

Atividade probiótica da formulação de *L. rhamnosus* 5.2 em gellan gum sobre biofilmes microcosmos de estomatite protética

Milena Ruling Estenico, Juliana Campos Junqueira, Evelyn Luzia de Souza Santos, Felipe Camargo de Ribeiro, Maíra Terra Garcia. Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, Odontologia. milena.estenico@unesp.br, juliana.junqueira@unesp.br. Bolsa PIBIC - CNPq.

Palavras-Chave: *probióticos, biofilmes microcosmos, estomatite protética.*

Introdução

A estomatite protética é uma lesão da mucosa bucal caracterizada por área eritematosa subjacente à prótese dentária, estando associada com infecções polimicrobianas por *Candida* e espécies bacterianas. Recentemente, nosso grupo de pesquisa isolou uma cepa de *L. rhamnosus* (5.2) com capacidade de inibir *Candida* spp.¹ Além disso, desenvolveu formulações probióticas pela incorporação de *Lactobacillus* em gellan gum, um polissacarídeo natural utilizado pela indústria alimentícia.² Nesse contexto, esse estudo buscou investigar a ação antimicrobiana da formulação de *L. rhamnosus* 5.2 sobre biofilmes microcosmos que reproduzem *in vitro* a diversidade microbiana da estomatite protética.

Objetivo

Avaliar a ação antimicrobiana da formulação de *L. rhamnosus* 5.2 em gellan gum sobre biofilmes microcosmos de pacientes com estomatite protética.

Material e Métodos

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (4714635). Foram coletadas amostras da mucosa e da prótese de um voluntário diagnosticado com estomatite protética associada à prótese parcial removível. As amostras foram armazenadas em caldo BHI e analisadas para confirmação da presença de *Candida* por meio de esfregaço em lâmina e semeadura em ágar Sabouraud. Após confirmação de *Candida*, as amostras foram congeladas. Para os ensaios de biofilmes, alíquotas das amostras foram adicionadas em 30% de caldo YNB suplementado com glicose para crescimento de leveduras, e 70% de caldo BHI para os demais micro-organismos. Após incubação a 37°C (5% CO₂) por 48 h, foi realizada centrifugação e lavagem em PBS para obtenção do inóculo a ser utilizado na formação do biofilme microcosmo. Os biofilmes foram formados em corpos de prova de resina acrílica por 24 h na presença de: formulação probiótica em 0,6% de gellan (grupo 1), formulação probiótica em 1% de gellan (grupo 2), gellan 0,6% (grupo 3), gellan 1% (grupo 4) ou suspensão de *L. rhamnosus* (grupo 5). Os biofilmes foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pela

contagem de células viáveis (UFC) em BHI (total de micro-organismos), Rogosa (lactobacilos), Sabouraud com cloranfenicol (leveduras) e *Mitis Salivarius* (*Streptococcus*). Os dados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey.

Resultados e Discussão

A MEV permitiu uma análise da estrutura morfológica dos biofilmes microcosmos provenientes da mucosa e da prótese, confirmando a formação de biofilmes maduros multiespécies. No biofilme da mucosa, verificou-se muitos cocos, bacilos e leveduras aderidos à superfície da resina. O biofilme da prótese apresentou-se mais denso, com predomínio de bacilos mais alongados associados às leveduras.

A contagem de células viáveis possibilitou uma análise dos efeitos dos tratamentos com probióticos. Na contagem total de microrganismos e de lactobacilos, os grupos tratados com a suspensão de *L. rhamnosus* ou formulações probióticas tiveram maior número de células viáveis em relação aos grupos não tratados com probióticos, devido a disponibilidade de *L. rhamnosus* 5.2 no meio.

Ao analisar o efeito das formulações sobre *Streptococcus*, verificou-se que não houve redução microbiana nos biofilmes tratados com as formulações probióticas. Já na contagem de leveduras, os biofilmes da mucosa e prótese tratados com as formulações probióticas tiveram inibição de crescimento em relação aos grupos não tratados, com diferença significativa entre eles.

Conclusão

A formulação probiótica de *L. rhamnosus* 5.2 em gellan gum foi capaz de inibir o crescimento de *Candida* em biofilmes de estomatite protética, sendo promissora para prevenção da candidíase bucal.

Agradecimentos

PIBIC n°137635/2021-4 e CAPES

¹ Rossoni RD, de Barros PP, de Alvarenga JA, Ribeiro FC, Velloso MDS, Fuchs BB, Mylonakis E, Junqueira JC. Biofouling. 2018;34(2):212-25.

² Ribeiro FC, Junqueira JC, Dos Santos JD, de Barros PP, Rossoni RD, Shukla S, Fuchs BB, Shukla A, Mylonakis E. Antimicrob Agents Chemother. 2020;64(6):e02323-19.