

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

SUSCETIBILIDADE IN VITRO DA FASE FILAMENTOSA DO COMPLEXO SPOROTHRIX SCHENCKII FRENTE AO ITRACONAZOL, TERBINAFINA E ANFOTERICINA B

Autores: SANCHOTENE, Karine Ortiz.;
KLAFKE, Gabriel Baracy.; Silva, Raiza Alves da.; BRANDOLT, Tchana Martinez.;
OLIVEIRA, Ana Luísa Santos de.
Orientadora: XAVIER, Melissa Orzechowski.
kasanch@ig.com.br

Evento: Mostra de Produção Universitária
Área do conhecimento: Ciências da Saúde

Palavras-chave: esporotricose; antifungograma; susceptibilidade.

1 INTRODUÇÃO

A esporotricose causada pela inoculação do fungo dimórfico do complexo *Sporothrix schenckii*, é a micose subcutânea de maior frequência na América do Sul. Considerando que casos de falha terapêutica bem como de resistência fúngica aos antifúngicos de uso rotineiro tem sido descritos na literatura, o trabalho teve como objetivo a atividade a atividade *in vitro* da terbinafina, itraconazol e anfotericina B frente a isolados do complexo *S. schenckii* na fase filamentosa.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A esporotricose é uma infecção subaguda ou crônica caracterizada por lesões nodulares cutâneas e subcutâneas que afetam animais e seres humanos. O itraconazol é frequentemente considerado o antifúngico de eleição para o tratamento das diversas apresentações clínicas da esporotricose, e a anfotericina B é indicada para infecções severas ou quando o tratamento eletivo falha. O potencial terapêutico da terbinafina frente a uma grande variedade de infecções fúngicas tem sido demonstrado.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 43 isolados clínicos (36 de felinos, 03 de caninos e 04 de humanos) de *S. schenckii* para avaliação da susceptibilidade ao itraconazol, terbinafina e anfotericina B através da técnica da microdiluição em caldo de acordo com protocolo descrito no documento CLSI M38A2. Os inóculos foram obtidos a partir de colônias jovens incubadas em ágar PDA à 30°C por sete dias. Às colônias foram adicionados 1mL de solução salina estéril para preparo da suspensão fúngica através da raspagem das colônias com auxílio de ponteiros estéreis. Essa suspensão foi depositada em tubo estéril, sendo que após 5 minutos, período necessário para a sedimentação, o sobrenadante será transferido para outro tubo estéril e homogeneizado por 15 segundos em vórtex. As densidades ópticas das suspensões foram lidas e ajustadas para uma DO de 0,09 a 0,11 em filtro de 530 nm (transmitância de 80 a 82%) e em seguida foram diluída em RPMI (1:50) com tampão MPOS. Diluições de inóculo 1:50 corresponderam a 2X a concentração necessária para o teste ($0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 UFC/mL). O inóculo foi acrescido 0,1mL em todos os poços da placa. Foram realizadas nove diluições seriadas em DMSO, as quais foram acrescidas nas microplacas no sentido das colunas, em volume de 100µL, resultando em concentrações de 32 a 0,06 µg/mL de itraconazol e anfotericina B, e de 4 a 0,015 µg/mL de terbinafina. Uma coluna da microplaca foi utilizada como controle positivo, preenchida somente com o meio RPMI1640 e inóculo fúngico e outra coluna como controle negativo/esterilidade contendo somente o meio RPMI1640. Os testes foram realizados em duplicata para cada isolado

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

fúngico.

Para a avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) utilizando a fase filamentosa do complexo *S. schenckii*, as placas foram incubadas à 25°C por um período de três dias. A leitura dos resultados foi realizada visualmente, e a CIM corresponderá a menor concentração do antifúngico capaz de inibir 100% dos antifúngicos em relação ao controle positivo.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A CIM para a terbinafina verificada entre todos os isolados dos casos de esporotricose felina variaram de 0,125µg/mL a 4,0µg/mL, enquanto que para isolados caninos observaram-se CIM entre 0,125µg/mL a 1,0µg/mL e humanos entre 0,5µg/mL a 4,0µg/mL. Em relação ao itraconazol, a CIM frente a isolados de esporotricose felina foi de 0,125µg/mL a 8,0µg/mL, já para amostras caninas verificaram-se CIM de 0,5µg/mL a 4,0µg/mL, no entanto, para amostras humanas foi de 1,0µg/mL a 32,0µg/mL. Enquanto, para a anfotericina B, a CIM observada foi de 1,0µg/mL a 8,0µg/mL para isolados felinos, CIM de 2,0µg/mL a 4,0µg/mL para amostras caninas e humanas.

Foi observado, neste trabalho, uma amplitude entre os valores da CIM tanto para o itraconazol como para a terbinafina frente aos isolados de *S. schenckii*, dados estes semelhantes aos já descritos na literatura.

O tratamento da esporotricose é realizado, geralmente, com itraconazol, sendo este considerado, atualmente, o medicamento de eleição para as formas cutâneas e linfocutâneas da micose em seres humanos. Porém, devido ao seu uso indiscriminado, têm sido frequentes os relatos de isolados resistentes ao fármaco, levando, conseqüentemente, a falhas terapêuticas e remissão da micose tanto nos animais como humanos.

A terbinafina demonstrou em vários estudos *in vitro* ação primária fungicida frente a fungos dimórficos, incluindo *S. schenckii*, não demonstrando problemas de resistência frente ao agente, além de efeitos tóxicos reduzidos quando comparado ao itraconazol. Semelhantes a outros estudos, a terbinafina e a anfotericina B apresentaram CIM menor ou igual aos antifúngicos recomendados para o tratamento da esporotricose.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *S. schenckii* demonstrou resistência *in vitro* frente ao itraconazol e intensa suscetibilidade para a terbinafina e anfotericina B, o que impulsiona a necessidade de maiores estudos que consigam determinar a suscetibilidade dos isolados clínicos de fungos do complexo *S. schenckii* frente aos antifúngicos mais utilizados.

REFERÊNCIAS

BARROS, M. B. L.; PAES, R.A.; SCHUBACH, A.O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.24, n.4, p. 633 -654.2011.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A.O.; OLIVEIRA, R.V.C.; MARTINS, E.B.; TEIXEIRA, J.L.; WANKE, B. Treatment of cutaneous Sporotrichosis with itraconazole-study of 645 patients. **Clinical Infectious Diseases Journal**, Oxford, v.52, n.12, p. 200 -206.2011.

RAMÍREZ, E.A; RODRÍGUEZ, J.M.T. In vitro susceptibility of *Sporothrix schenckii* to six antifungal agents determined using three different methods. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v.51, n.7, p. 2420 -2423.2007.

TRILLES, L.; FERNÁNDEZ-TORRES, B.; LAZÉRA, M.S.; WANKE, B.; SCHUBACH, A.O.; PAES, R.A.; INZA, I.; GUARRO, J. In vitro antifungal susceptibilities of *Sporothrix schenckii* in two growth phases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v.49, n.9, p. 3952-3954.2005.