Avaliação da atividade antimicrobiana de metabólitos produzidos por *Streptococcus mutans* sobre *Candida albicans*: estudo *in vitro*.

Mariana de Sá Alves¹, Luciana Ruano de Oliveira Fugisaki¹, Jéssica Diane dos Santos¹, Rebeca Previante Medina², Dulce Helena Siqueira Silva², Juliana Campos Junqueira¹. ¹Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Unesp, São José dos Campos. ²NuBBE (Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais), Unesp, Araraquara. Email: mariana.saalv@gmail.com. Projeto de pesquisa financiado pela FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO – FAPESP (2016/05226-5).

Palavras Chave: *Candidose*, *Streptococcus mutans*, *biofilme* e *filamentação*.

Introdução

Streptococcus mutans, frequentemente reconhecido como o principal causador de cárie dentária no mundo, pode ser encontrado juntamente com *Candida albicans* no biofilme dentário. Produtos do metabolismo secundário do microbioma humano estão sendo cada vez mais investigados, em decorrência de seus impactos diretos no hospedeiro e em outros micro-organismos, bem como por suas funções imunomodulatórias.

Objetivos

Este trabalho teve como objetivo extrair os compostos presentes no sobrenadante da cultura de *S. mutans* (extrato bruto) e avaliar seus efeitos sobre *C. albicans*, quanto à formação de biofilme e filamentação *in vitro*.

Material e Métodos

O extrato bruto foi obtido no NuBBE, a partir do sobrenadante da cultura de *S. mutans* e foi submetido à extração com acetato de etila (3x). Em seguida, o solvente orgânico foi removido sob vácuo, com pressão e temperatura controladas. Após, o extrato foi liofilizado e pesado, obtendo-se o extrato bruto. A ação da atividade antimicrobiana do extrato bruto foi verificada sobre *C. albicans*, quanto à formação de biofilme e filamentação *in vitro*. Os biofilmes foram formados em fundo de placas de 96 poços por 48 horas e quantificados pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Os ensaios de filamentação de *C. albicans* foram realizados em placas de 24 poços e analisados por microscopia óptica. Os resultados foram submetidos a uma análise exploratória para seleção do teste estatístico mais adequado para cada experimento desse estudo.

Resultados e Discussão

A massa de extrato bruto obtida na etapa de extração foi 110 mg e para todos os testes, este foi diluído em água destilada estéril nas concentrações de 5, 10 e 15 mg/mL.

Nos resultados de formação de biofilme, observou-se redução estatisticamente significativa na contagem de UFC/mL (Log_{10}) de *C. albicans* quando em contato com o extrato bruto em todas as concentrações testadas (5, 10 e 15 mg/mL), em relação aos grupos controles (*C. albicans* + BHI, *C. albicans* + Água, *C. albicans* + PBS) (t-test, $p < 0,05$).

No estudo de filamentação de *C. albicans*, os resultados mostraram inibição significativa na formação de hifas por *C. albicans* em todas as concentrações do extrato bruto testadas (5, 10 e 15 mg/mL), em relação aos grupos controles (*C. albicans* + BHI, *C. albicans* + Água, *C. albicans* + PBS).

Já os resultados da quantificação da biomassa total (teste do Cristal Violeta) dos biofilmes formados pela *C. albicans* e o extrato bruto nas concentrações de 5, 10 e 15 mg/mL foram semelhantes aos resultados verificados na contagem de UFC/ml do biofilme. Foi observado diminuição da biomassa total do biofilme de *C. albicans* quando em contato com o extrato bruto em todas as concentrações testadas, comparando-se aos grupos controles (*C. albicans* + BHI, *C. albicans* + Água e *C. albicans* + PBS) (Tukey-test, $p < 0,05$).

Conclusões

Em suma, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que o extrato bruto obtido do sobrenadante da cultura de *S. mutans* apresentou atividade antifúngica, inibindo a formação de biofilme e a morfogênese da *C. albicans*. Todas as concentrações testadas (5, 10 e 15 mg/mL) apresentaram atividade sobre a *C. albicans*.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (2016/05226-5) por financiar esta pesquisa.

À Dr. Rebeca Previante Medina e Profa. Dr. Dulce Helena Siqueira Silva, do NuBBE, por toda assistência na obtenção do extrato bruto.

Jarosz LM, Deng DM, van der Mei HC, Crielard W, Krom BP. *Streptococcus mutans* competence-stimulating peptide inhibits *Candida albicans* hypha formation. *Eukaryot Cell*. 2009; 8:1658-64.