

SUSCEPTIBILIDADE "IN VITRO" A DROGAS ANTIFÚNGICAS DE LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida* DE MULHERES PORTADORAS DE CANDIDÍASE VAGINAL*

Evandro Leão Ribeiro **, Débora Lemos Maldini Maia **, Maria do Rosário Rodrigues Silva ***

RESUMO

As amostras de *Candida*, previamente isoladas e identificadas da mucosa vaginal de mulheres portadoras de candidíase, foram submetidas ao teste de concentração inibitória mínima (CIM), frente às drogas anfotericina B, nistatina, cetoconazol e fluconazol; utilizando-se a técnica de diluição em ágar (TDA), a partir da diluição de 0,05 mg/ml até 100 mg/ml.

As 12 amostras de *Candida albicans* isoladas foram inibidas pela nistatina em concentração $\leq 6,25$ mg/ml e pela anfotericina B numa concentração $\leq 0,78$ mg/ml. Todas as amostras mostraram-se resistentes aos derivados azólicos.

Candida krusei, que foi identificada em 2 amostras, mostrou-se também resistente aos derivados azólicos e com CIM de 6,25 mg/ml para nistatina e de 0,78 mg/ml para anfotericina B.

UNITERMOS: Susceptibilidade "in vitro", candidíase vaginal, drogas antifúngicas

INTRODUÇÃO

Incidência alta e sintomatologia desagradável, associadas a processos de natureza mais grave, revestem de importância a candidíase vaginal. Alterações na flora

* Trabalho realizado no Laboratório de Micologia, Departamento de Microbiologia/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/Universidade Federal de Goiás. Rua Delenda Rezende de Melo s/n - Setor Universitário - 74605-050 - Goiânia - GO - Brasil.

** Mestrandos em Patologia Tropical - Microbiologia/IPTSP/UFG.

*** Professora do Deptº de Microbiologia/IPTSP/UFG.

Recebido para publicação em 16/11/94.

RIBEIRO,E.L.; MAIA,D.L.M.; SILVA.M.R.R. Susceptibilidade "in vitro" a Drogas Antifúngicas de Leveduras do Gênero *Candida* de Mulheres Portadoras de Candidíase vaginal. Rev.Pat.Trop.,23(2): 215-220, Jul./Dez.1994

bacteriana vaginal, no conteúdo em glicogênio da mucosa e no pH poderiam explicar a maior predisposição em propiciar a manifestação desta patologia^(9,13). Antibióticos poliênicos e derivados azólicos constituem agentes terapêuticos mais usualmente empregados a esta infecção vaginal fúngica, embora alguns autores relatem resistência "in vitro" por parte de leveduras do gênero *Candida* a estes agentes antifúngicos.^(4, 11)

Recidivas constantes e resistência aos tratamentos justificam a busca de novos estudos na melhor comprovação da terapia antifúngica empregada.^(1, 2, 7, 11, 13)

Determinar a susceptibilidade "in vitro" das leveduras do gênero *Candida* isoladas da mucosa vaginal de mulheres portadoras de candidíase frente à anfotericina B, nistatina, cetoconazol e fluconazol constitui o propósito deste trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras, submetidas a exame micológico, foram provenientes da mucosa vaginal de 60 mulheres com suspeita clínica de candidíase, atendidas na clínica ginecológica da Maternidade Nossa Senhora de Lourdes na cidade de Goiânia.

Os fungos isolados em ágar-Sabouraud mantidos à temperatura ambiente e as espécies de *Candida* foram identificadas segundo as técnicas usadas por KREEGER - VAN RIJ⁽⁸⁾.

Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi utilizada a técnica em meio de ágar semi-sólido, conforme HOLT modificada por CURY e cols.⁽⁴⁾, onde anfotericina B, nistatina, cetoconazol e fluconazol foram diluídos numa concentração de 0,05 a 100 mg/ml. O meio de base nitrogenado para levedura liqüefeito, com a respectiva concentração foi vertido na placa e após a sua solidificação era colocado 0,01 ml da suspensão de *Candida*, que foi preparada a partir do crescimento de 48h em ágar-Sabouraud, contendo aproximadamente 1×10^6 células/ml.

As placas eram deixadas à temperatura ambiente durante 24 h. A concentração inibitória mínima (CIM) foi verificada pela menor concentração do antibiótico capaz de inibir completamente o crescimento da levedura.

RESULTADOS

Das 60 amostras coletadas da mucosa vaginal de mulheres com sintomatologia clínica de candidíase foram identificadas 12 *Candida albicans* e 2 *Candida krusei*.

Todas as amostras de *Candida* mostraram-se sensíveis aos derivados poliênicos numa concentração igual a 6,25 mg/ml, no entanto mostraram-se resistentes

RIBEIRO,E.L.; MAIA,D.L.M.; SILVA.M.R.R. Susceptibilidade "in vitro" a Drogas Antifúngicas de Leveduras do Gênero *Candida* de Mulheres Portadoras de Candidíase vaginal. Rev.Pat.Trop.,23(2): 215-220, Jul./Dez.1994

aos derivados azólicos com uma concentração inibitória mínima (CIM) maior do que 100 mg/ml.

A susceptibilidade "in vitro" das amostras de *Candida albicans* e *Candida krusei* isoladas é exposta na tabela 1.

TABELA 1. Susceptibilidade "in vitro" de 12 amostras de *Candida albicans* e 2 *Candida krusei* provenientes da mucosa vaginal de mulheres com candidíase frente à anfotericina B e nistatina.

CIM mg/ml	>12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	<0.20
<i>C. albicans</i>							
anfotericina B (%)	-	-	-	-	33.3	41.7	25.0
nistatina (%)	-	75.0	25.0	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>							
anfotericina B (%)	-	-	-	-	50.0	50.0	-
nistatina (%)	-	50.0	50.0	-	-	-	-

DISCUSSÃO

Os testes de susceptibilidade "in vitro" empregados às espécies de *Candida*, em estudo, com a finalidade de determinação da concentração inibitória mínima (CIM), mostraram que os derivados poliênicos em relação aos azólicos, são mais eficazes. Anfotericina B e a nistatina, há várias décadas em uso, são mais sensíveis que o cetoconazol e o fluconazol de emprego mais recente na terapia da candidíase vaginal.

Trabalhos de ALVES e CURY,^(1, 4) feitos com os derivados poliênicos "in vitro", têm mostrado que as espécies de *Candida* são sensíveis à nistatina e anfotericina B, no entanto têm havido relatos de leveduras resistentes aos derivados poliênicos em pacientes com deficiência de imunidade^(5, 6).

Fluconazol "in vivo" tem-se mostrado eficaz. TIMONEN e cols.⁽¹⁴⁾ observaram a cura de 85% dos casos de candidíase vaginal dentro de uma semana de tratamento com fluconazol.

Em pacientes HIV positivos, portadores de lesões orais por *Candida*, os testes "in vitro" das espécies de *Candida* isoladas mostraram uma concentração inibitória mínima (CIM) igual a 20 mg/ml para cetoconazol em 56,1% dos casos verificados por BRUATTO e cols.⁽³⁾. Tem sido observado também resistência aos derivados azólicos

RIBEIRO,E.L.; MAIA,D.L.M.; SILVA.M.R.R. Susceptibilidade " in vitro " a Drogas Antifúngicas de Leveduras do Gênero *Candida* de Mulheres Portadoras de Candidíase vaginal. Rev.Pat.Trop.,23(2): 215-220, Jul./Dez.1994

para *Candida albicans* em pacientes com candidíase vaginal.⁽¹⁵⁾ Aspectos mutacionais de cepas fúngicas de *Candida albicans* têm sido associados como causas possíveis de resistência à ação terapêutica.⁽¹²⁾ MIKAME e cols.⁽¹⁰⁾ apontam a interação sinérgica de derivados azólicos a *Candida albicans*, mostrada em testes de susceptibilidade "in vitro", observando resultados promissores.

Tema de debates constantes, o estudo da susceptibilidade "in vitro" aos vários agentes antifúngicos, mediante técnicas padronizadas, favoreceria o uso em rotina laboratorial e serviria de importante papel na condução da terapia antifúngica.

SUMMARY

"In vitro" susceptibility to antifungal drugs of yeasts of the genus *Candida* isolated from women suffering vaginal candidosis.

The samples of *Candida*, previously isolated and identified from the vaginal mucous of carrier women of candidosis, were submitted of the minimum inhibitory concentration test (MIC), to the drugs amphotericin B, nystatin, ketoconazole and fluconazole; using agar dilution technic (ADT). Drug concentrations range from 100 mg/ml to 0,05 mg/ml.

These 12 samples of *Candida albicans* isolated were inhibited by nystatin in concentration £ 6,25 mg/ml and amphotericin B in concentration £ 0,78 mg/ml. All these samples indicated resistance to the azoles derivative.

Two samples were identified as *Candida krusei* which was also resistant azoles compounds and showed MIC of 6,25 mg/ml to nystatin and 0,78 mg/ml to amphotericin B.

KEYWORDS: "In vitro" susceptibility, vaginal candidosis, antifungal drugs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALVES, S.H. & CURY, A.E. Sensibilidade de leveduras do gênero *Candida*, isoladas de pacientes com câncer, a antifúngicos poliênicos. Rev. Inst. Med. Tropical. São Paulo, 34(3):251-254, 1992.
02. BAVA, A.J. & NEGRONI, R. Susceptibilidad "in vitro" de cepas de *Cryptococcus* a 5 drogas antifúngicas. Rev. Inst. Med. Tropical. São Paulo, 31(1):346-350, 1989.

RIBEIRO,E.L.; MAIA,D.L.M.; SILVA.M.R.R. Susceptibilidade " in vitro " a Drogas Antifúngicas de Leveduras do Gênero *Candida* de Mulheres Portadoras de Candidíase vaginal. Rev.Pat.Trop.,23(2): 215-220, Jul./Dez.1994

03. BRUATTO, M; MARINUZZI, G.; RAITERI, R. & SINICCO, A. Susceptibility to ketoconazole of *Candida albicans* strains from sequentially followed HIV-1 patients with recurrent oral candidosis. Mycoses, 35:53-56, 1992.
04. CURY, A.E.; MICHE, M.P. & MINANI, P.S. Leveduras isoladas de pacientes com câncer: incidência e sensibilidade a antibióticos poliênicos. Rev. Microb. São Paulo. 20(1):102-107, 1989.
05. DICK, J.D.; MERZ, W.G. & SARAL, R. Incidence of polyene resistant yeasts recovered from clinical specimens. Antimicrob. Agents Chemother, 18:158-163, 1980.
06. DRUTZ, D.J.Y. & LEHRER, R.I. Development of amphotericin B resistant *Candida tropicalis* in a patient with defective leukocyte function. Amer. J. Med. Sci. 276:77-92, 1978.
07. FASOLI, M.O.F.; KERRIDGE, D. & RYLEY, J.F. Pathogenicity of 5 - fluorocytosine resistant strains of *Candida albicans*. Journal of Medical and Veterinary Mycology, 28:27-34, 1990.
08. KREGER VAN RIJ, N. J. W. The yeast: a taxonomic study. Third edition. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1984.
09. LACAZ, C.S. Vulvovaginites por leveduras. In: Micologia Médica. Edit. Lacaz C.S. 5ª ed. Sarvier, São Paulo: 116:120, 1973.
10. MIKAMI, Y.; TAKAHASHI, A.; YAZAWA, K.; TERAOKA, K. & UENO, Y. Synergistic interaction of miconazole and fluconazole at sub-MIC level on *Candida albicans*. Mycoses, 35:321-327, 1992.
11. O'CONNOR, M. L. & SOBEL, J.D. Epidemiology of recurrent vulvovaginal candidiasis: identification and strain differentiation of *Candida albicans*. J. Infect. Dis., 154:358-363, 1986.
12. POLAK, A. Virulence of *Candida albicans* mutants. Mycoses 35:9-16, 1992.

13. QUEIROZ, J.L. de, & CYMBALISTA, N. B. Estudo clínico com ciclopirox - creme vaginal - na candidíase vulvovaginal. **Rev. Bras. Médica.** São Paulo, 37(9):479-484, 1980.
14. TIMONEN, H. Shorten treatment for vaginal candidosis: comparison between single-dose oral fluconazole and three-day treatment with local miconazole. **Mycoses**, 35:317-320, 1992.
15. WARNOCK, D.W.; JOHNSON, E.M.; RICHARDOON, M. D. & VICKERS, C.F.H. Modified response to ketoconazole of *Candida albicans* from a treatment failure. **Lancet**, 1:642-643, 1985.