

Bioterápicos de *Candida albicans* induzem alterações nos índices de adesão e na respiração celular

Fortune Homsani¹; Gleyce Moreno Barbosa¹; Lucas Fernandes¹; Camila Monteiro Siqueira¹; Luiz Henrique dos Santos²; Paulo Neufeld²; Tatiana El-Bach;³ André Luis Souza dos Santos⁴; Carla Holandino¹.

Introdução: O gênero *Candida spp* é responsável por cerca de 80% das infecções fúngicas no ambiente hospitalar e constitui causa relevante de infecções sistêmicas em pacientes hospitalizados, especialmente em doentes graves e em imunocomprometidos, com predominância da *Candida albicans*. A adesão das leveduras às células epiteliais do hospedeiro é um potente estimulador para a formação de hifas, forma invasiva do fungo [1]. Os bioterápicos são medicamentos preparados a partir de produtos biológicos, elaborados conforme a Farmacopeia Homeopática Brasileira (FHB)[2], indicados para tratamento de infecções de etiologia conhecida, empregados com grande sucesso no tratamento clínico destas infecções. Os bioterápicos RC, desenvolvidos pelo médico brasileiro Roberto Costa (RC) são preparados a partir do agente etiológico íntegro e, segundo suas pesquisas, possuem maior capacidade de estimular o sistema imunológico do hospedeiro [3,4].

Objetivo: Avaliar as possíveis alterações induzidas pelo bioterápico de *Candida albicans* RC nos índices de adesão de *Candida albicans* frente às células Ma104, bem como na respiração celular.

Metodologia: Os bioterápicos de *Candida albicans* foram preparados nas diluições 12d e 30d, conforme técnica desenvolvida pelo médico brasileiro Roberto Costa, após prévia identificação do agente etiológico. Para o preparo do bioterápico foi usada uma parte de uma suspensão de *C. albicans* íntegra (108 cél/mL) diluída em 9 partes de água destilada estéril submetida a 100 sucussões mecânicas. O procedimento foi sucessivamente repetido até 12d (BIO 12d) e 30d (BIO 30d). Água 30d, usada como controle, foi preparada da mesma forma. A manipulação dos bioterápicos envolveu o

¹ Laboratório Multidisciplinar de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasi; ² Laboratório de Micologia Clínica, UFRJ; ³ Instituto de Bioquímica Médica, UFRJ; ⁴ Laboratório de Investigação de Peptidases, Instituto de Microbiologia, UFRJ. ✉ fortune.homsani@gmail.com

uso de dois solventes: água destilada estéril e tampão salina fosfato (PBS). Análise por microscopia eletrônica de transmissão e avaliação da capacidade de formação de colônias foi utilizada para avaliação de efeitos dos solventes sobre suspensão de leveduras (107 leveduras/ml) em água ou em PBS. A quantificação do índice de adesão de *C. albicans* marcadas com FITC (isotiocianato de fluoresceína – 0,5mg/ml) às células Ma104 pré-tratadas por 24 horas e 18 dias com BIO 12d e BIO 30d, a 10% v/v, foi feita por citometria de fluxo (FACScan). Adicionalmente, as células Ma104 (5 x 10⁴ células / ml) foram cultivadas em meio de cultura suplementado (DMEM + SFB) e estimuladas com 3 a 4 alíquotas de BIO 12d e BIO 30d. As células foram tratadas no mínimo 6 vezes (equivalente a 48 horas de tratamento) e no máximo 18 vezes (equivalente a 96 horas de tratamento), sendo avaliados os parâmetros da respiração por Oxigrafia de Alta Resolução (Oroboros Oxygraph-O2K)[5], após cada tratamento específico. Todas as situações experimentais foram comparadas às condições controle (células tratadas com água destilada estéril dinamizada e não dinamizada).

Resultados: A análise por microscopia eletrônica de transmissão e a avaliação da capacidade de formação de colônias indicou que ambos os aspectos não foram modificados após a diluição da suspensão de leveduras em água ou em PBS. Os ensaios de adesão indicaram diminuição, em torno de 20%, das taxas de adesão das leveduras às células Ma104, após tratamento por 18 dias. Foi possível detectar uma tendência a diminuir a intensidade de fluorescência em todos os tratamentos realizados. Quanto aos parâmetros da respiração celular foi observado que células tratadas com os bioterápicos tendem a redução na taxa de consumo de O₂ acoplado à síntese de ATP.

Conclusão: O uso de água destilada estéril e de PBS preservou as características ultraestruturais e a capacidade de formação de colônias durante a manipulação dos bioterápicos de *C. albicans*. Os resultados obtidos indicam que os bioterápicos modificam tanto as taxas de adesão das leveduras quanto a capacidade respiratória máxima, não sendo possível ainda afirmar se existe correlação direta entre estas alterações celulares.

Palavras-chave

Candida albicans; Bioterápicos; Roberto Costa; Índice de adesão; Respiração celular

Referências

1. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes and Infection* 2011;13: 963 – 976.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Farmacopeia Homeopática Brasileira. 3ª ed., 2011. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira>
3. Costa RA. Homeopatia atualizada. 2º ed. Petrópolis: Vozes; 1984.
4. Costa RA. Nosódios vivos. Rio de Janeiro: Farmácia Homeopática Átomo Ltda.; 2002.
5. Gnaiger E. Bioenergetics at low oxygen: dependence of respiration and phosphorylation on oxygen and adenosine diphosphate supply. *Respiration Physiology* 2011;128(3): 277-297.