XV CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
VIII Encontro de Pós-Graduação
www.ufpel.tche.br/xvcic
XVcic VIII ENPOS UFPEL2006

ATIVIDADE *IN VITRO* DA TERBINAFINA E ITRACONAZOL FRENTE O *SPOROTHRIX SCHENCKII*

BRUM, Cristiane[1]; MEINERZ, Ana Raquel[2]; ALBANO, Ana Paula[1]; FONSECA, Anelise[1]; CLEFF, Marlete[2]; XAVIER, Melissa[3]; MADRID, Isabel[3]; MELLO,João Roberto[4]; MEIRELES, Mário Carlos[5]

[1]Acadêmico Medicina Veterinária/UFPel; [2]Doutorando Programa de Pós-graduação-UFRGS; [3] Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Veterinária-UFPel; [4] Programa de Pós-Graduação-UFGRS; [5] Departamento de Veterinária Preventiva-UFPel. Campus Universitário s/n°-Caixa Postal 354 CEP 96010-900. Krika.vet_ufpel@ibest.com.br

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose, micose subcutânea causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix schenckii,* acomete várias espécies animais, especialmente o felino doméstico, espécie freqüentemente envolvida nos casos zoonóticos da micose. O homem pode ser contaminado através da arranhadura, mordedura ou pela contaminação por solução de continuidade cutânea pré-existente de felinos enfermos. A transmissão é facilitada pela grande quantidade de células leveduriformes presentes nas lesões cutâneas dos felinos com esporotricose (Barros et al, 2004).

O tratamento da esporotricose é realizado principalmente com itraconazol, considerado atualmente o fármaco de eleição para as formas cutâneas e linfocutâneas da micose em humanos (Rochette et al, 2003). A terbinafina também está sendo utilizada, visto que, vários estudos *in vitro*, demonstram sua ação frente ao *S. schenckii* além de toxicidade reduzida em comparação ao itraconazol e de não apresentar resistência a este fármaco (Bustamante & Campos, 2004). Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a suscetibilidade do *S. schenckii* frente a terbinafina e itraconazol.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 10 isolados clínicos de *S. schenckii* (seis de felinos, três de humanos e um de cão), os quais foram mantidos em refrigeração à temperatura de 4º em tubos contendo Ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol acrescido de cicloheximida. Os isolados de *S. schenckii* foram estudados quanto à suscetibilidade frente ao itraconazol (Janssen Pharmaceutical) e terbinafina (Novartis Research Institute) através da técnica de microdiluição em caldo descrita no documento NCCLSM27-A2 adaptada para um fungo dimórfico (National Committee for Clinical Laboratory Standars, 1997). O inóculo fúngico foi preparado com a fase leveduriforme dos isolados de *S. schenckii*, onde primeiramente, as colônias foram ressuspendidas em tubos contendo solução salina estéril depois de homogeneizada em agitador e ajustada a turbidez em 0,5 da escala de MacFarland. Essa suspensão foi diluída em solução salina (diluição 1:50) homogeneizada em agitador e submetida à diluição em meio RPMI 1640 (diluição 1:20). O inóculo foi então distribuído no sentido das linhas das microplacas com noventa e seis orifícios em

volume de 100µL.

A partir da solução mãe dos fármacos terbinafina e itraconazol nas concentrações de 1600 µg/mL foram realizadas nove diluições seriadas em DMSO alcançando uma concentração final dos antifúngicos de 3 µg/mL. Essas concentrações foram diluídas á 1% cada em meio RPMI 1640 (GIBCO) estabelecendo concentrações com intervalos de 16 µg/mL a 0,03 µg/ml, as quais foram distribuídas em microplacas no sentido das colunas em volume de 100µL.

Os testes de suscetibilidade antifúngica foram realizados em duplicata, sendo uma coluna destinada para o controle positivo, preenchida com meio RPMI1640 e inoculo fúngico e outra referente ao controle negativo, contendo o meio RPMI1640. As microplacas foram incubadas à 35ºC por cinco dias, quando foi realizada a leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM). A CIM correspondeu a menor concentração do antifúngico capaz de produzir proeminente inibição do crescimento do *S. schenckii* quando comparado ao controle-positivo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A CIM para a terbinafina verificada entre todos os isolados dos casos de esporotricose felina variaram de 0,055µg/mL a 0,109µg/mL, enquanto que para os isolados de casos humanos e de cães resultaram em CIM de 0,055µg/mL. Em relação ao itraconazol, a CIM frente a isolados de esporotricose felina foi de 0,875 µg/ml a 1,75µg/mL, já para os casos de esporotricose humana os valores da CIM foram de 0,219µg/mL e para esporotricose canina a CIM foi de 1,75 µg/mL.

Tabela 1- CIM da terbinafina e itraconazol frente a isolados clínicos de *Sporothrix schenckii* através da técnica de microdiluição em caldo (MC)

Sporothrix schenckii	CIM (µg/mL) itraconazol	CIM (µg /mL) terbinafina
1*	0,875	0,109
2 *	0,875	0,109
3 *	0,219	0,055
4*	1,75	0,055
5 *	1,75	0,055
6*	1,75	0,055
7**	0,219	0,055
8**	0,219	0,055
9**	0,219	0,055
10***	1,75	0,055

*Isolado obtido de esporotricose felina
** Isolado obtido de esporotricose humana
***Isolado obtido de esporotricose canina

Outros estudos relacionados à suscetibilidade antifúngica do *S. schenckii* resultaram em boa atividade *in vitro* da terbinafina frente ao microrganismo, com valores da CIM menor ou igual aos antifúngicos recomendados para o tratamento da esporotricose (Kohler et al, 2004). Estudos clínicos obtiveram resposta terapêutica eficaz em pacientes humanos com as formas cutâneas e linfocutâneas da micose (Morishita et al, 2001). Em especial nos felinos, o uso da terbinafina associada ao iodeto de potássio resultou na rápida resolução da esporotricose, sendo que estudos

observaram maior atividade do fármaco em associação ao iodeto de potássio e aos azóis (Lima de Barros et al, 2001). Em relação ao itraconazol, estudos clínicos demonstraram boa atividade no tratamento da esporotricose tanto para as formas cutânea e cutânea-linfática da micose em humanos (Catalán & Monteiro, 2006).

Assim como na clínica médica, o itraconazol é a terapia antifúngica utilizada com maior freqüência na clínica veterinária, porém com eficácia discutida no tratamento da esporotricose felina, com relatos de fracassos terapêuticos nessa espécie animal (Schubach et al, 2004). No estudo foi observada amplitude entre os valores da CIM tanto para a terbinafina como para o itraconazol frente ao *S. schenckii*, coincidindo com outros autores que determinaram a suscetibilidade do agente frente a esses antifúngicos. É importante considerar que não existe padronização para as técnicas de antifungiorama frente aos fungos dimórficos, sendo que a dificuldade de avaliar testes de suscetibilidade para essa classe de fungos está na padronização do inóculo, quando utilizado a sua fase filamentosa ou ainda no lento crescimento do microrganismo em sua fase leveduriforme (Koç et al, 2001).

Quanto aos valores das CIMs para a terbinafina e itraconazol resultantes entre os diferentes isolados de *S. schenckii* foi observado valores mais altos entre os provenientes de esporotricose felina em relação aos isolados humanos. Estudos demonstraram que isolados do fungo obtidos a partir das formas disseminadas da esporotricose resultam em menor suscetibilidade ao itraconazol em comparação aos provenientes das formas localizadas (Trilles et al, 2005).

4. CONCLUSÃO

O *S. schenckii* demonstrou suscetibilidade *in vitro* frente ao itraconazol e intensa suscetibilidade para a terbinafina, o que impulsiona mais investigações, inclusive estudos *in vivo*, que confirmem a potencialidade terapêutica da terbinafina frente ao agente. O estudo também ressalta a necessidade da padronização dos testes de suscetibilidade para os fungos dimórficos.

5. REFERÊNCIAS

BARROS MBL, SCHUBACH AO, DO VALLE ACF, GALHARDO MCG, CONCEIÇÃO-SILVA F, SCHUBACH TMP, REIS RS, WANKE B, MARZOCHI KBF, CONCEIÇÃO MJ. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: Description of a series of cases. **Clinical Infectious Diseases Society of America** 38: 529-535, 2004.

BUSTAMANTE B, CAMPOS PE. Sporotrichosis: a forgotten disease in the drug research agenda. **Expert Rev. Anti Infect** 2: 85-94, 2004.

CATALÁN M, MONTEIRO JC. Antifúngicos sistêmicos. **Rev Iberoam Micol** 23: 39-49, 2006.

KOÇ NA, UKSAL U, OYMAK O. Case report. Successfully treated subcutaneous infection with *Sporothrix schenckii* in Tukey. **Mycoses** 44 : 330-333, 2001.

KOHLER LMM, MONTEIRO PCF, HAHN RC, HANDAM J S. *In vitro* susceptibilities of isolates of *Sporothrix schenckii* to itraconazole and terbinafine. **Journal of Clinical Microbiology** 42: 4319-4320, 2004.

LIMA DE BARROS MB, SCHUBACH TMP, GALHARDO MCG, SCHUBACH AO,

MONTEIRO PCF, REIS RS, ZANCOPÉ-OLIVEIRA RM, LAZÉRA MS, CUZZY-MAYA T, BLANCO TCM, MARZOCHI KBF, WANKE B, DO VALLE ACF. Sporotrichosis: na emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro 96: 777-779, 2001.

MORISHITA N, YAMAZAK K, NINOMIYA J, HAMAGUCHI T, SEI Y, TAKIUCHI, I. **A case of lymphocutaneous sporotrichosis.** Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 42:149-54, 2001.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARS. **Reference method for broth diluition antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standars M27**. National Committe for Clinical Laboratory Standars, Villanova, Pennsylvania, 1997.

ROCHETTE F, ENGELEN M, VANDEN BOSSCHEM H. Antifungal agents of use in animal health-pratical applications. **Journal Veterinary Farmacol** 26: 31-53, 2003.

SCHUBACH TMP, SCHUBACH AO, KAMOTO BARROS TMBL, FIGUEIREDO FB, CUZZI T, FIALHO-MONTEIRO PC, REIS RS, PEREZ MA. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association** 224: 1623-1629, 2004.

TRILLES L, FERNANDEZ TORRES B, LAZÉRA MS, WANKE B, SCHUBACH AO, PAES R, INZA I, GUARRO J. *In vitro* antifungal susceptibilities of *Sporothrix schenckii* in two growth phases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 9: 3952-3954, 2005.