius Raddi*). **Rev Geintec**. v. 4, p. 704-15, 2014.

MENDES, G. M. J. S. et al. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol.* v. 62, n. 1, p. 10-24, 2013.

**MINISTÉRIO DA SAÚDE. A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos.** Brasília: Ministério da Saúde. p. 148, 2006.

**MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monografia da espécie *Schinus terebinthifolius raddi* (Aroeira-da-praia).** Brasília, Ministério da Saúde. p.1-3, 2014.

**MINISTÉRIO DA SAÚDE. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saude Bucal: resultados principais.** Brasília-DF, p.116, 2012.

NAIR, G.R. Clinical Effectiveness of Aloe Vera in the Management of Oral Mucosal Diseases-A Systematic Review. **Journal Of Clinical And Diagnostic Research**, [s.l.], 2016.

NEVES, I, M, S, M. Abordagem do paciente com estomatite protética. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) - Faculdade de Ciências da Saúde Porto, Universidade Fernando Pessoa 2015.

NETO, M.M; DANESI, C.C.; UNFER, D.T. Candidíase bucal, revisão de literatura. **Saúde.** Vol. 31 (1 - 2): 16-26, 2005.

NEWTON, A. Denture sore mouth- a possible etiology. **Br. Dente J.** v. 112, p. 357-60, 1962.

OLIVEIRA, T.R.C. et al. Avaliação da estomatite protética em portadores de próteses totais. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, [s.l.], v. 14, n. 3, p.219-224, set. 2000.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PEIXOTO, J.V. et al. Candidíase- Uma Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR.** Vol.8,n.2,pp.75-82, junho- Agosto, 2014.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J. Epidemiology of Invasive Mycoses in North America. **Critical Reviews In Microbiology**, [s.l.], v. 36, n. 1, p.1-53, 20 jan. 2012.

PHAN, Q.T. et al. Als3 Is a Candida albicans Invasin That Binds to Cadherins and Induces Endocytosis by Host Cells. **Plos Biology**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. e64, 20 fev. 2007.

RAMAGE, G. et al. Denture stomatitis: a role for Candida biofilms. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 98, n. 1, p.53-9, 2004.

REGEZI, J.A.; SCIUBBA, J.J. **Patologia Bucal-Correlações Clinicopatológicas.** 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.0-25; 0-35; 76-80; 101, 2000.

ROCHA, C.R.C. et al. Signaling through adenylyl cyclase is essential for hyphal growth and virulence in the pathogenic fungus *Candida albicans*. **Molecular biology of the cell** 12, 3631-3643, Novembro, 2001.

- SALERNO, C. et al. Candida-associated denture stomatitis. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugia Bucal**, [s.l.], p.139-143, 2011.
- SAMARANAYAKE, L. P.; KEUNG LEUNG, W. JIN, L. Oral mucosal fungal infections. **Periodontology 2000**. v. 49, n. 1, p. 39–59, 2009.
- SARDI, J. C. O. et al. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.10-24, 1 jan. 2013.
- SAVILLE, S. P. et al. Engineered Control of Cell Morphology In Vivo Reveals Distinct Roles for Yeast and Filamentous Forms of Candida albicans during Infection. **Eukaryotic Cell**, [s.l.], v. 2, n. 5, p.1053-1060, 1 out. 2003.
- SCALERCIO, M. et al. Estomatite protética versus candidíase: diagnóstico e tratamento. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre. v. 55, n.4, p. 395-398, outubro/dezembro. 2007.
- SCHERWITZ, C. Ultrastructure of human cutaneous candidosis. **The Journal of investigative dermatology**. 78(3), 200-205, Março, 1982.
- SCULLY, C. **Atlas de Diagnóstico Bucal**. 1.ed. São Paulo: Santos, p. 20 e 21; 52 e 53; 132 e 133, 1992.
- SENNNA, A. M. **Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana no Tratamento da Estomatite Protética**. Dissertação (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- SILVA, H.F.; MARTINS-FILHO, P.R.S.; PIVA, M.R. Denture-related oral mucosal lesions among farmers in a semi-arid Northeastern Region of Brazil. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugia Bucal**, [s.l.], p.740-744, 2011.
- SIMOES, R.J.; FONSECA, P.; FIGUEIRAL, M.H. Infecções por Candida spp na Cavidade Oral. **Revista CRO-PE**. V. 12, n. 1. P. 19-22, 2013.
- SKUPIEN, J.A. et al. Prevention and treatment of Candida colonization on denture liners: A systematic review. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [s.l.], v. 110, n. 5, p.356-362, nov. 2013.
- SOARES, D. G. S. et al. Avaliação Clínica e Microbiológica do Tratamento da Estomatite Protética com Tintura de Schinus terebinthifolius Raddi (Aroeira). **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, [s.l.], v. 10, n. 3, p.365-370, 1 dez. 2010.
- SOLL, D. R. Mating-type locus homozygosis, phenotypic switching and mating: a unique sequence of dependencies inCandida albicans. **Bioessays**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.10-20, 2003.
- SUDBERY, P. E. Growth of Candida albicans hyphae. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 9, n. 10, p.737-748, 16 ago. 2011.

- SUDBERY, P.; GOW, N.; BERMAN, J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 12, n. 7, p.317-324, jul. 2004.
- THILAKUMARA, I.P. et al. Denture-induced stomatitis and associated factors in a group of patients attending a university dental hospital in Sri Lanka. **Journal Of Investigative And Clinical Dentistry**, [s.l.], v. 8, n. 2, p. e12211, 16 mar. 2016.
- TODESCAN, R.; SILVA, E.E.B.; SILVA, O.J. **Atlas de Prótese Parcial Removível**. 1. Ed. São Paulo: Santos. Capítulo 3. 1996.
- TORRES, K. A. M.; LIMA, S. M. R. R.; Ueda, S. M. Y. Activity of the aqueous extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi on strains of the *Candida* genus. **Rev Bras Ginecol Obstet**. v. 38, n. 12, p. 593-599, 2016.
- UWAMAHORO, N. et al. The Pathogen *Candida albicans* Hijacks Pyroptosis for Escape from Macrophages. **Mbio**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. e03-14, 25 mar. 2014.
- VIEIRA, D.R.P. et al. Plant species used in dental diseases: Ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. **J Ethnopharmacol**. 29,155(3):1441–9, setembro, 2014.
- VIRAG, A.; HARRIS, S. D. The Spitzenkörper: a molecular perspective. **Mycological Research**, [s.l.], v. 110, n. 1, p.4-13, jan. 2006.
- WEBB, B.C.; THOMAS, C.J.; WHITTLE, T. A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. **Gerodontology**, [s.l.], v. 22, n. 3, p.168-176, set. 2005.
- WILLIAMS, D.W. LEWIS, M.A. Isolamento e identificação de *Candida* a partir da cavidade oral. **Oral Dis**. V. 6, n. 1, p.3-11, 2000.
- WINN, J. R.W. et. al. **Koneman Diagnóstico Microbiológico**. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pag 1565, 2008.
- ZHU, W.; FILLER, S.G. Interactions of *Candida albicans* with epithelial cells. **Cellular Microbiology**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.273-282, mar. 2010.
- ZIDA, A. et al. Bamba S, Yacouba A, Ouedraogo-Traore R, Guiguemdé RT. Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. **J Mycol Med**. v. 27, n.1, p. 1-19, 2016.
- ZISSIS, A.; YANNIKAKIS, S.; HARRISON, A. Comparison of denture stomatitis prevalence in 2 population groups. **Int J Prosthodont**. 19(6), 621-5, novembro-dezembro, 2001.

## ANEXO I

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE  
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTIFUNGICA DO ÓLEO DE COCO OZONIZADO

**Pesquisador:** Mário Luís Tavares Mendes

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 42016815.0.1001.5546

**Instituição Proponente:** FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.030.294

**Data da Relatoria:** 10/04/2015

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo In vitro para avaliar a atividade antifúngica contra cândida ssp, coletados de pacientes com estomatite protética, de diferentes concentrações do óleo de coco ozonizado. Próteses mucossuportadas são consideradas facilitadoras em potencial da estomatite protética (EP), condição caracterizada pelo aspecto eritematoso, difuso ou pontilhado da mucosa palatina sob a base das próteses. A etiologia da doença é multifatorial, embora a infecção por Candida seja uma causa bastante comum. C.albicans é a espécie fúngica mais comumente associada em pacientes com EP. Além desta espécie, outras menos comuns, como C. krusei e C. tropicalis, são reconhecidas como patógenos capazes de competirem com a microbiota bucal e se tornarem patogênicas. O tratamento para EP consiste na combinação de antifúngico e higienização da prótese. Entretanto, é observado um aumento na resistência das leveduras aos tratamentos existentes. Desta forma, é urgente a avaliação de novos compostos com características antifúngicas e novos esquemas terapêuticos para o tratamento das infecções fúngicas orais. O objetivo deste estudo é avaliar a atividade antifúngica in vitro do óleo de coco ozonizado.

#### Objetivo da Pesquisa:

Realizar uma avaliação in vitro do óleo de coco ozonizado para o tratamento da estomatite protética;

**Endereço:** Rua Cláudio Batista s/nº

**Bairro:** Sanatório

**CEP:** 49.060-110

**UF:** SE

**Município:** ARACAJU

**Telefone:** (79)2105-1805

**E-mail:** cephu@ufs.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE  
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



Continuação do Parecer: 1.030.294

Avaliar a eficácia in vitro do óleo de coco ozonizado para diferentes espécies de Candida.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Benefícios - Os resultados obtidos possibilitarão um melhor planejamento de ações clínicas, ou seja, possibilitarão um tratamento mais eficaz como menor ou nenhum efeito colateral, uma vez que o óleo de coco ozonizado não apresenta toxicidade para o organismo.

Riscos - Os autores seguirão os critérios da Regulamentação da Bioética no Brasil, Resolução 196/96 de 10 de Outubro de 1996 e resoluções complementares do Conselho Nacional de Saúde, o qual determina as diretrizes a serem adotadas nas pesquisas que envolvem seres humanos. Todos os dados da pesquisa serão mantidos em sigilo e no caso de apresentação dos resultados em congressos ou publicação dos dados em revistas científicas, as identidades dos participantes serão preservadas. Os participantes poderão, a qualquer momento, antes ou durante a pesquisa, sem penalidades ou qualquer prejuízo retirar o termo de consentimento. Desta forma, não há de maneira alguma prejuízo para o paciente da pesquisa, nem violação das normas e regulamentações da CONEP/MS.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Projeto bem redigido, exequível, relevante acadêmica e socialmente.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos obrigatórios presentes e conformes.

**Recomendações:**

No projeto preenchido na plataforma Brasil, o proponente faz menção à Res. 196/96. Para futuras pesquisas recomendamos a leitura e uso da Resolução 466/12 a qual substituiu a 196/96.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

<b>Endereço:</b> Rua Cláudio Batista s/nº	<b>CEP:</b> 49.060-110
<b>Bairro:</b> Sanatório	
<b>UF:</b> SE <b>Município:</b> ARACAJU	
<b>Telefone:</b> (79)2105-1805	<b>E-mail:</b> ceph@ufs.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE  
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



Continuação do Parecer: 1.030.294

ARACAJU, 22 de Abril de 2015

**Assinado por:**  
**Anita Hermínia Oliveira Souza**  
**(Coordenador)**