

PERFIL DE SENSIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *Sporothrix schenckii* ORIUNDOS DE QUATRO ESTADOS BRASILEIROS

Cheila Denise Ottonelli Stopiglia^{1,2}; Daiane Heidrich²; Fabiane Jamono Vieira²; Cibele Massotti Magagnin²; Julia Medeiros Sorrentino²; Maria Lúcia Scroferneker^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. E-mail: cheila.dos@gmail.com; ²Laboratório de Fungos Patogênicos Humanos, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. E-mail: scrofern@ufrgs.br

Resumo – Setenta e cinco isolados de *S. schenckii*, oriundos de quatro estados brasileiros (Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul) foram avaliados *in vitro* frente a cinco agentes antifúngicos, utilizando um método de microdiluição de referência. Em geral, a terbinafina foi o fármaco mais ativo, seguida de cetoconazol e itraconazol. Houveram diferenças no perfil de sensibilidade dos isolados de diferentes origens geográficas para os antifúngicos cetoconazol e itraconazol.

Palavras-chave: *Sporothrix schenckii*; atividade antifúngica; concentração inibitória mínima.

Introdução

Sporothrix schenckii, agora considerado como um complexo (MARIMON et al., 2007), é um fungo patogênico dimórfico e agente etiológico da esporotricose humana e animal. A esporotricose predomina nas zonas tropicais e temperadas, sendo a micose subcutânea de maior incidência no estado do Rio Grande do Sul (DA ROSA et al., 2005).

O tratamento de escolha na esporotricose enquanto lesão cutânea é a quimioterapia sistêmica com iodeto de potássio ou de sódio (COSKUN et al., 2004). Nas formas cutâneas disseminadas, linfocutâneas recidivantes e extracutâneas, a anfotericina B é o fármaco mais efetivo. Porém, a frequência de intolerância ao iodo e a alta toxicidade da anfotericina B, muitas vezes, representam fatores impeditivos ao seu uso (STERLING & HEYMANN, 2000). Nas últimas décadas aumentou o emprego de derivados azólicos, dentre eles cetoconazol, itraconazol e fluconazol como alternativa terapêutica aos esquemas clássicos, sendo o itraconazol o mais efetivo deles (MEINERZ et al., 2007). Por outro lado, a terbinafina, em virtude da sua ótima atividade *in vitro* e *in vivo* está sendo usada para diversas infecções fúngicas (KOHLENER et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de suscetibilidade *in vitro* de isolados clínicos de *Sporothrix schenckii* de diferentes regiões do Brasil frente aos antifúngicos itraconazol, cetoconazol, fluconazol, anfotericina e terbinafina.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 75 isolados clínicos de *S. schenckii* oriundos de quatro estados brasileiros (Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro).

O ensaio de sensibilidade a antifúngicos foi desenvolvido segundo a técnica de microdiluição em caldo, através do protocolo M38-A do *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI (2002). Utilizaram-se cinco antifúngicos disponíveis comercialmente para o

tratamento da esporotricose, citando: cetoconazol, fluconazol, itraconazol, terbinafina, anfotericina. A solução estoque dos antifúngicos foi preparada em dimetilsulfóxido e posteriormente, foram realizadas diluições no meio RPMI 1640 tamponado a pH 7,0 com 165 mM de ácido morfolinopropanosulfônico (MOPS), para obter concentrações de 0,25 a 128 µg/ml para fluconazol e de 0,03 a 16 µg/ml para os demais antifúngicos.

A suspensão de esporos de cada cultura foi ajustada em espectrofotômetro e, posteriormente, o inóculo foi diluído na proporção 1:50 em caldo RPMI-MOPS. O ensaio foi realizado em placas estéreis de 96 poços com fundo em U, onde foram adicionados 100µl de cada concentração do antifúngico a ser testado. Posteriormente, inoculou-se alíquotas de 100µl da diluição 1:50 do inóculo em cada um dos poços. A concentração final de microrganismos atingida foi de 5×10^3 a 5×10^4 UFC/ml. Foram incluídos nesses ensaios um controle livre de antifúngico (controle de crescimento) e um controle livre de microrganismo (controle de esterilidade). As placas foram incubadas a 35°C por 3 dias.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada visualmente por comparação com o crescimento do controle livre de fármaco. A CIM foi definida como a menor concentração de fármaco capaz de inibir totalmente o crescimento fúngico para itraconazol e terbinafina e 50% do crescimento para os demais antifúngicos.

Resultados e Discussão

Terbinafina foi o antifúngico mais ativo, mostrando média geométrica (MG) de 0,06 µg/ml para todos os isolados analisados, seguido pelo cetoconazol, com MG 0,11 µg/ml. No entanto, este antifúngico apresentou maiores valores de CIM para isolados de Minas Gerais (MG 0,23 µg/ml). Neste estudo, 96% dos isolados de *S. schenckii* foram sensíveis ao itraconazol, apresentando CIM de até 0,5 µg/ml. Os isolados de Minas Gerais e Rio de Janeiro apresentaram maiores MG 0,47 e 0,34 µg/ml, respectivamente, sendo que os isolados do Rio Grande do Sul e São Paulo apresentaram MG de 0,19 e 0,24 µg/ml, respectivamente. A elevada sensibilidade de *S. schenckii* frente a terbinafina e ao itraconazol observada neste estudo está de acordo com estudos de isolados de outros países (MCGINNIS et al., 2001; SILVEIRA et al., 2009). A anfotericina apresentou MG de 1,20 µg/ml e não houveram variações entre os isolados de diferentes estados. Já o fluconazol, não foi ativo contra quaisquer um dos isolados testados, como já havia sido demonstrado por outros autores (TRILLES et al., 2005; MARIMON et al., 2008).

Conclusões

Nossos resultados sugerem que algumas diferenças podem existir no perfil de suscetibilidade a antifúngicos (cetoconazol e itraconazol), de acordo com a origem geográfica dos isolados. Estudos de tipagem molecular estão sendo desenvolvidos para investigar se há diferenças genotípicas e se as diferentes espécies do complexo *S. schenckii* são importantes para confirmar estes resultados. Além disso, os resultados deste estudo apóiam o uso terapêutico da terbinafina como uma primeira opção para o tratamento da esporotricose.

Apoio

Os autores são gratos a Capes, CNPq e FAPERGS.

Referências

MARIMON, R.; CANO, J.; GENÉ, J.; SUTTON, D. A.; KAWASAKI, M.; GUARRO, J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 10, p. 3198–206, ago. 2007.

DA ROSA, A.C.; SCROFERNEKER, M.L.; VETTORATO, R.; GERVINI, R. L.; VETTORATO, G.; WEBER, A. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 52, p.451-9, mar. 2005.

COSKUN, B.; SARAL, Y.; AKPOLAT, N.; ATASEVEN, A.; CICEK, D. Sporotrichosis successfully treated with terbinafine and potassium iodide: case report and review of the literature. **Mycopathologia**, v. 158, p. 53-56, jul. 2004.

STERLING, J.B.; HEYMANN, W.R. Potassium iodide in dermatology: a 19th century drug for the 21st century – Uses, pharmacology, adverse effects, and contraindications. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 43, n. 4, p. 691-7, out. 2000.

MEINERZ, A.R.M.; NASCENTE, P.S.; SCHUCH, L.F.D.; CLEFF, M. B.; SANTIN, R.; BRUM, C. S.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Suscetibilidade *in vitro* de isolados de *Sporothrix schenckii* frente à terbinafina e itraconazol. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n.1, p. 60-2, 2007.

KOHLER, L.M.; SOARES, B.M.; SANTOS, D.A.; BARROS, M.E.S.; HAMDAN, J.S. *In vitro* susceptibilities of isolates of *Sporothrix schenckii* to amphotericin B, itraconazole, and terbinafine: comparison of yeast and mycelial forms. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 843-7, 2006.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2002). *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi, Approved Standard*. CLSI, Vilanova, pp. 221–27.

MCGINNIS, M. R.; NORDOFF, N.; LI, R. K.; PASARELL, L.; WARNOCK, D. W. *Sporothrix schenckii* sensitivity to voriconazole, itraconazole and amphotericin B. **Medical Mycology**, v. 39, n. 4, p. 369–71, ago. 2001.

SILVEIRA, C.P.; TORRES-RODRÍGUEZ, J.M.; ALVARADO-RAMÍREZ, E.; MURCIANO-GONZALO, F.; DOLANDE, M.; PANIZO, M.; REVIKINA, V. MICs and minimum fungicidal concentrations of amphotericin B, itraconazole, posaconazole and terbinafine in *Sporothrix schenckii*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, n. 12, p. 1607-10, ago 2009.

TRILLES, L.; FERNÁNDEZ-TORRES, B.; DOS SANTOS M. L.; WANKE, B.; DE OLIVEIRA, A. S.; DE ALMEIDA, R. P.; INZA, I.; GUARRO, J. *In vitro* antifungal susceptibilities of *Sporothrix schenckii* in two growth phases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n.9, p. 3952-4, set. 2005.

MARIMON, R.; SERENA, C.; GENÉ, J.; CANO, J.; GUARRO, J. *In vitro* susceptibilities of five species of *Sporothrix*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 52, n.2, p. 732–4, fev. 2008.