



ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA ALTERNIFOLIA (TEA TREE) SOBRE LEVEDURAS DO GÊNERO CANDIDA DA CAVIDADE BUCAL

Camila de Fátima Lima¹; Karine Zanoli Bernucç²; Ana Regina Casaroto Moreschi³

RESUMO: A estomatite por dentadura é uma doença infecciosa oportunista, frequentemente observada em pacientes com prótese total. Considerando a necessidade de obtenção de novos agentes terapêuticos voltados a seu tratamento, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica do extrato de melaleuca (Tea Tree) sobre leveduras do gênero *Candida*, isoladas da cavidade bucal de pacientes com prótese total, acometidos pela estomatite protética Tipo I, segundo a classificação de Newton. Serão realizados ensaios microbiológicos com finalidade de determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM), respectivamente, utilizando as técnicas da microdiluição em caldo e do crescimento de unidades formadoras de colônias em meio sólido. Após os respectivos estudos, serão verificados se os resultados que o extrato de melaleuca (Tea Tree) apresentarão a capacidade de inibir o crescimento de leveduras do gênero *Candida* da cavidade bucal. Espera-se com este trabalho, obter resultados positivos quanto a ação farmacológica antifúngica do óleo de melaleuca no tratamento da candidose oral, em pacientes que utilizam próteses totais. Podendo ser utilizado como alternativa de tratamento para as diversas espécies de *Candida*.

PALAVRAS-CHAVE: Fungicida, concentração inibitória mínima, candidose por dentadura.

1. INTRODUÇÃO

A Candidose oral é uma infecção causada pela levedura do gênero *Candida*, a qual vive comumente na boca de indivíduos aparentemente saudáveis. A *Candida* é uma levedura, que possui a forma de micélio e hifa (CASTRO *et al.*, 2006). O principal patógeno implicado no desenvolvimento de candidose oral é a espécie *Candida albicans* (NONAKA *et al.*, 2008, LUBIAN *et al.*, 2010). Mas outras espécies como *C. glabrata*, *C. Krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, também podem aparecer.

A *C. albicans* é um componente normal da microflora bucal, evidenciada com grande frequência, atingindo até 70 % do isolamento (NERY *et al.*, 1994). Muitas pessoas convivem com ela normalmente em suas bocas, porém com o passar da idade é frequentemente visto que há incidência de uma desordem na flora bucal. Um microrganismo saprófito, a *C. albicans* é dependente de fatores predisponentes, como uma prótese bucal total mal adaptada associada à má higiene bucal, alterando a integridade orgânica e tornando o fungo patogênica ao indivíduo (ALVES *et al.*, 2006).

¹ Acadêmico do Curso de Odontologia do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Bolsista do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). milallima@hotmail.com

² Orientadora, Docente do Curso de Odontologia do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. karine.zanoli@cesumar.br

³ Co-orientadora, Docente do Curso de Odontologia do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. ana.casaroto@cesumar.br

A estomatite protética ou estomatite por dentadura é uma doença infecciosa oportunista, frequentemente observada em pacientes com prótese total. É causada por parasitismo ocasionado por leveduras do gênero *Candida* (PINELLI *et al.*, 2013). Diferindo das demais candidoses, a estomatite induzida pelo uso de dentadura não mostra a formação de placa, mas a proliferação da *C. albicans* na interface entre mucosa e prótese total, provocando a inflamação por mecanismos ainda mal definidos (SCULLY *et al.*, 1995).

Segundo a classificação de Newton (1962), a estomatite protética pode ser graduada em três tipos: Tipo I, pontos hiperêmicos, com pequenas áreas de inflamação em um tecido normal, encontradas frequentemente em torno dos orifícios de saída dos ductos das glândulas salivares palatinas; Tipo II, com hiperemia difusa, caracterizada por inflamação generalizada na área equivalente a prótese, podendo, ao menor trauma, ser suficiente para causar sangramento; Tipo III, com presença de hiperplasia papilar do palato, não neoplásica, com inflamação em graus variados, podendo estar presente sobre toda a extensão da mucosa associada diretamente à prótese, com maior acometimento da região central do palato. Os casos não tratados podem progredir do estágio I para o II e, sucessivamente, para o III.

Vários agentes antifúngicos de uso tópico e sistêmico são utilizados de acordo com o quadro clínico geral do paciente (ALVES *et al.*, 2006). Sendo a nistatina e miconazol, antifúngicos sintéticos, propostos no tratamento da doença (CASTRO; LIMA, 2010).

Devido à resistência dos antifúngicos utilizados e aos efeitos tóxicos apresentados, iniciou-se a necessidade de se obter métodos alternativos, sendo os tratamentos naturais um recurso alternativo.

Dentre as substâncias de plantas, podemos utilizar os óleos essenciais, que são misturas complexas de substâncias odoríferas e líquidas, sua principal característica é a volatilidade, diferindo-se dos óleos fixos, misturas de substâncias lipídicas, obtidos geralmente das sementes (SIMÕES, 1999).

Dentre os óleos essenciais, destaca-se o de melaleuca, já utilizada há algum tempo por sua ação antifúngica. De acordo Silberto Azevedo (2010) a melaleuca é uma planta nativa da Austrália, considerada potente agente anti-séptico, antifúngico e parasiticida natural, não tóxica e não irritante para os tecidos, sendo largamente testado em clínica e laboratorialmente. O óleo essencial de melaleuca possui a capacidade de impedir a resistência de bactérias quanto a sua ação. Seus principais componentes são: α - Terpeneol (6,7%); Terpineol-4-ol (40%); α - Terpinene (10,8%); γ - Terpinene (22,3%); ρ - Cymene (5,7%); 1,8 - Cineol (3%). O óleo de melaleuca é considerado 12 vezes que alguns desinfetantes químicos como o ácido carbólico, ou o fenol. A cor do óleo pode variar de verde pálido até incolor como água (PRICE, 1999).

Dessa forma, frente ao crescimento no número de patógenos resistentes aos agentes antimicrobianos atualmente utilizados na clínica, existe uma clara e emergente necessidade de introduzir novos compostos antimicrobianos no arsenal terapêutico (GIORDANI, 2006), sendo o óleo essencial de melaleuca, um complexo de substâncias promissoras no tratamento da candidose por dentadura.

Assim, o trabalho tem o objetivo de avaliar a ação antifúngica do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (tea tree) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral de pacientes com prótese total.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa envolverá 05 pacientes usuários de prótese total e acometidos pela estomatite protética Tipo I, segundo a classificação de Newton (NEWTON, 1962),

atendidos na clínica de odontologia do UniCesumar, os quais deverão consentir sua participação na pesquisa através da assinatura do Termo de consentimento livre e esclarecido.

As espécies fúngicas serão isoladas da cavidade bucal dos pacientes, na região de palato, bem como na superfície acrílica de próteses totais, cada swab, individualmente, será imerso em caldo Sabouraud Dextrose à 37°C sob condições estéreis, com auxílio de uma lamparina. Em seguida, os swabs imersos no caldo serão mantidos em estufa à 37°C por até 72 hs, para crescimento do fungo. Após esse período, as amostras com o fungo serão semeadas em Chromagar Cândida e incubadas por 48 hs para crescimento das colônias. As diferentes espécies de *Candida* serão identificadas pela coloração da seguinte forma: cor verde, *C. albicans* ou *C. dubliniensis*; cor azul, *C. tropicalis*; e cor rosa, *C. krusei*. *C. albicans* serão diferenciadas da *C. dubliniensis* a partir da incubação das colônias verdes em Agar Sabouraud dextrose à 45°C por 48h.

As leveduras serão padronizadas de acordo com o tubo 0,5 da escala de McFarland (10^6 UFC/mL) a partir da cultura de 24 hs em caldo Sabouraud (DIFCO). A determinação da CIM (concentração mínima inibitória) do óleo essencial será realizada através da técnica da microdiluição em caldo Sabouraud Dextrose. Será distribuído 100 µL de caldo Sabouraud Dextrose (DIFICO®) nos orifícios das placas de microdiluição de 96 orifícios. Em seguida, 100 µL da emulsão do óleo essencial de melaleuca será distribuído realizando-se diluições (1:2) a partir da transferência de alíquotas de 100 µL da cavidade mais concentrada para a cavidade sucessora. Nos orifícios de cada coluna serão acrescentados alíquotas de 10 µL do inóculo correspondente a cada cepa ensaiada. A determinação da CIM será observada mediante teste visual, observando-se a presença ou não de aglomerados de células (crescimento visual) no fundo das cavidades da placa. De acordo com o *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (2003), será considerada CIM a menor concentração do produto teste capaz de produzir inibição visível sobre o crescimento das cepas de leveduras utilizadas nos ensaios microbiológicos.

Após de determinação do CIM, será determinado a concentração fungicida, a concentração correspondente à inibitória e as duas concentrações imediatamente mais concentradas, bem como os controles positivos serão subcultivados em placas de ágar Sabouraud dextrose, as quais serão incubadas por 24 a 48 horas a 37°C. após este período, será realizado a leitura visual, sendo considerado CFM a menor concentração da droga que impediu o crescimento visível do subcultivo (RASOOLI; ABYANEH, 2004).

A análise dos resultados será feita através de avaliações in vitro de forma descritiva, que serão apresentados na forma de gráficos e tabelas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espera-se com este trabalho obter resultados positivos quanto à ação farmacológica antifúngica do óleo de melaleuca no tratamento da candidose oral, em pacientes que utilizam próteses totais. Podendo ser utilizado como alternativa de tratamento para as diversas espécies de *Candida*.

4. CONCLUSÃO

Nos últimos anos, o número de infecções bucais causado pelo gênero *C. albicans* e não *albicans* vem aumentando. Isto pode estar ligado a uma forma de uso indiscriminado de antifúngicos, que acabaram criando resistência e alta toxicidade, tornando os fungos menos susceptíveis aos efeitos de determinadas drogas, havendo necessidade da busca

por novos compostos, sendo as substâncias naturais promissoras, devido ao grande potencial e ao menor índice de efeitos colaterais e resistência.

Uma das opções para ampliar a forma de tratamento da candidose oral é a utilização de substâncias naturais, dentre elas, destaca-se o óleo de melaleuca como possibilidade de tratamento, que apresenta ação antifúngica já relatada.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, P. M. et al . Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação in vitro. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 16, n. 2, 2006. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2006000200010 &lng=en&nrm=iso>, Acessado em 20 de abril de 2013.

AZEVEDO, Silberto, **Óleo de Melaleuca ou Tea tree oil – Um poderoso antisséptico, germicida e fungicida natural**. LEMINIS. Disponível em: <http://www.lemnisfarmacia.com.br/oleo-de-melaleuca-tea-tree-oil-um-poderoso-antisseptico-germicida-e-fungicida-natural/>, Acessado em 27 de abril de 2013

CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candida* spp. **Rev Odontol UNESP**, v. 39(3), p. 179-184, 2010.

GIORDANI, R.; REGLI, P.; KALOUSTIAN, J.; PORTUGAL, H. Potentiation of Antifungal Activity of Amphotericin B by Essential Oil from *Cinnamomum cassia*. **Phytother Res**, v. 20(1), p. 58-61, 2006.

LUBIAN, C. T.; TEIXEIRA, J. M.; LUND, R. G.; NASCENTE, O. S.; DELPINO, F. A. B. Atividade antifúngica do extrato aquoso de *Arctium minus* (Hill) Bernh. (Asteraceae) sobre espécies orais de *Candida*. **Rev. Bras. Pl. Med.** v. 12(2), p.157-162, 2010.

National Committee for Clinical Laboratory Standard. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, Approved Standard. 6th ed. v. 23-M7-A6, 2003.

NERY, E. O.; GONÇALVES, C. R.; SHIMIZU, M. T.; UNTERKIRCHER, C. S.; FANTINATO, V.; JÓRGE, A. O. C. Influência dos antígenos do sistema ABO (H) na saliva sobre a presença do gênero *Candida* na cavidade bucal. **Rev Odontol Univ São Paulo.** v. 81, p. 37-41, 1994.

NONAKA CFW, NASCIMENTO GJF, GOULART FILHO JAV, LIMZ KC, MILAN EP. *Candida dubliniensis* – levedura emergente associada à candidose oral. **Revista de Odontologia da UNESP.** v. 37(2), p. 125-132. 2008.

PINELLI, L. A. P. ; MONTANDOM, A.A.B; CORBI, S.C.T; MORAES, T.A; FAIS, L.M.G. *Ricinus communis* treatment of denture stomatitis in institutionalised. **Journal of Oral Rehabilitation.** v. 40, p.375-380, 2013.

PRICE, S. **Aromaterapia para doenças comuns.** São Paulo: Manole, 1999.

RASOOLI, I.; ABYANEH, M. R. Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**. v.15, p. 479-83, 2004.

SCULLY, C.; EVERSON, J. **Atlas colorido de patologia bucal**. São Paulo: Artes Médicas, 1995.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. PortoAlegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 1999.

Anais Eletrônico

VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar
UNICESUMAR – Centro Universitário Cesumar
Editora CESUMAR
Maringá – Paraná – Brasil