Treatment with *Candida albicans* biotherapeutic influences *in vitro* fungal adhesion to Ma-104 cells

Beatriz Guerreiro Basílio Costa, Camila Monteiro Siqueira, Gleyce Moreno Barbosa, Venicio Feo da Veiga, Maristela Barbosa Portela, Rosangela Maria de Araújo Soares, Carla Holandino

Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ – Brazil

ABSTRACT

Background: Oral candidiasis is an opportunist fungal infection in humans, mainly caused by *Candida albicans*. It occurs when the host presents an imbalance in the immune system and *Candida* spp., normally found in human flora, become able to develop the infection [1]. This disease is very common in HIV patients, and in all individuals that present immunosuppression, such as patients treated with chemotherapy. Considering this scenario, the development of new medicines to treat oral candidiasis is mandatory.

Aims: The aim of this study was to evaluate cytotoxicity, morphology and quantify the adhesion rates of *C. albicans* to biotherapeutic-treated Ma104 cells.

Methodology: The biotherapeutic was prepared following the Roberto Costa technique and Brazilian Homeopathic Pharmacopeia protocol [2]. Briefly, biotherapeutic 1X was prepared with 1 mL of aqueous solution containing 10⁸ yeasts of living *Candida albicans* plus 9 ml of sterile distilled water. This solution was submitted to 100 mechanical succussions. Biotherapeutic 2X was obtained after addition of 1 ml of 1X solution in 9 ml of sterile distilled water and it was also submitted to 100 mechanical succussions. This procedure was repeated until biotherapeutic 30X was obtained. As a control, sterile dynamized water (30X) was used. The inhibition of fungal growth induced by biotherapeutic was evaluated by MTT method after 24 hours of treatment. The morphological aspects of Ma104-biotherapeutic-treated cells were analyzed by Giemsa staining after 5, 10 and 60 days, and compared with control groups (water 30X and untreated cells). Additionally, Ma104 cells were treated during 5 and 30 days with biotherapeutic in parallel with respective controls, and the index adhesion of yeast cells was quantified.

Results: The biotherapeutic was not able to reduce the viability of treated *C. albicans* when compared with controls. On the other hand, Ma104 treated cells presented important morphological alterations after 60 days, such as: cytoplasmic vacuoles, halos around the nucleolus and elongation of the plasmatic membrane. These changes were not observed in untreated cells nor in ones treated with water 30X. The adhesion index to Ma104 cells was reduced around 27% after 5 and 30 days of treatment when compared to controls.

Conclusion: These results showed that the biotherapeutic did not present any cytotoxicity, but was able to modify the morphological aspects of Ma-104 cells. Additionally, the interaction between host cells and ethilologic agent is directly influenced by biotherapeutic treatment, suggesting a promising antifungal potential of this medicine.

Key words: *Candida albicans*, biotherapeutic, toxicity, adhesion index.

References:

- [1] Farah CS *et al.* Oral candidiasis: Clinics in Dermatology, 18:553-562, 2000.
- [2] Brazilian Homeopathic Pharmacopoeia, 2nd ed. SP: Atheneu, 1997.
-

Tratamento com bioterápico *Candida albicans* influencia a adesão de fungos a células Ma104 *in vitro*

RESUMO

Introdução: A candidíase oral é uma infecção fúngica oportunista em humanos, causada principalmente por *Candida albicans*. Esta doença ocorre quando o hospedeiro apresenta um desequilíbrio no sistema imune e *Candida* spp., normalmente encontrada na flora humana, torna-se capaz de desenvolver a infecção [1]. Esta patologia é muito comum em pacientes HIV e em todos indivíduos que apresentam imunossupressão, como pacientes submetidos à quimioterapia. Considerando este cenário, o desenvolvimento de novos medicamentos para tratamento de candidíase oral é extremamente importante.

Objetivos: O objetivo do estudo foi avaliar a citotoxicidade, morfologia e quantificar o índice de adesão de *C. albicans* a células Ma104 tratadas com bioterápico.

Metodologia: O bioterápico foi preparado de acordo com a técnica Roberto Costa e o protocolo descrito na Farmacopéia Homeopática Brasileira [2]. 1 mL de solução aquosa contendo 10⁸ leveduras viáveis de *Candida albicans* mais 9 mL de água destilada estéril foram submetidos a 100 sucussões mecânicas para obtenção do bioterápico 1X. O bioterápico 2X foi obtido após adição de 1 mL da solução 1X em 9 mL de água destilada estéril e também submetido a 100 sucussões mecânicas. Este procedimento foi repetido até obtenção do bioterápico 30X. Como controle, foi utilizada água dinamizada estéril (30X). A inibição do crescimento fúngico induzida pelo bioterápico foi avaliada por MTT após 24 horas de tratamento. Os aspectos morfológicos de células Ma104 tratados com bioterápico foram avaliados por coloração de Giemsa após 5, 10 e 60 dias, e comparados com os controles (água 30X e células não tratadas). Adicionalmente, células Ma104 foram tratadas durante 5 e 30 dias com bioterápico em paralelo com os respectivos controles, e o índice de adesão das leveduras foi quantificado.

Resultados: O bioterápico não foi capaz de reduzir a viabilidade de *C. albicans* tratada quando comparada aos controles. Em contrapartida, células Ma104 tratadas apresentaram importantes alterações morfológicas após 60 dias como: vacúolos citoplasmáticos, halos ao redor do nucléolo e prolongamentos da membrana plasmática. Estas mudanças não foram observadas em células não tratadas nem naquelas tratadas com água 30X. O índice de adesão a células Ma104 foi reduzido em aproximadamente 27% após 5 e 30 dias de tratamento quando comparado aos controles.

Conclusão: Estes resultados mostraram que o bioterápico não apresentou citotoxicidade, mas foi capaz de modificar aspectos morfológicos de células Ma104. Adicionalmente, a interação entre células hospedeiras e o agente etiológico é diretamente influenciada pelo tratamento com bioterápico, sugerindo um potencial antifúngico promissor deste medicamento.

Palavras-chave: *Candida albicans*, bioterápico, toxidade, índice de adesão

Licensed to [GIRI](#)

Support: this study was partially funded by FAPERJ.

Conflict of interest: authors declare there is no conflict of interest

Correspondence author: Gleyce Moreno Barbosa, gleyce.moreno@gmail.com, <http://sites.google.com/site/labmcf>

How to cite this article Costa BGB, Siqueira CM, Barbosa GM, Veiga VF, Portela MB, Soares RMA, Hoalndino C. Treatment with *Candida albicans* biotherapic influences *in vitro* fungal adhesion to Ma-104 cells. Int J High Dilution Res [online]. 2011 [cited YYYY Month dd]; 10(36): 152-154. Proceedings of the XXV GIRI Symposium and VIII CBFH; 2011 Sep 04-07; Foz do Iguaçu (Brazil). GIRI and ABFH; 2011; Available from: <http://www.feg.unesp.br/~ojs/index.php/ijhdr/article/view/487/499>