

# ALTERAÇÃO DA RESPOSTA A ANTIFÚNGICOS EM AGENTES DA CROMOBLASTOMICOSE MEDIADA PELA INIBIÇÃO DA BIOSÍNTESE DE MELANINA

Alessandra Helena da Silva Hellwig<sup>1</sup>, Maria Lúcia Scroferneker<sup>1, 2</sup>



<sup>1</sup> Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.  
<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



paz no plural

## INTRODUÇÃO

## OBJETIVO

Cromoblastomicose é causada por vários gêneros de fungos dematiáceos<sup>1</sup>. Esses agentes possuem a melanina dihidroxinaftaleno (DHN), sendo triciclazol (5-methyl-1,2,4-triazol[3,4] benzothiazole) um inibidor de sua biossíntese<sup>2</sup>. Melanina DHN de *Madurella mycetomatis* apresentou efeito protetor contra antifúngicos<sup>3</sup>.

Avaliar a correlação entre melanina e resposta *in vitro* a antifúngicos em agentes da cromoblastomicose.

## METODOLOGIA

### 69 isolados clínicos:

- 51 do gênero *Fonsecaea*:
  - 41 *F. pedrosoi*;
  - 8 *F. monophora*;
  - 1 *F. nubica*;
  - 1 *F. pugnacius*;
- 4 do gênero *Cladophialophora*:
  - 3 *C. carrionii*;
  - 1 *C. bantiana*;
- 7 do gênero *Phialophora*:
  - 5 *P. americana*;
  - 2 *P. verrucosa*;
- 5 do gênero *Exophiala*:
  - 3 *E. spinifera*
  - 2 *E. xenobiotica*;
- 2 do gênero *Rhinochadiella*:
  - 1 *R. aquaspersa*
  - 1 *Rhinochadiella* sp.

Inoculados em meio Ágar Batata Dextrosado (com e sem adição de 16µg/mL de triciclazol)



30°C por 14 dias

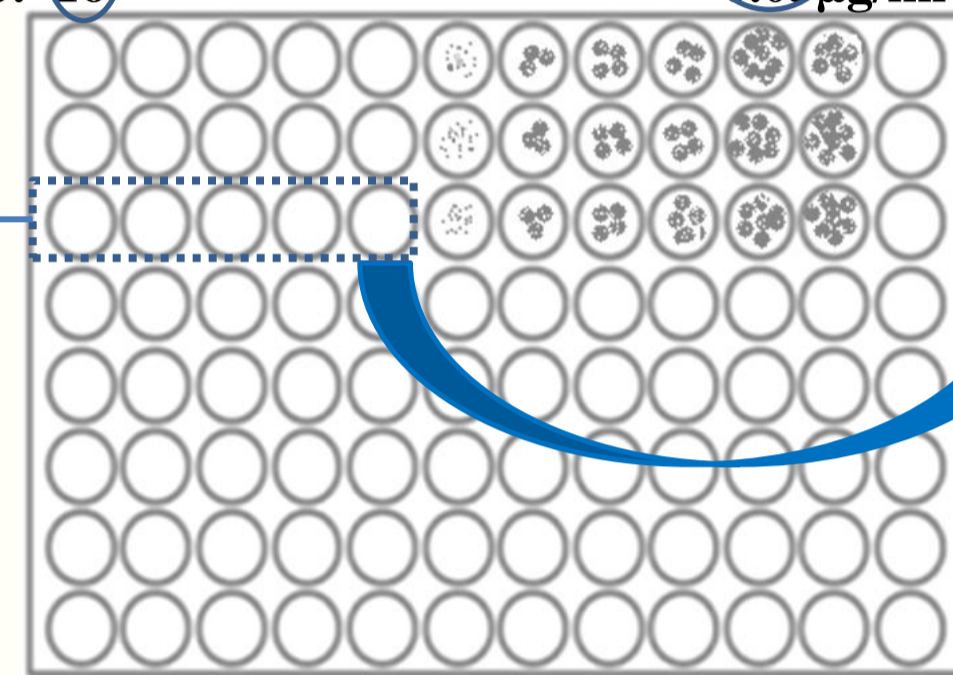
Suspensões de esporos contadas em Câmara de Neubauer



Diluição em RPMI com e sem triciclazol.

Concentração final no teste de 1.5 – 4 x10<sup>4</sup> conídios/mL

Poços: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12  
Concentração antifúngica: 16-----0,03µg/ml



**Poço 11:** controle de crescimento  
**Poço 12:** controle de esterilidade  
35°C – 5 dias

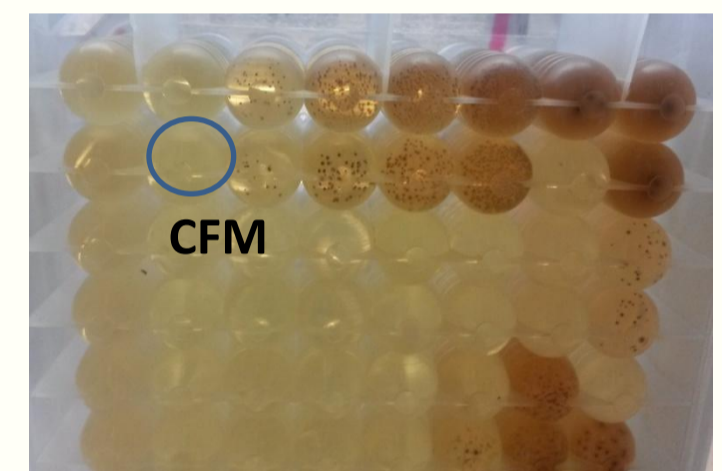
**Concentrações inibitórias mínimas (CIMs):**  
Avaliadas pelo método de microdiluição (Protocolo M38-A2 do CLSI)

**Concentrações fungicidas mínimas (CFMs):**  
Determinadas em meio caldo Sabouraud a partir das concentrações superiores às CIMs obtidas.

Os testes CIMs e CFMs foram realizados em meios com e sem acréscimo de triciclazol em triplicata e duplicata, respectivamente.

**Antifúngicos utilizados:**  
Itraconazol  
Cetoconazol  
Posaconazol  
Voriconazol  
Terbinafina  
Anfotericina B

30°C – 14 dias



A fim de verificar a influência da melanina em cada espécie de agente da cromoblastomicose, os dados foram analisados através do teste de Wilcoxon pelo programa *Statistical Package for Social Sciences*, versão 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

## RESULTADOS

**Tabela 1.** Medianas gerais das espécies nas formas não melanizadas e melanizadas referente ao CIM e CFM apresentados

Espécies	CIM (µg/mL)		CFM (µg/mL)	
	Não melanizadas	Melanizadas	Não melanizadas	Melanizadas
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	0,25	0,5	4	4
<i>Fonsecaea monophora</i>	0,25	0,25	6	16
<i>Fonsecaea nubica</i> *	0,25	0,19	> 16	16
<i>Fonsecaea pugnacius</i> *	0,25	0,31	6	>16
<i>Cladophialophora carrionii</i> **	0,25	0,37	6	12
<i>Cladophialophora bantiana</i> *	1,5	1	> 16	>16
<i>Phialophora verrucosa</i> **	0,12	0,37	3	6
<i>Phialophora americana</i> **	0,5	0,75	>16	>16
<i>Exophiala spinifera</i> **	1	1	> 16	>16
<i>Exophiala xenobiotica</i> **	0,25	1	6	>16
<i>Rhinochadiella aquaspersa</i> *	1	1,5	>16	>16
<i>Rhinochadiella</i> sp. *	0,37	0,5	3	3

\* Não foi possível realizar teste estatístico devido ao baixo n (n=1) em cada espécie

\*\* p>0,05 nas análises pareadas (com e sem triciclazol) para todos os antifúngicos para cada espécie.

**Tabela 2.** Mediana (mínimo-máximo) de *Fonsecaea pedrosoi* e *Fonsecaea monophora* (não melanizada e melanizada) referente ao CIM e CFM apresentados de acordo com os antifúngicos utilizados e suas respectivas medianas (mínimo-máximo)

Antifúngicos	<i>Fonsecaea pedrosoi</i>				<i>Fonsecaea monophora</i>			
	CIM (µg/mL)		CFM (µg/mL)		CIM (µg/mL)		CFM (µg/mL)	
	Não melanizadas	Melanizadas	Não melanizadas	Melanizadas	Não melanizadas	Melanizadas	Não melanizadas	Melanizadas
<b>Itraconazol</b>	0,5 (0,03-2)	0,5 (0,125- >16)	16 (0,125- >16)	>16 (0,25- >16)	0,375 (0,03-1)	0,75 (0,06-1)	8 (2- >16)	>16 (16- >16)
<b>Cetoconazol</b>	0,25 (0,03-2)	0,25 (0,06-8)	4 (0,03- >16)	4 (0,125- >16)	0,125 (0,06-2)	0,25 (0,125-1)	4 (0,5-16)	8 (2-16)
<b>Posaconazol</b>	0,25 (0,03-1)	0,25 (0,03-1)	2 (0,03- >16)	4 (0,06- >16)	0,155 (0,03-0,25)	0,5 (0,125-2)	2 (0,25-8)	4 (1-16)
<b>Voriconazol</b>	0,25 (0,06-1)	0,125 (0,06-1)	4 (0,25- >16)	8 (0,06- >16)	0,25 (0,125-0,25)	0,125 (0,125-0,25)	6 (0,5-16)	12 (1-16)
<b>Terbinafina</b>	0,03 (0,03-1)	0,125 (0,03-1)	2 (0,03- >16)	2 (0,06- >16)	0,045 (0,03-0,06)	0,06 (0,03-0,25)	2,12 (0,125- >16)	10 (0,25- >16)
<b>Anfotericina B</b>	4 (2-16)	4 (1-16)	>16 (4- >16)	16 (2- >16)	3 (2-8)	8 (1-8)	24 (8- >16)	>16 (1- >16)
<b>Mediana geral</b>	0,25 (0,03-16)	0,5 (0,03- >16)	4 (0,03- >16)	4 (0,06- >16)	0,25 (0,03-8)	0,25 (0,03-8)	6 (0,125- >16)	16(0,25- >16)

☐ : análises estatísticas por antifúngico apresentaram diferença entre melanizadas e não-melanizadas (p < 0,05).

Em geral, são observadas maiores CIMs e CFMs nas espécies melanizadas em comparação com as não melanizadas quando avaliada amostra por amostra e pode ser observada nas pelas medianas gerais (obtidas analisando todos os 6 antifúngicos) mostradas na **tabela 1**. Porém, as análises estatísticas por antifúngico que apresentaram diferença estatística entre melanizadas e não-melanizadas em relação ao CIM foram:

- itraconazol para *F. pedrosoi*;
- terbinafina para *F. pedrosoi*;
- posaconazol para *F. monophora*.

*F. pedrosoi* e *F. monophora* apresentaram maior CFM de itraconazol nas amostras melanizadas comparadas às não melanizadas (**Tabela 2**).

## CONCLUSÃO

## REFERÊNCIAS

Na presença do inibidor de melanina, os antifúngicos itraconazol e terbinafina foram mais eficazes contra *F. pedrosoi* e posaconazol foi mais eficaz contra *F. monophora*, indicando que a melanina diminui a sensibilidade de *Fonsecaea* spp. a antifúngicos.

<sup>1</sup>Queiroz-Telles F, Esterre P, Perez-Blanco M, Vitale RG, Salgado CG, Bonifaz A. Chromoblastomycosis: an overview of clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Medical Mycology*. 2009; 47(1): 3 - 15.

<sup>2</sup>Sun J, Zhang J, Najafzadeh MJ, Badali H, Li X, Xi L, de Hoog GS. Melanization of a Meristematic Mutant of *Fonsecaea monophora* Increases Tolerance to Stress Factors While no Effects on Antifungal Susceptibility. *Mycopathologia*. 2011; 172: 373-380.

<sup>3</sup>Van de Sande WWJ, de Kat J, Coppens J, Abdalla OAA, Fahal A, Verbrugh H, van Belkum A. Melanin biosynthesis in *Madurella mycetomatis* and its effect on susceptibility to itraconazole and ketoconazole. *Microbes and Infection*. 2007; 9: 1114-1123.