



INCORPORAÇÃO DE CLOREXIDINA EM RESINAS ACRÍLICAS – ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS

JOANA COSTA¹, FÁBIA ALEXANDRE¹, ANA BETTENCOURT², ISABEL RIBEIRO², JAIME PORTUGAL¹, CRISTINA B. NEVES¹

¹ Unidade de Investigação em Ciências Orais e Biomédicas (UICOB), Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa
² Instituto de Investigação do Medicamento e das Ciências Farmacéuticas (iMED), Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

INTRODUÇÃO

A estomatite protética é uma condição patológica que afeta a mucosa oral de indivíduos portadores de próteses removíveis, tendo a literatura científica considerada que a infeção provocada por fungos de *Candida albicans* (*C. albicans*) é o principal fator etiológico¹⁻⁴. Uma variedade de tratamentos tem sido proposta, incluindo um agente antimicrobiano de largo espectro, a **clorexidina (CHX)**, incorporada em resinas acrílicas⁵⁻⁸. No entanto, existem pouco estudos microbiológicos contra *C. albicans* com este fármaco incorporado em resinas acrílicas usadas em prótese removível.

OBJETIVOS

Avaliar o efeito da **incorporação de clorexidina em resinas acrílicas de rebasamento** na **atividade antifúngica** contra *Candida albicans*;
Determinar a **concentração mínima inibitória (MIC)** da CHX, utilizando a mesma estirpe.

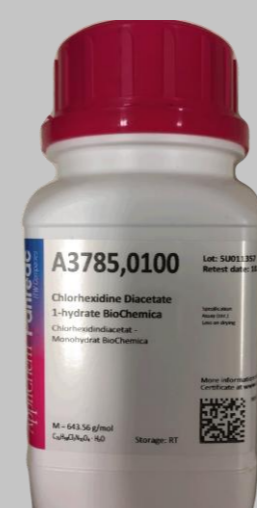
MATERIAIS E MÉTODOS

RESINAS ACRÍLICAS

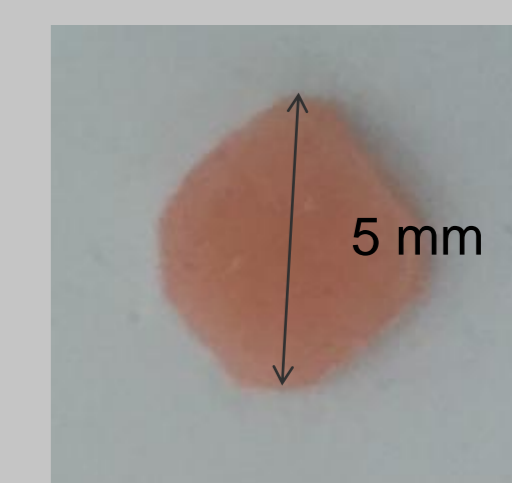


Kooliner (K) **Ufi Gel Hard (U)** **Probase Cold (PC)**

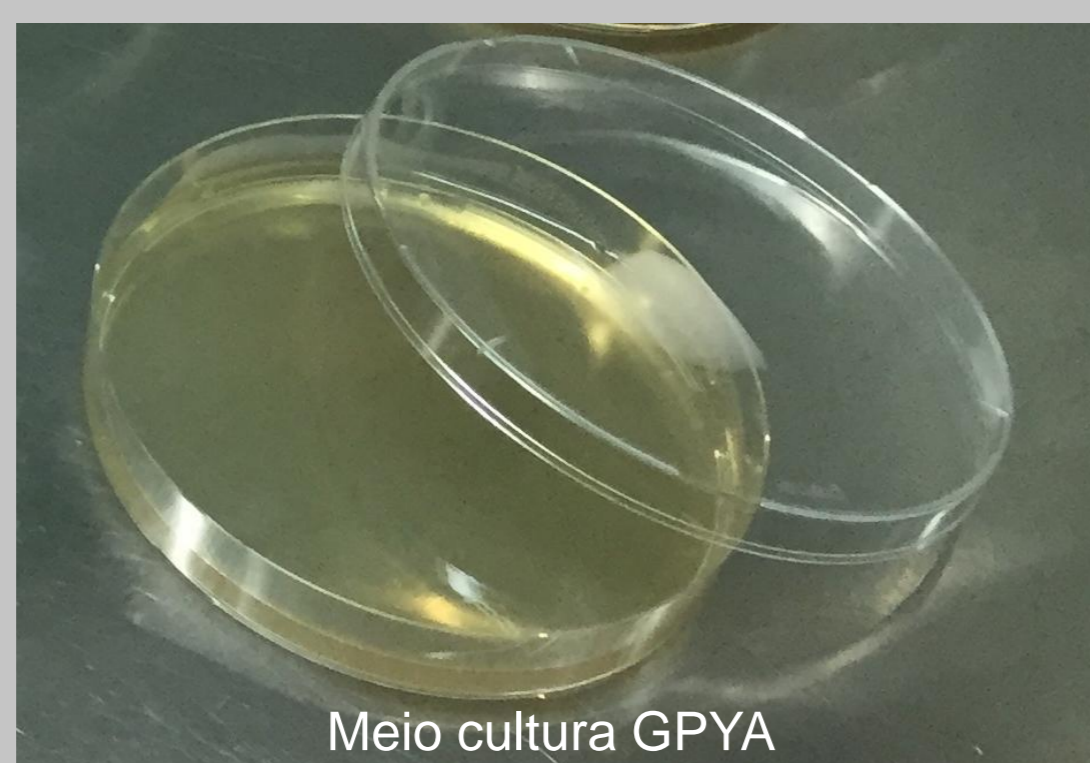
PREPARAÇÃO DOS ESPÉCIMES



Diacetato de CHX
0%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10% (m/m)



PREPARAÇÃO DO INÓCULO – Método da Suspensão Direta da Colónia



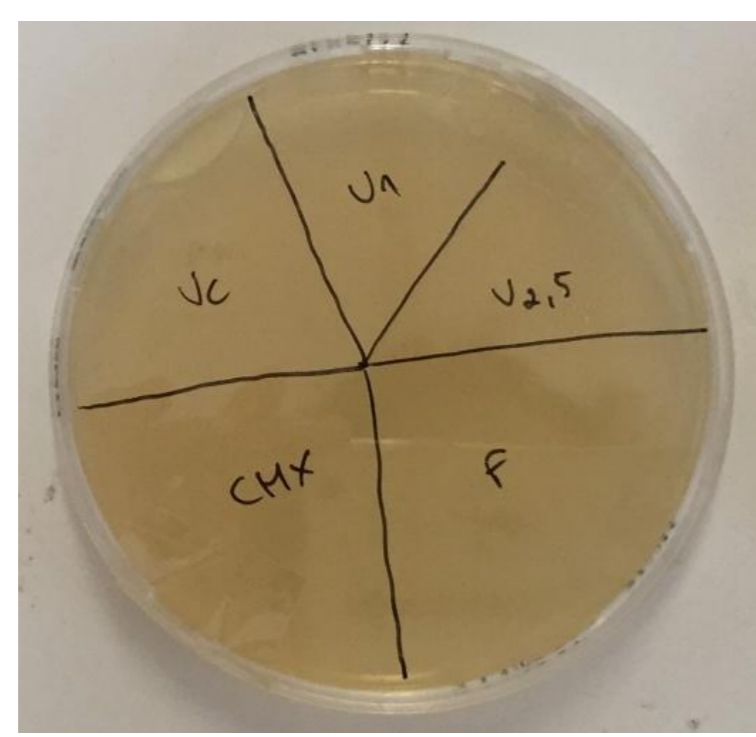
35±2°C
24h



ATIVIDADE ANTIFÚNGICA
1 x 10⁶ a 5 x 10⁶ células/mL
MIC
0,5 x 10³ a 2,5 x 10³ células/mL

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA – Teste de Kirby-Bauer⁹

1) Inoculação de *C. albicans* nas placas de Petri e colocação dos espécimes



GRUPOS EXPERIMENTAIS (n=3)
 C – Resina com 0% CHX
 1 – Resina com 1% CHX
 2,5 – Resina com 2,5% CHX
 5 – Resina com 5% CHX
 7,5 – Resina com 7,5% CHX
 10 – Resina com 10% CHX
CONTROLOS POSITIVOS
 CHX – Disco incorporado com 10µg CHX
 F – Disco incorporado com 20µg Anfotericina

2) Incubação a 35±2 °C durante 48h

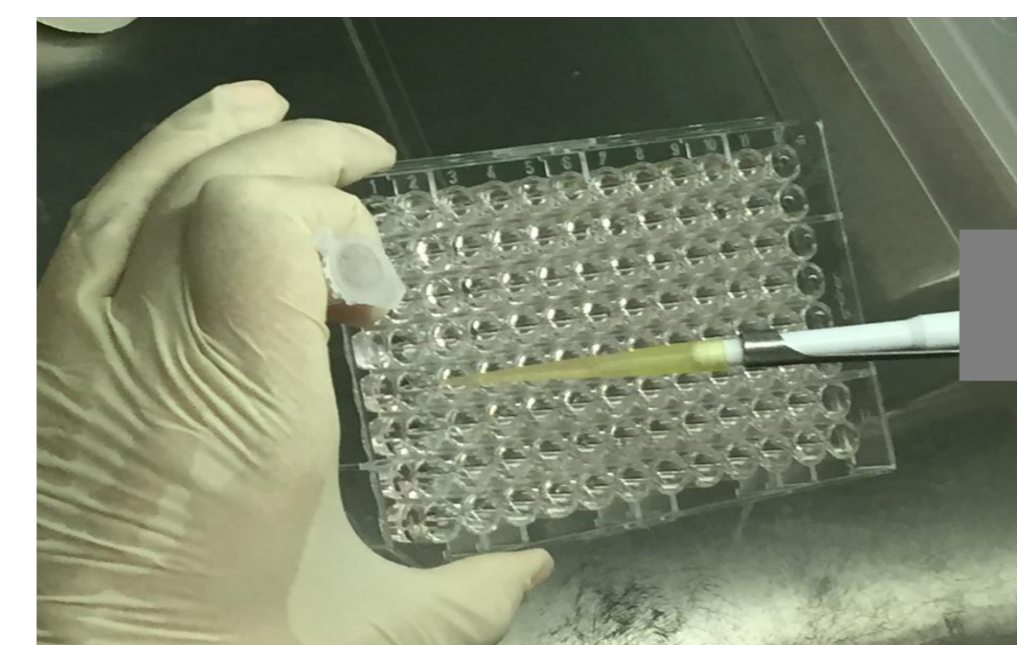


3) Medição dos diâmetros dos halos (mm)

MIC – Teste da Microdiluição em placa¹⁰

1) Preparação da placa de 96 poços com meio RPMI

Microdiluição seriada de CHX 64 a 0,125 µg/mL



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	
B											
C											
D											
E											
F											
G											
H											

2) Inoculação de *C. albicans* na placa de 96 poços

3) Incubação a 35±2°C durante 48h

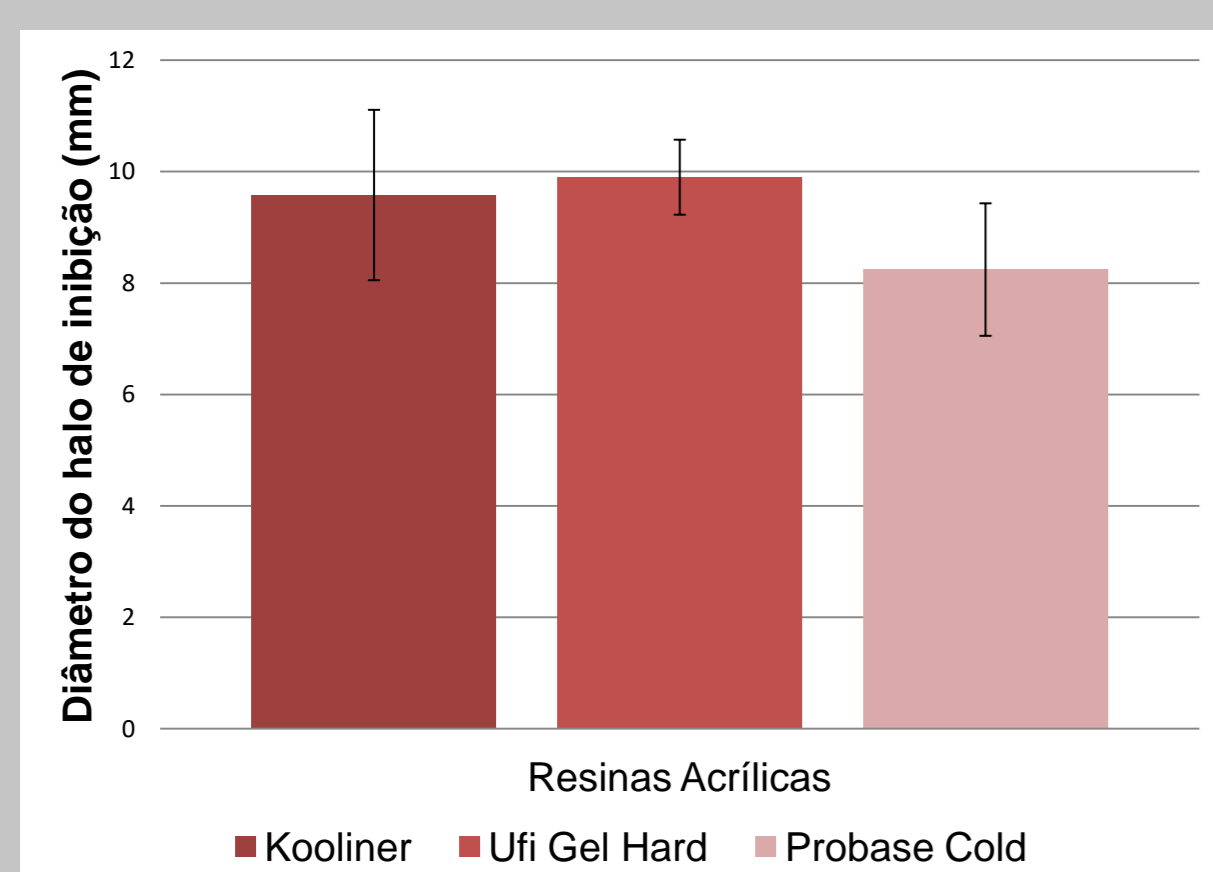
4) Avaliação do crescimento do fungo visualmente através da presença ou ausência de turbidez nos poços

Não há turbidez – não há crescimento de *C. albicans*
Há turbidez – há crescimento de *C. albicans*

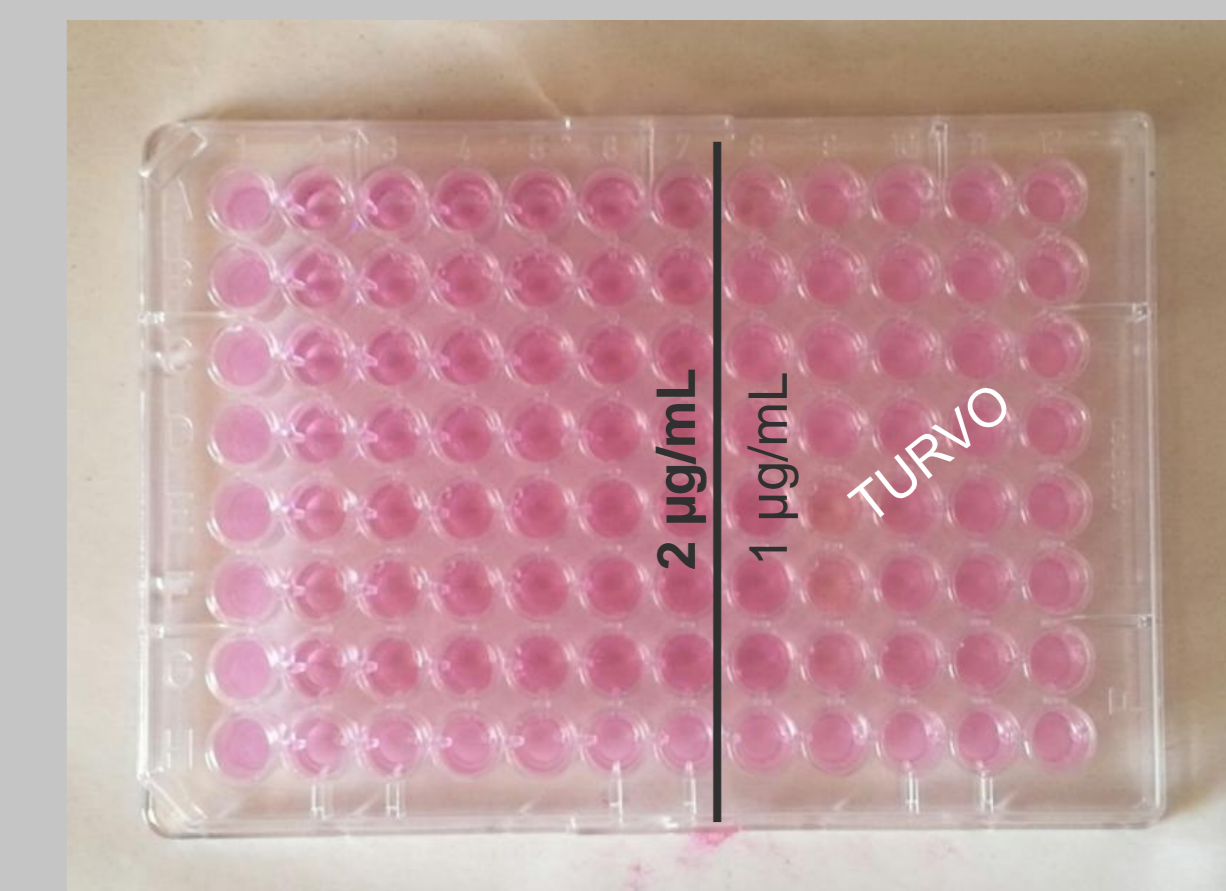
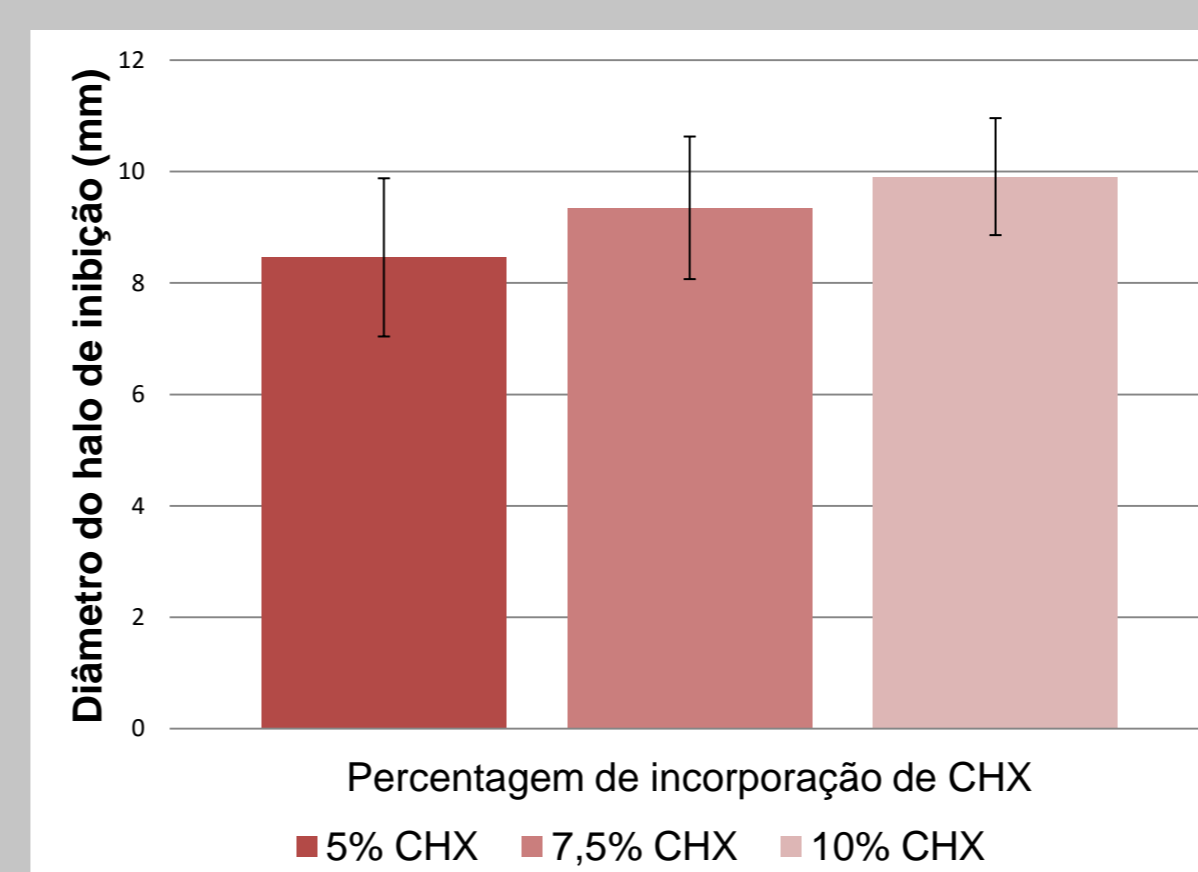


RESULTADOS

Nenhum grupo com 1% de CHX apresentou halo de inibição e, apenas o grupo de Kooliner apresentou halo nos espécimes com 2,5% de CHX (8,95±0,97 mm).



Teste Mann-Whitney; p<0,05



A concentração mínima inibitória (MIC) de clorexidina (CHX) para esta estirpe de *C. albicans* foi 2 µg/mL.

Probase Cold apresentou valores estatisticamente inferiores à resina Ufi Gel Hard (p=0,017).

Verificou-se uma **tendência para o aumento do diâmetro do halo com o aumento da concentração de clorexidina** incorporada no material, não havendo diferenças estatisticamente significativas (p=0,198).

CONCLUSÕES

A incorporação de clorexidina em resinas acrílicas de rebasamento parece ter **influência na atividade microbiológica** contra esta estirpe de *C. albicans*. Os resultados indicam que uma concentração de 2,5% CHX incorporada em Kooliner e 5% CHX em Ufi Gel Hard e Probase Cold poderá ser a melhor opção, uma vez que apresentam atividade antifúngica e, de acordo com estudos prévios, parecem não afetar as propriedades mecânicas dos materiais. No entanto, são necessários mais estudos para afirmar que a **incorporação de clorexidina em resinas acrílicas pode constituir uma potencial abordagem para o tratamento da estomatite protética**.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - Ramage G, Martinez JP, Lopez-Ribot JL. Candida biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. FEMS yeast research. 2006;6(7):979-86. 2 - Redding S, Bhatt B, Rawls HR, Siegel G, Scott K, Lopez-Ribot J. Inhibition of Candida albicans biofilm formation on denture material. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. 2009;107(5):669-72. 3 - Ruby J, Barbeau J. The buccal puzzle: The symbiotic nature of endogenous infections of the oral cavity. The Canadian journal of infectious diseases = Journal canadien des maladies infectieuses. 2002;13(1):34-41. 4 - Coco BJ, Bagg J, Cross LJ, Jose A, Cross J, Ramage G. Mixed Candida albicans and Candida glabrata populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. Oral microbiology and immunology. 2008;23(5):377-83. 5 - Salim N, Moore C, Silikas N, Satterthwaite J, Rautemaa R. Candidacidal effect of fluconazole and chlorhexidine released from acrylic polymer. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2013;68(3):587-92. 6 - Salim N, Silikas N, Satterthwaite JD, Moore C, Ramage G, Rautemaa R. Chlorhexidine-impregnated PDM/THF-M polymer exhibits superior activity to fluconazole-impregnated polymer against Candida albicans biofilm formation. International journal of antimicrobial agents. 2013;41(2):193-6. 7 - Amin WM, Al-Ali MH, Salim NA, Al-Tarawneh SK. A new form of intraoral delivery of antifungal drugs for the treatment of denture-induced oral candidosis. European journal of dentistry. 2009;3(4):257-66. 8 - Rykacz S, Dawlish R, Amin W. New form of administering chlorhexidine for treatment of denture-induced stomatitis. Therapeutics and clinical risk management. 2011;7:219-25. 9 - NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Publication of M44-A2: Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts: approved guideline. Second edition. NCCLS. 24(15): 1-23. 2002. 10 - NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Publication of M27-A2: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: approved standard. Second edition. NCCLS. 22(15): 1-29, 2002.

AGRADECIMENTOS

Governo português, Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), iMed.Ulisboa, para apoio financeiro (Pest-UID/ DTP/ 04138/2014). A apresentação é baseada no trabalho de COST TDI 1305 (Improved Protection of Medical Devices against Infection).