

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO ÁCIDO LÁURICO

**RECH, Maquelis Tavares¹; PIVA, Evandro²; MACHADO, Fernanda Weingartner³;
OLIVEIRA, Simone Gomes Dias⁴; LUND, Rafael Guerra⁵**

¹ Aluna de Graduação em Odontologia (FOP-UFPEL) e Bolsista PIBIC-FAPERGS;

² Orientador do trabalho e professor do Departamento de Odontologia Restauradora (FOP/UFPEL);

³ Aluna de Graduação em Odontologia (FOP-UFPEL) e Bolsista PROBIC-FAPERGS;⁴ Mestranda do Programa de Pós Graduação em Odontologia (FOP-UFPEL) e Bolsista PIBIC-CNPq;

⁵ Professor do Departamento de Odontologia Restauradora (FOP/UFPEL).

maquelis.rech@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

A cavidade oral contém, a princípio, um ecossistema equilibrado. Entretanto, quando é necessária a implantação de próteses dentárias, esse equilíbrio pode ser alterado, ocasionando um aumento de microorganismos, causando, assim, doença bucal (JORGE et al., 1997).

Um dos desequilíbrios que as próteses podem causar é a “Candidíase Atrófica Crônica” (CAC), também conhecida por “Estomatite por Dentadura”. Estima-se que *Candida* spp. afeta 50% dos usuários de prótese, pois tem alta eficiência em aderir e colonizar a superfície das próteses (LUND et al., 2009). Essa patologia é causada principalmente pela espécie *C. albicans* (CABRAL, 1990) e é uma forma de candidíase eritematosa, caracterizada por vários graus de eritema, petéquias hemorrágicas localizadas na área das bordas de dentaduras de uma prótese superior removível (MOREIRA et al., 2002).

Apesar de existirem muitos tratamentos para a CAC, a pesquisa por formas alternativas de antifúngicos se mostra fundamental, pois alguns tratamentos clássicos apresentam efeitos colaterais decorrentes do uso prolongado. Além disso, muitas cepas de *C. albicans* já demonstram resistência a tais tratamentos (MACHADO et al., 2010).

Uma alternativa possível é o ácido láurico, também conhecido como ácido dodecanóico (C12). Este ácido é um produto natural e, por isso, é provável que não seja tóxico em baixas quantidades e é encontrado no óleo de coco babaçu e no leite (MACHADO et al., 2006). Ele contém propriedades antimicrobianas (KABARA et al., 1972; ROUSE et al., 2005), antifúngicas e antivirais (BERGSSON et al., 2001). Na função antibacteriana o ácido se mostra eficaz tanto com bactérias Gram-positivas, como o *S. aureus* (ROUSE et al., 2005), quanto em bactérias Gram-negativas, como a *Neisseria gonorrhoeae*. Enquanto que nas funções antiviral e antifúngica ele é eficaz contra os vírus envelopados e *C. albicans*, respectivamente (BERGSSON et al., 2001).

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Para a realização dos testes foi coletado cepas de *C. albicans*, *Rhodotorula mucillaginosa*, *C. parapsilosis*, *C. famata*, *C. glabrata* e *C. lipolytica*, leveduras isoladas de pacientes com Candidíase Atrófica Crônica (CAC).

Para a preparação do produto a ser testado, 50mg de ácido láurico foram dissolvidos em 1ml de álcool 70%. A partir desta solução foi feita diluição seriada. A primeira solução foi de 250µg/ml e a última teve 0,488 µg /ml.

O inóculo foi preparado com cepas repicadas em meio Sabouraud Dextrose Agar, um dia antes dos testes. Na preparação do inóculo o fungo foi colocado em 5ml de solução salina esterilizado, respeitando o teste de distorção e turbidez de 0,5 na escala de MacFarland. Após homogeneização, foi retirado 0,05 ml da suspensão e colocado em 4,95 ml de solução salina. Após nova diluição do composto, foi retirado 0,25 ml e homogeneizado ao RPMI (9,75 ml).

O antifungigrama foi realizado com a técnica de microdiluição em caldo baseado no documento M27-A3 (CLSI, 2008) adaptado a um novo fármaco. Para isso, foram utilizadas placas de microdiluição com 96 poços. Estas placas continham 12 colunas e 8 linhas. Nas linhas foram colocados 100µl do inóculo mais 100 µl da diluição seriada, que foram colocadas nas colunas. Destas colunas a 11 e 12 foram o controle negativo e positivo, respectivamente. As placas foram conservadas em uma estufa a 36°C e a leitura do resultado foi feita em 24 e 48h.

Nos poços que não apresentaram crescimento, foi realizado o teste fungicida/fungistático. Neste teste foi colocado 20µl do conteúdo de cada poço sem crescimento em meio Agar Sabourand. Esta cultura foi mantida na estufa por 24 h. Após esse período, foi feita a leitura visual. Quando não houve crescimento, a concentração do ácido láurico correspondente foi considerada fungicida, quando houve crescimento foi considerada fungistática.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram respectivamente: CIM >15,62 µg/ml e CFM =15,62 µg/ml para *C. albicans*; CIM e CFM= 250 µg/ml para *Candida* não-albicans; e CIM e CFM >250 µg/ml para *Rhodotorula mucillaginosa*.

Com o advento dos casos de resistência microbiana, surge a necessidade do desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos para o tratamento de infecções e uma alternativa para a busca desses fármacos está na investigação de produtos naturais, como plantas medicinais com atividade antimicrobiana, visto que o Brasil dispõe de ampla e vasta biodiversidade de espécies vegetais com potencial terapêutico. Um dos tipos de extratos vegetais obtidos de plantas medicinais são os óleos essenciais, ricos em ácidos graxos com propriedades farmacológicas. Os ácidos graxos vêm despertando o interesse dos pesquisadores, pois apresentam alta capacidade antimicrobiana (BERGSSON et al., 2001; HUANG et al., 2010; SKALICKA-WO NIAK et al., 2010). Neste grupo, se encontra o ácido láurico, que é um ácido graxo de cadeia longa (C₁₂) saturado, disponível no óleo de coco e no óleo de sementes de palma (MACHADO et al., 2006; HUANG et al., 2010) e que, por ser um produto natural, provavelmente não seja tóxico em baixas quantidades. E já é conhecido que ele apresenta propriedades antibacterianas, antifúngicas e antivirais (KABARA et al., 1972; ROUSE et al., 2005; BERGSSON et al., 2001).

Além de demonstrar considerável potencial antimicrobiano, seu possível mecanismo de ação também tem sido reportado na literatura. Segundo estudos recentes, alguns ácidos graxos inibem a síntese enzimática de importantes ácidos graxos bacterianos, sendo este o seu principal mecanismo de ação antimicrobiana evidenciado até o presente momento (ZHENG et al., 2005; DESBOIS & SMITH, 2010).

4 CONCLUSÃO

Com base neste estudo *in vitro*, pode-se concluir que o Ácido Láurico apresentou efeito antifúngico frente às leveduras orais, principalmente contra *Candida albicans*.

5 REFERÊNCIAS

- BERGSSON, G.; ARNFINNSSON, J.; STEINGRIMSSON, Ó.; THORMAR, H. In Vitro Killing of *Candida albicans* by Fatty Acids and Monoglycerides. **J. Antimicrobial Chemotherapy**, v.45, p. 3209–3212, 2001.
- CABRAL, L.A.G.; Emprego da imunofluorescência direta no estudo das alterações de mucosa de palato, compatíveis com candidíase atrófica crônica, em indivíduos portadores de próteses dentárias totais muco-suportadas. **Revista Odontológica**. UNESP, São Paulo, v.19, p.125-139, 1990.
- CLSI - Clinical And Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard-third edition. CLSI document M27-A3. 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008
- DESBOIS, A. P.; SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 85, p. 1629-1642, 2010.
- HUANG, C.B.; GEORGE, B.; EBERSOLE, J.L. Antimicrobial activity n-6, n-7 and n-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, v. 55, p. 555-560, 2010.
- JORGE, A. O. C. Presença de levedura do gênero cândidas na saliva de pacientes de diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Revista Odontológica**. USP, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 279-285, 1997.
- KABARA, J.J.; SWIECZKOWSKI, D.M.; CONLEY, A.J.; TRUANT, J.P. Fatty Acids and Derivatives as Antimicrobial Agents. **J. Antimicrobial Chemotherapy**, p. 23-28, 1972.
- LUND, R.G.; NASCENTE, P.S.; ETGES, A.; RIBEIRO, G.A.; ROSALEN, P.L.; DEL PINO, F.A.B. Occurrence, isolation and differentiation of *Candida* spp. And prevalence of variables associated to Chronic atrophic candidiasis. **Mycoses**. 2009.
- MACEDO, D.P.C.; Farias, A.M.A.; Neto, R.G. L.; Silva, V.K.A.; Leal, A.F.G.; Neves, R.P. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.42, n.2, 2009.
- MACHADO, G.C.; CHAVES, J.B.P.; ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. **Rev. Ceres**, p.463-470, 2006.
- MACHADO, F.C.; PORTELA, M. B.; CUNHA, A. C.; SOUZA, I. P. R.; SOARES, R. M. A.; CASTRO, G. F. B. A.; Antifungal activity of chlorhexidine on *Candida* spp. biofilm **Revista Odontológica**. UNESP, Araraquara, v.39, p. 271-275, 2010.
- MOREIRA, A.C.A; FALCÃO, A.F.P.; ANDRADE, E. R. S.; SOUZA, E. R. Isolation of *Candida parapsilosis* in a patient with clinic diagnosis of chronic atrophic candidiasis *Ci. Méd. Biol.*, v. 1, n. 1, p. 124-128, 2002.
- ROUSE, M.S.; ROTGER, M.; PIPER, K.E.; STECKELBERG, J.M.; SCHOLZ, M.; ANDREWS, J.; PATEL, R. In Vitro and In Vivo Evaluations of the Activities of Lauric Acid Monoester Formulations against *Staphylococcus aureus*. **J. Antimicrobial Chemotherapy**, vol.49, n. 8, p. 3187-3191, 2005.

SKALICKA-WO NIAK, K.; LOS, R.; GŁOWNIAK, K.; MALM, A. Antimicrobial Activity of Fatty Acids from Fruits of *Peucedanum cervaria* and *P. alsaticum*. *Chemistry & Biodiversity*, v. 7, p. 2748-2754, 2010.

ZHENG, C.J.; YOO, J.S.; LEE, T.G.; CHO, H.Y.; KIM, Y.H.; KIM, W.G. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS Letters*, v. 579, n. 23, p. 5157-5162, 2005.