

SUSCETIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DE *CANDIDA* SPP. ISOLADAS DA MUCOSA ORAL E DE SECREÇÃO VULVOVAGINAL



Camargo G. S.^{1,*}; Pereira D.¹; Vaz C. B.¹; Faria A. G.¹; Fogaça R.¹; Fuentefria A. M.^{1,2}

¹Grupo de Pesquisa em Micologia Aplicada (GPMA), Faculdade de Farmácia, UFRGS.

²Professor do Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, coordenador do Grupo de Pesquisa em Micologia;



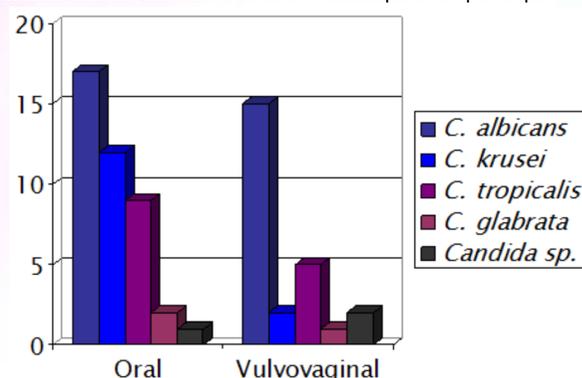
INTRODUÇÃO

As candidíases vulvovaginal e oral são consideradas as duas formas mais comuns de infecção fúngica oportunista e vêm se tornando cada vez mais recorrente principalmente em virtude da emergência de novas espécies. Numerosos estudos indicavam que *C. albicans* era mais frequente do que as espécies não *albicans*, respondendo por 80% a 90% dos casos. Entretanto, nos últimos anos, tem-se observado um aumento expressivo na frequência das espécies não *albicans*, principalmente *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. guilliermondi*, indicando uma tendência de mudança na etiologia da candidíase após décadas de predomínio de *C. albicans*. As diferentes espécies de *Candida* possuem níveis de susceptibilidade aos antifúngicos diferentes o que torna a identificação ao nível de espécie e a realização dos testes de susceptibilidade aos antifúngicos fundamentais para o sucesso do tratamento de infecções causadas pelo gênero.

OBJETIVOS

O objetivo do estudo foi determinar o perfil de susceptibilidade de 66 isolados clínicos de *Candida spp.* vulvovaginal e oral aos antifúngicos fluconazol (FLU), nistatina (NIT) e itraconazol (ITR).

Gráfico 1. Número de isolados clínicos separados por espécies



MATERIAL E MÉTODOS

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) foram determinadas pelo método de microdiluição realizadas de acordo com M27-A3 (CLSI - *Clinical Laboratory Standards Institute*). As concentrações testadas para NIT foram de 0,5–256 µg/mL, sendo que para FLU e ITR suas concentrações são determinadas pela CLSI.

O teste de microdiluição é realizado em placas de microdiluição estéreis, descartáveis, com múltiplos poços (96 poços em formato de U) com RPMI 1640. As concentrações 2X da droga são dispensadas nos poços das fileiras 1 a 10 das placas de microdiluição, em volumes de 100µL, com uma pipeta multicanal. A fileira 1 deverá conter a maior concentração da droga (64 ou 16µg/mL) e a fileira 10 a menor concentração da droga (0,12 ou 0,03µg/mL). Cada poço da placa de microdiluição é inoculado com 100µL da correspondente suspensão 2X concentrada do inóculo, o que leva às diluições das drogas e à concentração do inóculo antes mencionados. Os poços controle de crescimento contêm 100µL de

meio estéril, isento de droga, e são inoculados com 100µL das suspensões 2X concentradas dos inóculos. As placas de microdiluição são incubadas a 35° C, observando presença ou ausência de crescimento visível. Os poços de microdiluição recebem uma pontuação (score) e o crescimento em cada poço é comparado com o do poço controle do crescimento (isento de droga).

Os isolados provenientes de pacientes de ortodontia com sinais clínicos sugestivos de candidíase oral, estudantes universitários e pacientes atendidos nos postos de saúde de Porto Alegre foram semeados em Ágar Saboraud por 48 hr à 32°C. O inóculo foi preparado escolhendo-se cinco colônias com diâmetro de ~1mm de cultura de 24 horas que são suspensas em 5mL de solução salina estéril 0,145 mol/L (8,5g/L NaCl; salina a 0,85%) ou mais até obter a transmitância equivalente de uma solução-padrão da escala de McFarland 0,5. Foram utilizadas *C.krusei* ATCC6258 e *C.parapsilosis* ATCC22019 como controles.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variação de CIM (µg/mL) obtida foi de 0,125–4 para FLU, 0,5–8 para NIT e 0,03–0,5 para ITR (Tabela 1.).

Avaliando separadamente a susceptibilidade dos isolados de *C. albicans* e *C. não-albicans* observou-se diferença apenas para ITR com valores máximos de CIM no mínimo 2 diluições maiores nas *C. não-albicans* de ambos os grupos de isolados.

Ao comparar os resultados obtidos para *C. Albicans*, os isolados da cavidade oral foram bastante sensíveis ao FLU enquanto os isolados da secreção vulvovaginal se mostraram mais sensíveis à NIT. Os resultados obtidos com ITR foram bastante semelhantes independente de espécie, inibiu todos os isolados com baixa concentração demonstrando ser muito efetivo.

De acordo com os critérios do CLSI todos os isolados foram sensíveis ao FLU, já para o ITR 60 isolados (94%) foram sensíveis e 4 isolados (6%) possuem perfil de sensibilidade dose dependente. Esse resultado demonstra um perfil distinto da prevalência esperada, visto que o ITR é uma droga de maior espectro de ação.

Tabela 1. Resultados de MIC (Concentração Inibitória Mínima) dos isolados clínicos de *Candida* vulvovaginal e oral.

<i>Candida</i>	Espécie	Nº	Antifúngico	MIC (mg/L)		
				Faixa	MIC 50	MIC 90
Oral	<i>C. albicans</i>	17	FLU	0,125 – 0,5	0,125	0,25
			NIT	0,5 – 8	4	8
			ITR	0,03	0,03	0,03
<i>C. não-albicans</i>	24	FLU	0,125 – 0,5	0,125	0,5	
		NIT	1 – 8	4	8	
		ITR	0,03	0,03	0,03	
Vulvovaginal	<i>C. albicans</i>	15	FLU	0,125 – 4	0,5	1
			NIT	0,5 – 2	0,5	1
			ITR	0,03 – 0,125	0,03	0,125
<i>C. não-albicans</i>	10	FLU	0,125 – 4	0,5	2	
		NIT	0,5 – 2	0,5	2	
		ITR	0,03 – 0,5	0,03	0,25	

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram baixa prevalência de resistência à FLU e ITR entre os isolados de *Candida spp.*, fato importante devido a resistência intrínseca ao fluconazol apresentado por espécies de *C. krusei* e *C. glabrata* e da resistência adquirida por outras espécies de *Candida*.

REFERÊNCIAS

- Almeida LMM, Souza EAF, Bianchin DB, Svidzinski TIE. Resposta *in vitro* de fungos agentes de micoses cutâneas frente aos antifúngicos sistêmicos mais utilizados na dermatologia. An Bras Dermatol. 2009;84(3):249–55.
- Clinical Laboratory Standards Institute 2003. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 3rd ed. CLSI document M27-A3. Clinical Laboratory Standards Institute, Vilanova, Pa.
- FERRAZZA, Magda Helena S. H. et al. Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, fev. 2005.