

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PABLYNE CRUZEIRO LOPES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *LACTOBACILLUS*
FERMENTUM E *LACTOBACILLUS CURVATUS* SOBRE *CANDIDA PARAPSILOSIS*,
CANDIDA GLABRATA E *CANDIDA KRUSEI***

BRASILIA - DF

2023

PABLYNE CRUZEIRO LOPES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *LACTOBACILLUS FERMENTUM* E *LACTOBACILLUS CURVATUS* SOBRE *CANDIDA PARAPSILOSIS*, *CANDIDA GLABRATA* E *CANDIDA KRUSEI*.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia, da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, para à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Yanna Karla de Medeiros Nóbrega

Co-orientador: Profa. Dra. Rosane Mansan Almeida

BRASÍLIA - DF
2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

CC957a Cruzeiro Lopes, Pablyne
Avaliação da atividade antifúngica de *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus curvatus* (probióticos) sobre *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* e *Candida krusei*. / Pablyne Cruzeiro Lopes; orientador Yanna Karla de Medeiros Nóbrega ; co-orientador Rosane Mansan Almeida. -- Brasília, 2023.
22 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2023.

1. *Candida não-albicans*. 2. *L. fermentum*. 3. *L. curvatus*. 4. Candidíase vulvovaginal. 5. Probióticos. I. Karla de Medeiros Nóbrega , Yanna, orient. II. Mansan Almeida, Rosane, co-orient. III. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família e, principalmente aos meus pais, que sempre me incentivaram e possibilitaram a realização dos meus sonhos. Sem eles não seria possível estar onde estou hoje.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo o apoio e incentivo durante a minha jornada acadêmica, aos meus pais Sirley e Roginério, que sempre me apoiaram sendo minhas asas para que pudesse alcançar o mais alto em meu potencial, ao irmão Pablo, às minhas tias Fernanda e Silesia que me acolheram nessa fase final do meu curso, à minha madrinha Sueley que sempre me incentivou nos estudos.

Agradeço às minhas amigas Katielly, Laura, Thays e Karolyne e ao meu amigo Vitorino por sempre me ouvirem falando sobre meu curso e sobre meus experimentos, mesmo não entendendo nada sobre. Ter vocês para me ouvirem desabafar e me acalmar foi muito importante.

Agradeço à Giovanna e à Leticia por estarem sempre presentes durante a minha graduação, sendo um apoio e um presente que UnB me proporcionou. Meus dias na faculdade foram melhores por terem vocês para me ajudar e fazer rir.

Agradeço à Prof. Dra. Fabiana Brandão Alves da Silva que foi a responsável a me apresentar ao Laboratório de Microbiologia e Imunologia Clínica e me fazer amar essa área e me apresentar à Prof. Yanna Nóbrega.

Agradeço à Prof. Dra. Yanna Karla de Medeiros Nóbrega por me acolher primeiro como estagiaria, depois como aluna de PIBIC e agora como orientanda. Por todo carinho demonstrado durante a minha graduação e, principalmente, por todos os ensinamentos.

Agradeço a Dra. Rosane Mansan Almeida, a nossa Rô, por todos os ensinamentos no laboratório, por sempre estar presente para dar apoio, tirar dúvidas e acalmar quando um experimento não saia como planejado.

EPÍGRAFE

“Um cientista no seu laboratório não é apenas um técnico: é, também, uma criança colocada à frente de fenômenos naturais que impressionam como se fossem um conto de fadas”
Marie Curie

RESUMO

Probióticos são microrganismos que quando administrados na dosagem adequada conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Espécies do gênero *Lactobacillus* estão entre os mais utilizados. Essas bactérias são também os microrganismos dominantes no ambiente vaginal, onde conferem ação protetora. A principal razão para mulheres procurarem atendimento médico são infecções ginecológicas, sendo a Candidíase Vulvovaginal (CVV) uma das mais frequentes. O principal agente etiológico, patógeno oportunista em seres humanos, é *Candida albicans*. Entretanto, novos dados epidemiológicos apontam o aumento de espécies de *Candida* não-*albicans*. Dentre seus representantes, os mais comumente isolados em pacientes são: *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*. Muitas dessas cepas já apresentam resistência a antifúngicos da classe dos azóis, como o fluconazol. O objetivo deste trabalho foi investigar a ação inibitória de *L. fermentum* e *L. curvatus* sobre cepas de *C. não-albicans* em modelo *in vitro*. Avaliou-se a ação microbicida de cepas de *Lactobacillus* sobre as cepas de *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. glabrata* por meio da contagem de Unidades Formadoras de Colônia (CFU/mL) após cocultivo. Os resultados apresentados na contagem de CFU demonstram que as espécies de *Lactobacillus* utilizadas têm atividade inibitória contra as cepas de *Candida* estudadas. Assim, podem representar uma opção promissora no tratamento de CVV.

Palavras-Chaves: *Candida* não-*albicans*, *Lactobacillus* spp., candidíase vulvovaginal, probióticos.

ABSTRACT

Probiotics are microorganism that, when administered in adequate doses, can provide health benefits to the host. Species of the genus *Lactobacillus* are among the most used. These bacteria are also the dominant microorganisms in the vaginal environment, where they can provide a protective action. The main reason for women to seek medical care is gynecological infections, with vulvovaginal candidiasis (VVC) being one of the most frequent. The main etiologic agent, na opportunistic pathogen in humans, is *Candida albicans*. However, new epidemiological data point to na increase in non-*albicans Candida* species. Among its representatives, the most commonly isolated in patients are: *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*. Many of these strains already show resistance to antifungals from theazole class, such as fluconazole. The objective of this work was to investigate the inhibitory action of *L. fermentum* and *L. curvatus*. on non-*albicans Candida* strains in an in vitro model. We have studied the microbicidal action of *Lactobacillus* strains on *C. parapsilosis*, *C. krusei* and *C. glabrata* strains by counting Colony Forming Units (CFU/mL) after cocultivation. The results presented in the CFU count demonstrated that the used *Lactobacillus* species have inhibitory activity against the *Candida* strains tested. Thus, they may represent a promising option in the treatment of VVC.

Keywords: non-*albicansCandida*, *Lactobacillus*, vulvovaginalcandidiasis, probiotics.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Contagem de CFU de *C. krusei* em cocultivo com *L. curvatus* (A) e *L. fermentum* (B). 17
- Figura 2 - Contagem de CFU de *C. glabrata* em cocultivo com *L. curvatus* (A) e *L. fermentum* (B). 18
- Figura 3 – Contagem de CFU de *C. parapsilosis* em cocultivo com *L. curvatus* (A) e *L. fermentum* (B). 19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação do percentual fungicida das espécies de <i>Lactobacillus</i> sobre <i>C. não-albicans</i> .	20
Tabela 2 – Avaliação do percentual de recuperação de espécies de <i>Lactobacillus</i> após cocultivo com <i>C. não-albicans</i> .	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Colletion</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CFU	Unidade Formadora de Colonia
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
CVV	Candidíase Vulvovaginal
DO	Densidade Óptica
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
LabMIC	Laboratorio de Microbiologia e Imunologia Clinica
MRS	<i>Man, Rogosa e Sharpe</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PR	Percentual de Recuperação
YM	<i>Yeast Malt</i>

Sumário

1. Introdução	13
2. Metodologia	16
2.1 Origem e manutenção dos microrganismos	16
2.2. Certificação de viabilidade de <i>Lactobacillus</i> spp.	16
2.3. Certificação de viabilidade de <i>Candida</i> spp.	16
2.4. Cocultivo de microrganismos	17
2.5. Contagem de Unidades Formadoras Colônias (UFC)	17
3. Resultados	19
3.1. Avaliação da atividade antifúngica das cepas de <i>L. fermentum</i> e <i>L. curvatus</i> sobre espécies de <i>C. não-albicans</i>.	19
4. Discussão	23
5. Conclusão	24
6. Referências	25

1. Introdução

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), os probióticos são microrganismos que, quando administrados na dosagem adequada, podem conferir benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/ OMS) (HILL *et al.*, 2014). Entre as principais espécies utilizadas, destacam-se *Lactobacillus*, que desempenham um papel importante na microbiota feminina.

A presença dominante de *Lactobacillus* spp. na vagina confere proteção contra infecções ginecológicas, incluindo a candidíase vulvovaginal (CVV). Os *Lactobacillus* exercem sua influência benéfica através de vários mecanismos. Um deles é a produção de ácido láctico, o qual acidifica o ambiente vaginal, dificultando o crescimento e a sobrevivência de *Candida* spp. Essa acidificação é crucial, uma vez que esses fungos são mais propensos a prosperar em um ambiente com pH mais alcalino (DE SETA, F. *et al.*, 2014).

Além da acidificação, essas bactérias também produzem outras substâncias que inibem o crescimento e a virulência de *Candida* spp. Essas substâncias incluem peróxido de hidrogênio, bacteriocinas (peptídeos antimicrobianos) e ácido acético. O peróxido de hidrogênio possui propriedades oxidativas que podem danificar a membrana celular dos fungos, enquanto as bacteriocinas têm a capacidade de eliminar diretamente as células de *Candida* spp. O ácido acético também pode afetar negativamente o crescimento dos fungos ao reduzir sua capacidade de aderir e formar biofilmes na mucosa vaginal (DE SETA, F. *et al.*, 2014).

As infecções ginecológicas são uma das principais razões pelas quais as mulheres procuram atendimento médico. Dentre essas enfermidades, a candidíase vulvovaginal (CVV) é uma das mais frequentes. *Candida* spp é o agente etiológico da CVV e é considerada um patógeno oportunista em seres humanos (DENNING, D. W. *et al.*, 2018). A espécie mais comum e de maior patogenicidade é *Candida albicans*. No entanto, novos dados epidemiológicos têm mostrado um aumento nas espécies de *Candida* não-*albicans*, especialmente em ambientes hospitalares (FARIA-RAMOS, I. *et al.*, 2014).

Dentre as espécies não-*albicans* do gênero *Candida*, as mais frequentemente isoladas em pacientes são *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. glabrata* (FARIA-RAMOS, I. *et al.*, 2014). É importante destacar que algumas dessas espécies já apresentam resistência aos antifúngicos da classe dos azóis, como o fluconazol, que é um dos medicamentos mais comumente utilizados no tratamento da CVV (PFALLER, M. A. *et al.*, 2012). Essa resistência representa um desafio no manejo clínico das infecções fúngicas, uma vez que limita as opções terapêuticas disponíveis.

Além disso, a ocorrência da candidíase vulvovaginal está associada a fatores de risco, como o uso de antibióticos de amplo espectro, diabetes mellitus não controlado, imunossupressão e uso de contraceptivos orais (DENNING, D. W. et al, 2018). O desequilíbrio da microbiota vaginal, com diminuição de *Lactobacillus*, também pode contribuir para a suscetibilidade a infecções fúngicas (REID, G. et al., 2011).

O tratamento da candidíase vulvovaginal pode envolver o uso de antifúngicos tópicos ou orais, dependendo da gravidade e recorrência dos sintomas (DENNING, D. W. et al, 2018). No entanto, o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas é uma área de pesquisa em andamento. Estudos têm explorado o potencial dos probióticos, como *Lactobacillus* spp na prevenção e tratamento da candidíase vulvovaginal, pois eles podem ajudar a restaurar o equilíbrio da microbiota vaginal e inibir o crescimento de *Candida* spp (DE SETA, F. et al., 2014).

2. Objetivo

O objetivo deste estudo é investigar a ação fungicida potencial de *L. curvatus* e *L. fermentum* contra cepas não-*albicans* de *Candida*, incluindo *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Essas descobertas podem ter implicações terapêuticas promissoras no tratamento de infecções por *Candida* vulvovaginal (CVV).

3. Metodologia

3.1 Origem e manutenção dos microrganismos

Foram utilizadas, nesta pesquisa, as cepas: *C. glabrata* American Type Culture Collection ATCC 90030, *C. parapsilosis* American Type Culture Collection ATCC 22019, *C. krusei* American Type Culture Collection ATCC 6258. Todas as amostras empregadas foram conservadas em meio aquoso Sabouraud e glicerol a 15% e congeladas a -20°C em microtubos de 1,5 mL, onde foram mantidas para recuperação e processamento posterior.

As cepas de *Lactobacillus* utilizadas - *L. fermentum* (Florien, Lote IC2601) e *L. curvatus* (Florien, Lote 1981ILCU111/01), foram gentilmente cedidas pela Farmacotécnica®, farmácia de manipulação. Todas as amostras empregadas foram conservadas em meio aquoso MRS e glicerol a 20% e congeladas a -20°C em microtubos de 1,5 mL, onde foram mantidas para recuperação e processamento posterior.

3.2. Certificação de viabilidade de *Lactobacillus* spp.

Todas as cepas empregadas na pesquisa, de forma liofilizada, tiveram uma alíquota cultivada a 35 °C (\pm 2°C) por 24 horas, em tubos de ensaio contendo 2mL de caldo Man, Rogosa e Sharpe (MRS), do fabricante Acumedia® (Neogen do Brasil, São Paulo, Brasil) para verificarmos que estavam viáveis. Em seguida, após 24 horas de incubação, as amostras foram semeadas no mesmo meio de cultivo sob a forma sólida para confirmação do crescimento e foram conservadas em solução aquosa de glicerol a 10% e congeladas a -20 °C em microtubos de 1,5 mL, onde foram mantidas para recuperação e processamento posterior se necessário (contraprova).

3.3. Certificação de viabilidade de *Candida* spp.

As cepas de *C. parapsilosis*, *C. glabratae* e *C. krusei* empregadas na pesquisa foram obtidas de coleção certificadas *American Type Culture Collection* (ATCC), conservadas em solução aquosa de glicerol a 10% e congeladas a -20 °C em microtubos de 1,5 mL. As cepas empregadas pertenciam ao Laboratório de Microbiologia e Imunologia Clínica (LabMIC). Uma alíquota foi cultivada a 35 °C (\pm 2°C) por 24 horas, em tubos de ensaio contendo 2 mL de caldo BHI com 2% de dextrose e em caldo YM para verificarmos se estavam viáveis.

3.4. Cocultivo de microorganismos

Para a técnica de cocultivo de micro-organismos, foram utilizados isolados de *C. não-albicans* ATCC e espécies de *Lactobacillus* spp. adquiridas comercialmente e certificadas.

A partir de culturas puras e frescas de *Candida* spp. cultivadas em caldo Sabouraud a 35°C (\pm 2°C) por 24h, e culturas puras e frescas de *Lactobacillus* spp. cultivadas em caldo MRS, por 24 h a 35°C (\pm 2°C) foi realizada a técnica de cocultivo de acordo com Kang et al. (2018), com modificações descritas a seguir.

Após o período de incubação de 24h, os cultivos isolados foram analisados por espectrofotometria empregando Espectrofotômetro BTS 310 e comprimento de onda de 578 nm, e as leituras em Densidade Óptica (DO) foram ajustadas.

Os meios de cultura Sabouraud para *Candida* spp. e MRS para *Lactobacillus* spp. puros foram considerados solução de referência para leitura do espectrofotômetro. Após a preparação dos inóculos com *Candida* spp. e *Lactobacillus* spp., as DO foram ajustadas para valores entre 0.080 e 0.100, que correspondem ao número de micro-organismos, neste caso leveduras e bactérias na concentração aproximada de 1×10^6 e 1×10^8 micro-organismos/mL, respectivamente (CLSI, 2008; KANG *et al.*, 2018).

Os cocultivos foram realizados em tubos contendo 4 mL de caldo MRS e Sabouraud volume/volume (v/v), e inóculo ajustado na mesma concentração de *Candida* spp. (1×10^6 bactérias/mL) e *Lactobacillus* spp. (1×10^8 leveduras/mL) (KANG et al, 2018; CLSI, 2008).

Os tubos com o cocultivo foram incubados à temperatura de 35°C (\pm 2°C), no período de 48h. Como Controle Positivo (CP), sem interferência externa de crescimento, para as espécies de *Candida* foram utilizados 2 mL de caldo Sabouraud e 1×10^6 leveduras/mL, para os *Lactobacillus* spp. foram utilizados 2mL de caldo MRS e 1×10^8 bactérias/mL. Os meios Sabouraud e MRS puros foram empregados como controles negativos (CN). Todos os Controles Positivos (CP) foram incubados na mesma condição dos testes, e foram realizados em duplicata técnica e biológica.

3.5. Contagem de Unidades Formadoras Colônias (UFC)

Após o período de incubação no meio líquido MRS, foi retirada uma alíquota de 10 μ L para fazer uma diluição de 1:100 em solução salina 0,9%. A partir dessa diluição, foi realizada uma nova diluição de 1:1000 em solução salina 0,9% (CLSI, 2004). Da diluição final (1:100.000), foram inoculados 10 μ L em placas de Petri contendo o meio MRS sólido

contendo o corante vermelho neutro a 0,1%, que foram incubadas a 37°C por 24h. A determinação da viabilidade dos *Lactobacillus* spp. foi realizada pela contagem de Unidades Formadoras de Colônias por mL (CFU/mL). Todas as amostras e controles foram testados em duplicata técnica e biológica.

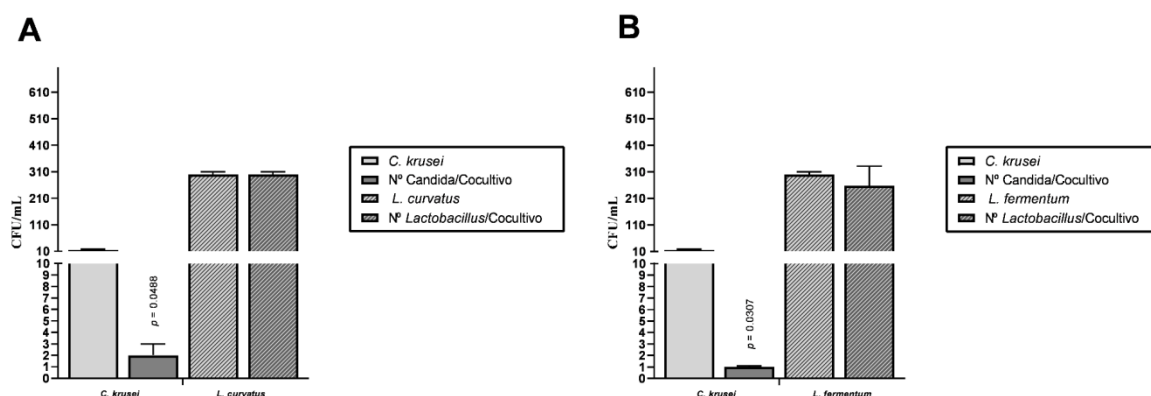
O corante vermelho neutro foi empregado para facilitar a visualização das colônias de *Lactobacillus* spp., cuja contagem foi realizada individualmente para cada espécie.

4. Resultados

4.1. Avaliação da atividade antifúngica das cepas de *L. fermentum* e *L. curvatus* sobre espécies de *C. não-albicans*.

Após o cocultivo de *L. fermentum* e *L. curvatus* com *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*, foi observada uma redução significativa no crescimento da população dessas espécies de *Candida*, quando comparado ao controle. Essa redução indica uma atividade inibitória dessas bactérias em relação às espécies de *Candida* testadas.

Figura 1 - contagem de CFU de *C. krusei* em cocultivo com *L. curvatus* (A) e *L. fermentum* (B).



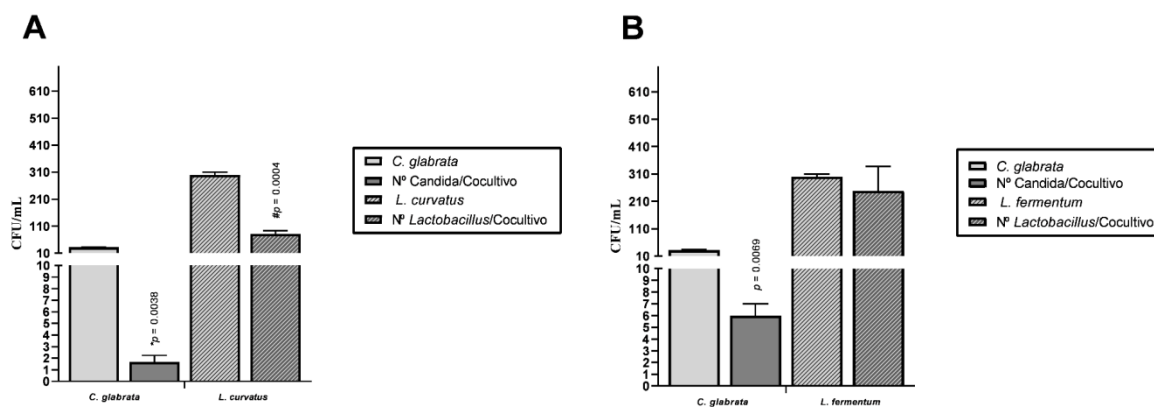
Legenda: análise estatística ANOVA de uma via com pós-teste Sidak de comparações múltiplas entre CFU/mL de *C. krusei* isolada e em cocultivo com *L. curvatus* ($p=0,0488$), e *L. curvatus* isolado e em cocultivo com a *C. krusei* (A). *C. krusei* isolada e em cocultivo com *L. fermentum* ($p=0,0307$), e *L. fermentum* isolado e em cocultivo com a *C. krusei* (B).

Ao analisar a população de *L. curvatus* em cocultivo com *C. krusei* (Figura 1A), foi observada uma redução na contagem de colônias dessa espécie de *Candida*, demonstrando sua atividade microbica. Quando calculado, o percentual fungicida desse lactobacilo é de 87% (Tabela 1). Além disso, é importante destacar que a contagem populacional de *L. curvatus* foi semelhante à do grupo controle, tendo o percentual de recuperação (PR) em 100% (Tabela 2).

Especificamente em relação à população de *C. krusei*, *L. fermentum* (Figura 1B) demonstrou uma atividade antifúngica elevada, de 93% (Tabela 1), resultando em uma redução acentuada na população de *C. krusei*. No entanto, foi observada uma ligeira diminuição na população de *Lactobacillus*, indicando um possível efeito adverso na

sobrevivência dessas bactérias durante o cocultivo com *C. krusei*, resultado este demonstrado pelo percentual de recuperação (PR) do lactobacilo em 86% (Tabela 2).

Figura 2 - contagem de CFU de *C. glabrata* em cocultivo com *L. curvatus*(A) e *L. fermentum*(B).

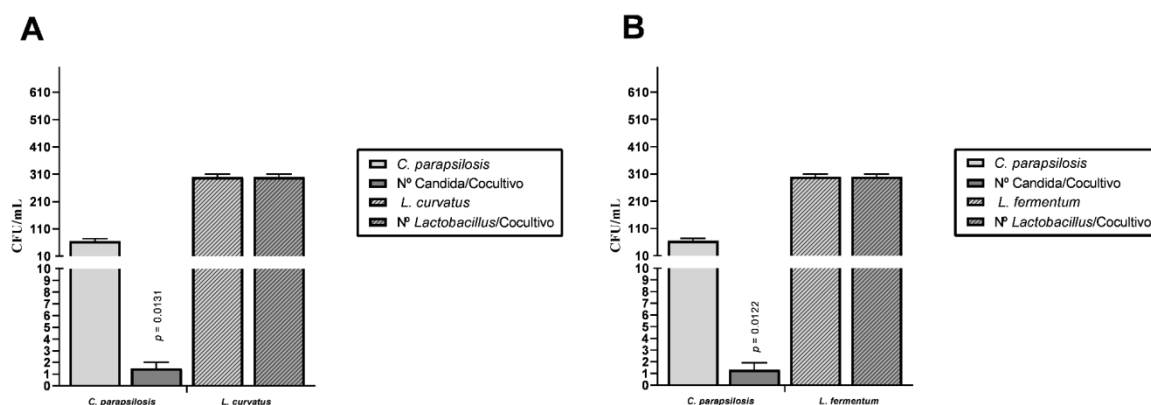


Legenda: análise estatística ANOVA de uma via com pós-teste Sidak de comparações múltiplas entre CFU/mL de *C. glabrata* isolada e o cocultivo com *L. curvatus*(*p= 0,0038) , e *L. curvatus* e o cocultivo com a *C. glabrata*(#p= 0,0004) (A). *C. glabrata* isolada e o cocultivo com *L. fermentum*(p=0,0069) , e *L. fermentum* e o cocultivo com a *C. glabrata*(B).

De acordo com o mesmo cenário observado anteriormente com a espécie de *C. krusei*, também foi constatada uma diminuição na população de *C. glabrata* (Figura 2A), o que evidencia a atividade antifúngica de 95% (Tabela 1) do *L. curvatus*. No entanto, ao analisar a contagem bacteriana, nota-se uma diminuição acentuada, revelando que o cocultivo dessas duas espécies têm um efeito negativo também sobre o lactobacilo, sendo seu PR em apenas 27% (Tabela 2).

Observou-se também uma diminuição, porém menos acentuada, na população de *L. fermentum* quando foram cocultivados com *C. glabrata* (figura 2B), indicando um possível impacto negativo no crescimento dessas bactérias durante a interação com essa espécie de *Candida*, tendo um PR de 83% (Tabela 1). Em relação a *C. glabrata*, foi observada uma redução em comparação ao grupo controle, demonstrando a ação microbiciada em 81 % (Tabela 2) dessa espécie de lactobacilo.

Figura 3 - contagem de CFU de *C. parapsilosis* em cocultivo com *L. curvatus* (A) e *L. fermentum* (B).



Legenda: análise estatística ANOVA de uma via com pós-teste Sidak de comparações múltiplas entre CFU/mL de *C. parapsilosis* isolada e em cocultivo com *L. curvatus* ($p=0,0131$), e *L. curvatus* isolado e em cocultivo com a *C. parapsilosis* (A). *C. parapsilosis* isolada e em cocultivo com *L. fermentum* ($p=0,0122$), e *L. fermentum* isolado e em cocultivo com a *C. parapsilosis* (B).

Por outro lado, em relação a *C. parapsilosis*, a atividade fungicida do *L. curvatus* pode ser considerada maior (Figura 3A). Quando comparado aos controles, foi observada uma redução quase total na população de *Candida*, demonstrando ação microbicida de 98% (Tabela 1), indicando um efetivo controle do crescimento fúngico causadas por essa espécie. Além disso, a contagem de *L. curvatus* permaneceu próxima à do controle, com um PR de 100% (Tabela 2), sugerindo uma melhor adaptação e sobrevivência de *L. curvatus* durante o cocultivo com essa espécie de *Candida*.

Com resultado semelhante, no cocultivo entre *L. fermentum* e *C. parapsilosis* (figura 3B), foi observada uma atividade microbicida elevada em comparação aos controles, com um percentual fungicida de 98% (Tabela 1) como no teste anterior. Isso significa que o *L. fermentum* possui um efeito microbicida eficaz contra a espécie *C. parapsilosis*, resultando em uma redução significativa na sua população. Em relação à contagem de *L. fermentum*, não foram observadas alterações significativas em comparação aos controles, com um PR também de 100%, indicando que essa bactéria é capaz de exercer sua ação antifúngica sem afetar negativamente sua população durante o cocultivo.

Tabela 1- Avaliação do percentual Fungicida das espécies de *Lactobacillus* sobre *C. não-albicans*

Percentual Fungicida (%)	<i>L. curvatus</i>	<i>L. fermentum</i>
<i>C. krusei</i>	87	93
<i>C. glabrata</i>	95	81
<i>C. parapsilosis</i>	98	98

Tabela 2- Avaliação do percentual de recuperação de espécies de *Lactobacillus* após cocultivo com *C. não-albicans*

Percentual Recuperação de <i>Lactobacillus</i> (%)	<i>C. krusei</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>
<i>L. curvatus</i>	100	27	100
<i>L. fermentum</i>	86	83	100

Os resultados obtidos sugerem que tanto *L. fermentum* quanto o *L. curvatus* possuem propriedades microbicidas contra várias espécies de *Candida*, como *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. No entanto, é importante notar que a sobrevivência e o crescimento de *Lactobacillus* podem variar durante a interação com essas espécies específicas. Essas descobertas destacam o potencial promissor dessas bactérias como agentes efetivos no combate às infecções por *Candida*, embora fatores ambientais e características das espécies de *Candida* envolvidas possam influenciar o resultado da interação.

5. Discussão

Os resultados do presente estudo estão consistentes com a literatura existente, uma vez que demonstraram que as espécies de *Lactobacillus* investigadas possuem atividade microbicida contra *Candida*. Esses achados reforçam a relevância desses *Lactobacillus* como uma potencial fonte de tratamento contra infecções fúngicas, fornecendo uma abordagem adicional para combater esses fungos.

Um estudo publicado em 2018 por Yulong Tan, avaliou as propriedades probióticas do sobrenadante de espécies *Lactobacillus* contra *Candida não-albicans*. Os resultados demonstraram que certas linhagens de *Lactobacillus* apresentaram atividade antifúngica contra *C. não-albicans*, inibindo a formação de biofilme e o dano celular por essas espécies de *Candida*.

Espécies de *Lactobacillus* representam uma alternativa promissora no combate às infecções de espécies de *Candida não-albicans*, as quais estão em crescente preocupação no cenário da saúde atual. Esse é um fato relevante, especialmente considerando os relatos cada vez mais frequentes de resistência aos antifúngicos da classe dos azóis.

Nesse contexto, *Lactobacillus* spp. se destacam como uma potencial abordagem terapêutica, pois apresentam propriedades antimicrobianas que podem ajudar a inibir o crescimento e a proliferação das espécies de *Candida* resistentes aos azóis. Além disso, esses microrganismos têm a capacidade de modular o ambiente microbiano, promovendo o equilíbrio da microbiota e fortalecendo as defesas naturais do organismo contra infecções fúngicas.

Embora mais pesquisas sejam necessárias para entender melhor os mecanismos de ação e a eficácia de *Lactobacillus* no combate às infecções por *C. não-albicans*, os resultados preliminares são encorajadores. Essas descobertas fornecem uma base sólida para o desenvolvimento de terapias probióticas que visem controlar essas infecções fúngicas resistentes aos antifúngicos convencionais.

Portanto, *Lactobacillus* spp representam uma esperança promissora no tratamento das infecções por *Candida não-albicans*, especialmente diante do desafio crescente da resistência aos azóis. A exploração desses microrganismos como agentes terapêuticos pode oferecer novas opções para combater efetivamente essas infecções e melhorar a saúde global.

6. Conclusão

L. fermentum e *L. curvatus* demonstraram atividade microbicida sobre as espécies de *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*, que são frequentemente encontradas em infecções vaginais. Esses resultados indicam que esses dois *Lactobacillus* possuem um potencial promissor como probióticos para o tratamento dessas infecções. No entanto, estudos adicionais são necessários para confirmar quais os mecanismos responsáveis por essa inibição e explorar ainda mais o uso desses *Lactobacillus* como opções terapêuticas eficazes.

7. Referências

- DE SETA, F. et al. Lactobacillus plantarum P17630 for preventing Candida vaginitis recurrence: A retrospective comparative study. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, v. 182, p. 136–139, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.09.018>
- CLSI. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts ; Approved Standard — Second Edition Serving the World ’ s Medical Science Community Through Voluntary Consensus**. [S. l.: s. n.], 2008. v. 22
- DENNING, D. W. et al. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 11, p. e339–e347, 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30103-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30103-8)
- FARIA-RAMOS, I. et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 33, n. 12, p. 2241–2247, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2194-8>
- HILL, Colin *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- KANG, Chang Ho *et al.* In Vitro Probiotic Properties of Lactobacillus salivarius MG242 Isolated from Human Vagina. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 343–349, 2018.
- PFALLER, M. A. et al. Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant blood stream isolates of Candida glabrata. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1199–1203, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.06112-11>
- REID, G. et al. Microbiota restoration: Natural and supplemented recovery of human microbial communities. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 27–38, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2473>
- TAN, Y. et al. Inhibitory effect of probiotic lactobacilli supernatant on single and mixed non-albicans Candida species biofilm. **Archives of Oral Biology**, v. 85, p. 40–45, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.10.002>