
CANDIDÍASE VULVOVAGINAL: ASPECTOS CLÍNICOS, TRATAMENTO ORAL COM AZÓLICOS E SUSCETIBILIDADE *IN VITRO*

Milce Costa,¹ Orionalda de Fátima Lisboa Fernandes² e Maria do Rosário Rodrigues Silva²

RESUMO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é a infecção mais comum do trato genital feminino. Estima-se que aproximadamente 75% das mulheres terão pelo menos um episódio de CVV durante seu período reprodutivo. A maioria desses episódios é causada por *Candida albicans*, um fungo dimórfico comensal dos aparelhos gastrointestinal e reprodutor feminino. Experiências clínicas mostram que as influências hormonais e o uso de antibióticos podem predispor à CVV. Sinais e sintomas da infecção podem incluir prurido, ardor, dispareunia, disúria e corrimento vaginal, mas nenhum desses sintomas é específico para CVV, nem está invariavelmente associado a ela. Antifúngicos orais e tópicos podem ser usados no tratamento desta infecção, sendo que bons resultados têm sido obtidos para as duas formas de administração. Estudos, no entanto, indicam que muitas mulheres preferem a terapia oral. Derivados azólicos orais como itraconazol e fluconazol são largamente utilizados e eficazes na terapia da CVV. Parâmetros como sintomas, fatores clínicos e tratamento representam um problema que necessita ser esclarecido.

DESCRITORES: Candidíase vaginal. Sintomatologia. Tratamento. Suscetibilidade *in vitro*.

INTRODUÇÃO

As candidíases são infecções fúngicas geralmente oportunistas, podendo eventualmente apresentar-se como primárias. As manifestações clínicas podem produzir infecções superficiais ou disseminar-se, raramente ocasionando septicemia, endocardite e meningite. Sua apresentação vai desde

1 Mestre em Medicina Tropical, área de Microbiologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Universidade Federal de Goiás (UFG).

2 Professora do Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia, IPTSP, UFG.

Endereço para correspondência: Maria do Rosário Rodrigues Silva, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Rua Delenda Rezende de Melo, esq. com 1ª Avenida. Setor Universitário. Caixa Postal 131. CEP 74605-050. Goiânia-GO, Brasil. Tel.: (0xx62) 209-6127. Fax: (0xx62) 202-3022. E-mail: rosario@iptsp.ufg.br

uma simples irritação e inflamação para supuração aguda e crônica até uma resposta granulomatosa (77, 103).

A candidíase tem como agente etiológico leveduras do gênero *Candida*, que possui mais de duzentas espécies conhecidas (62). Somente algumas delas são consideradas patogênicas para o homem, sendo *C. albicans* a mais freqüente (72). Outras espécies como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. pseudotropicalis*, *C. dubliniensis* e *C. lusitaniae* também aparecem como responsáveis por inúmeros quadros de candidíases (25).

As várias espécies de *Candida* são encontradas como comensais ou como patógenos nos organismos humano e animal, mas podem também ser isoladas do solo, da água e dos alimentos, em decorrência da provável contaminação de origem humana ou animal (89, 124).

No homem, a infecção por espécies de *Candida* é, na maioria das vezes, de caráter endógeno. O equilíbrio parasita-hospedeiro pode ser mantido pela integridade tecidual, pela manutenção da microbiota autóctone, pela resposta do sistema imune do hospedeiro e ainda por fatores relacionados ao microrganismo, os quais envolvem principalmente a capacidade de aderência e a produção de toxinas e enzimas (13, 29, 110).

Alterações nas barreiras cutâneas e mucosas possibilitam o aumento da incidência de infecções por espécies de *Candida*, principalmente em indivíduos que fazem uso abusivo de drogas intravenosas e de cateteres ou que apresentam queimaduras extensas (77), bem como naqueles pacientes que tenham recebido drogas citotóxicas e/ou agentes antibacterianos capazes de suprimir a microbiota normal (77). Portanto, a microbiota interfere não só na infecção por *Candida*, afetando a colonização por competições nutritivas e produzindo substâncias tóxicas, mas também na aderência das leveduras às células epiteliais, o que constitui um pré-requisito para a invasão da levedura (26, 53).

A imunidade celular constitui uma eficiente proteção contra infecções por *Candida* (102), com macrófagos e neutrófilos participando da defesa inespecífica do hospedeiro devido à sua ação microbicida (77). A imunidade humoral, por sua vez, é realizada pela formação de anticorpos que, associados ao complemento, atuam como opsonizadores para as células fagocitárias ou impedem a adesão do microrganismo às células (IgA secretoras) (53, 86). Ademais, a importância de células T na prevenção do desenvolvimento de candidíase mucocutânea tem sido evidenciada. Este tipo de infecção é freqüente em pessoas com depressão do sistema imune, nas quais se observa uma acentuada diminuição dessas células (77), como ocorre em pacientes com a síndrome da imunodeficiência humana adquirida (Aids).

Com relação aos fatores de virulência do microrganismo, verificam-se diferenças entre os isolados de *Candida*. Algumas características das leveduras lhes conferem maior virulência e, conseqüentemente, maior capacidade de desencadear a infecção (26). A adesão é o primeiro evento na gênese da infecção

por leveduras do gênero *Candida*. A interação microrganismo-receptor é mediada por adesinas (lectinas e glicoproteínas de superfície) do agente infectante e por receptores protéicos (laminina, fibronectina e fibrina) presentes na superfície celular das mucosas do hospedeiro. A formação de tubo germinativo, com conseqüente desenvolvimento da forma filamentosa, representa uma importante característica para maior adesão do microrganismo em função do aumento verificado na superfície de contato com a célula do hospedeiro. A variabilidade fenotípica (*switching*) e a produção de enzimas citotóxicas (proteínases, fosfolipases, lipases e fosfatases) também estão envolvidas na virulência e aumentam o poder invasor do fungo (26, 29). Esses fatores de virulência são determinados geneticamente, e os microrganismos são capazes de expressá-los em condições favoráveis de temperatura, pH e nutrientes (81).

As infecções por espécies de *Candida* têm sofrido um considerável aumento nas últimas décadas (17, 117), o que tem levado a inúmeras pesquisas nesse campo. Essas espécies possuem a capacidade de invadir e produzir lesões em mucosas, especialmente na mucosa vaginal.

CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

Epidemiologia e etiologia

A CVV atinge um número significativo de mulheres em idade reprodutiva e ocupa o segundo lugar entre as vaginites, sendo precedida apenas pela vaginose bacteriana (42, 59, 112). Estima-se que 75% das mulheres adultas manifestarão essa infecção em alguma ocasião, sendo que, aproximadamente, 50% delas terão uma segunda manifestação e, provavelmente, 5% sofrerão episódios recorrentes (35, 59, 85, 112).

Aproximadamente 13 milhões de casos de CVV ocorrem anualmente nos Estados Unidos, promovendo 10 milhões de visitas aos médicos ginecologistas e gerando um custo anual de 1 bilhão de dólares (59). No Brasil não existem dados epidemiológicos satisfatórios, pois os casos de CVV não são notificados compulsoriamente nos serviços de saúde pública, o que dificulta o estudo da prevalência dessa enfermidade. Vale ressaltar que o estudo multicêntrico realizado por Bagnoli et al. (1994), em nosso país, revelou um percentual de 23,7% de CVV.

As vulvovaginites são causadas na maioria das vezes por *C. albicans*; no entanto, outras espécies, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis* e *C. lusitaniae*, vêm assumindo importância relevante na etiologia dessa infecção (1, 3, 5, 25, 86).

Fatores predisponentes

Aproximadamente de 10 a 55% das mulheres saudáveis – assintomáticas – em idade reprodutiva apresentam colonização por *Candida* spp no trato genital (86). Devido ao caráter oportunista dessa levedura, uma série de fatores concorre para sua invasão no tecido hospedeiro. É o caso das mulheres diabéticas, que apresentam maior predisposição à vaginite por *Candida* (86). Vale lembrar que essas pacientes apresentam, no ambiente vaginal, a glicosúria e a maior concentração de glicose, o que favorece o aparecimento da candidíase, provavelmente pela capacidade de assimilação e fermentação de açúcares pelas leveduras (56). A exacerbação dos sintomas de vulvovaginites tem sido observada em mulheres diabéticas que consomem doces em excesso, o que confirma o papel desse substrato na gênese do processo infeccioso por *Candida* (56, 112).

A CVV também pode ser influenciada por hormônios esteróides, uma vez que a presença de receptores para estrógeno e progesterona existentes no citosol da célula fúngica favorece a aderência do fungo às células epiteliais vaginais, estimulando a germinação e a formação das pseudo-hifas, que correspondem às formas invasivas das leveduras (11, 94). Os altos níveis de hormônios reprodutivos (estrogênio) na gravidez propiciam uma alta concentração de glicogênio no ambiente vaginal e alteram o pH, o que resulta numa maior disponibilidade de fontes de carbono para o crescimento e germinação de leveduras do gênero *Candida*, e conseqüentemente no aumento de manifestações clínicas de candidíase (94, 96).

Vários estudos revelam um aumento nos percentuais de colonização e infecção vaginal por *Candida* spp em usuárias de contraceptivos orais com altas doses de estrogênio (86). No entanto, a literatura médica considera esses dados inconsistentes (39), uma vez que os anticoncepcionais orais disponíveis são constituídos de baixa dosagem (60).

A antibioticoterapia sistêmica de amplo espectro, prolongada com tetraciclina, ampicilina e cefalosporinas, também favorece a instalação da CVV, uma vez que esses medicamentos eliminam a microbiota bacteriana vaginal que protege o hospedeiro contra a colonização por agentes patogênicos (112). Os *Lactobacillus* spp competem com a *Candida* pelos nutrientes, causam um processo de co-agregação que bloqueia os receptores epiteliais para os blastoconídeos e produzem bacteriocinas que impedem a germinação do micélio (35).

Algumas evidências sugerem que o uso de duchas comerciais, de desodorantes íntimos e de papéis higiênicos perfumados, bem como a prática de natação em piscinas tratadas com cloro, pode desequilibrar a microbiota bacteriana protetora da vagina e assim predispor à CVV (112). O uso de vestimentas apertadas que impedem a ventilação e de roupas íntimas fabricadas com tecidos sintéticos, que aumentam a temperatura local e dificultam a evaporação da umidade vaginal (86), podem aumentar a incidência da CVV.

Um outro fator importante da instalação da CVV é a presença de leveduras na região anal. O reto é um reservatório de espécies de *Candida* que podem ser carregadas para a vagina e representar uma significativa fonte de contágio (65, 68, 74, 79).

Além dos fatores mencionados, a transmissão sexual, apesar de questionada por diversos autores (35, 112), também deve ser considerada, em decorrência do aumento do intercuro sexual. Esse fato pode acarretar leves erosões secundárias ao coito, as quais contribuem para a instalação da doença (35, 39, 105). Atualmente, sabe-se que ambos os parceiros servem como carreadores de *Candida* (75, 107). Estudos baseados na tipagem de cepas indicam que parceiros infectados são usualmente portadores de cepas idênticas (74, 75). Nos homens, a colonização genital por *Candida* chega a ser quatro vezes mais comum nos parceiros de mulheres infectadas, sendo que neles não há normalmente desenvolvimento do processo infeccioso (112).

O ciclo menstrual é outro fator que pode influenciar a proliferação de *Candida* na mucosa vaginal. Os sintomas são geralmente exacerbados no período pré-menstrual quando a concentração de microrganismos aeróbios decresce (cerca de cem vezes) (71). Com o início do fluxo, verifica-se a melhora dos sintomas, o que pode ser explicado pela alcalinização do ambiente vaginal (85, 112).

Manifestações clínicas

Os sintomas da CVV incluem geralmente prurido, corrimento, sensação de ardência genital, dispareunia e disúria. Nenhum desses sintomas, no entanto, é considerado específico (86). O prurido agudo e o corrimento vaginal são as queixas mais usuais. O prurido vulvar está normalmente presente em todas as pacientes sintomáticas. O corrimento vaginal é descrito tipicamente como *queijo cottage* ou *queijo coalhado*, e sua forma varia de líquida a homoganeamente densa. No exame ginecológico especular observa-se um quadro exsudativo, com corrimento e placas brancas, com edema e eritema da vulva e lábios vulvares e com discretas lesões periféricas (112). Vale salientar que, geralmente, existe uma relação quantitativa entre os sinais e sintomas clássicos da CVV e o número de leveduras genitais presentes (85).

Além do sofrimento físico considerável, é importante destacar o estresse nas relações sexuais e afetivas devido à CVV, que se mostra presente em grande porcentagem das mulheres sexualmente ativas, sendo uma das mais freqüentes queixas nos consultórios ginecológicos (85).

Candidíase vulvovaginal recorrente (CVVR)

A CVV é considerada recorrente (CVVR) quando a freqüência dos episódios é maior que quatro em doze meses, o que ocorre provavelmente devido à incompleta erradicação da infecção inicial ou à reinfecção em casos

de recorrências menos freqüentes (83). O mecanismo da patogênese desse tipo de infecção ainda permanece obscuro, no entanto existem possíveis explicações que poderiam ser consideradas, tais como: a decorrência de uma infecção anterior cujos fungos permanecessem nos órgãos genitais e extragenitais, o aumento da virulência do microrganismo e o desenvolvimento de resistência à droga. A CVVR pode ainda ser atribuída a fatores próprios do hospedeiro, como a diminuição da imunidade da mucosa, a reação de hipersensibilidade e a perda da colonização bacteriana no meio vaginal (38, 112).

Mecanismos de defesa na CVV

O desequilíbrio da microbiota local resulta em infecções de origem endógena, decorrentes da proliferação da levedura, e em infecções exógenas (92). A resposta imune adequada do hospedeiro é considerada de grande importância, uma vez que falhas nas respostas celular e humoral podem predispor a uma infecção (101).

Os mecanismos de defesa da mucosa vaginal para leveduras do gênero *Candida* são muito complexos, pois diferem daqueles que protegem superfícies de outras mucosas. As células mediadoras da imunidade (CMI), locais e sistêmicas, são importantes na proteção contra candidíase orofaríngea, mas não contra CVV. No entanto, as células epiteliais de ambos os sítios podem ter alguma função na resistência inata contra a infecção ou servir como um potencial mecanismo para manter o microrganismo em estado comensal. Experimentos em animais mostraram que as células epiteliais próprias da mucosa vaginal são as responsáveis pela resistência inata contra CVV (36). Os mecanismos imunes protetores provavelmente envolvem respostas inatas e/ou adaptativas por células locais fenotipicamente distintas, como células T CD4+ α / β e células T γ / δ funcionando em diferentes níveis (37).

Alguns estudos detectaram citocinas Th1 no fluido vaginal de mulheres saudáveis, o que possibilitou correlacionar a presença dessas citocinas a um efeito protetor contra CVV. Comprovando essa afirmação, foi verificado que a administração de testes intradérmicos de *Candida* em mulheres saudáveis durante o estágio folicular do ciclo menstrual resulta em um aumento local de células Th1. Essa evidência da expressão de células Th1 sustenta a hipótese de que a imunidade mediada por células está envolvida na homeostase imune na mucosa vaginal e contribui para a proteção local contra infecção vaginal naquelas mulheres normalmente resistentes à vaginite (37).

A função da imunidade humoral na proteção contra infecções de mucosas não é bem conhecida, embora os anticorpos sejam facilmente induzidos por antígenos de *Candida* (86). Basta lembrar que a maioria dos pacientes com infecções de mucosas por *Candida*, incluindo vaginite, tem níveis normais ou elevados de anticorpos anti-*Candida* no soro e mucosa.

Quanto aos meios para reduzir a aderência da levedura às células epiteliais, recomendam-se as imunoglobulinas reativas *Candida*-específicas. Essas imunoglobulinas podem ligar-se ao fungo e gerar assim a redução esperada, o que poderia prevenir ou manter baixos níveis de colonização (37). A importância da IgA secretória na mucosa vaginal local é um outro fator que auxilia na imunidade humoral, tendo sido relatada por Gough et al. (1989). Esses autores verificaram que baixos níveis de IgA estavam relacionados com infecções ativas por *Candida*.

Diagnóstico e identificação de leveduras do gênero *Candida* na CVV

As manifestações clínicas da CVV não fornecem informações específicas suficientes para estabelecer um diagnóstico confiável, pois vários microrganismos produzem sintomas similares, limitando assim o diagnóstico clínico que normalmente é feito através da história e exame físico da paciente (30, 86).

Para a identificação de leveduras presentes nas secreções vaginais estão disponíveis métodos rápidos, como o exame a fresco com cloreto de sódio (NaCl) a 0,85% e hidróxido de potássio (KOH) de 10 a 40%, ou a coloração de Gram. Esses métodos, orientam o clínico na exclusão de vaginites causadas por bactérias e protozoários (73).

Alguns pesquisadores têm utilizado o teste de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) para detectar a presença de manano no fluido vaginal. Esse teste vem sendo considerado útil para avaliar a quantidade de leveduras em candidíase vaginal, mostrando-se com resultados semelhantes aos obtidos pelos métodos tradicionais de contagem de células fúngicas viáveis (c.f.u.) (91).

Para identificação das espécies implicadas na infecção por *Candida*, é necessária a utilização de métodos convencionais, como o teste do tubo germinativo, a produção de clamidoconídeos e os testes bioquímicos, que ajudam a verificar a assimilação e fermentação de carboidratos correspondentes a cada espécie (62). Métodos comerciais automatizados, como o API 20C AUX Commercial System (BioMérieux, France), Baxter MicroScan System (Baxter MicroScan Inc., USA) e Vitek System (BioMérieux Vitek, Hazelwood, Mo), também têm sido propostos. Esses métodos permitem a distinção de um grande número de espécies de leveduras (41). Para a identificação presuntiva de espécies de *Candida*, existem no mercado meios cromogênicos ou fluorogênicos como Albicans ID® (Biolife, Italy); *Candida* ID® (bioMérieux, Spanish); CHROMagar *Candida*® (CHROMagar Company, France), Fluoroplate *Candida*® (Merck, German) e Chromalbicans® (Biolife, Italy), com a capacidade de detectar a atividade enzimática dessas leveduras (95).

TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

Apesar da utilização de muitos antifúngicos para o tratamento da CVV, eles se limitam a dois grupos: os poliênicos, que alteram a permeabilidade da membrana celular fúngica, e os derivados azólicos, que atuam inibindo a ação da síntese do ergosterol presente na célula do fungo (122, 123).

Os principais fármacos do grupo dos poliênicos são a anfotericina B e a nistatina (122). A anfotericina B atua ligando-se aos esteróis, especialmente ao ergosterol presente na membrana celular fúngica, e produzindo poros ou canais. Essa atuação resulta no aumento da permeabilidade, que acarreta o desequilíbrio osmótico pela perda de íons intracelulares e consequentemente a lise e morte das células (99). Esse poliênico continua sendo o agente de escolha para o tratamento de muitas micoses sistêmicas, apesar de sua conhecida nefrotoxicidade (45, 116). Na CVV, o uso da anfotericina B tem sido associado a antibióticos como a tetraciclina, na forma de creme vaginal para tratamento tópico (28).

A nistatina possui estrutura química e mecanismo de ação semelhantes aos da anfotericina B (122). Apesar de usada por via oral no tratamento de candidíase bucal e digestiva, sua administração mais comum é por via tópica na forma de óvulos, cremes, loções e pomadas, no tratamento de candidíase de pele e de mucosa, especialmente a vaginal (104).

Os derivados azólicos, considerados importantes opções terapêuticas para várias infecções fúngicas, atuam inibindo a 14 α demetilase, que é uma enzima dependente do sistema citocromo P-450. Ao bloquear a demetilação do lanosterol em ergosterol, tais derivados acarretam o acúmulo de esteróides metilados e a diminuição do ergosterol, principal constituinte da membrana da célula fúngica. Ocorre assim um consequente aumento da permeabilidade dessa membrana e a inibição do crescimento celular (46, 58, 120, 122). Os azólicos representam uma das famílias de antifúngicos com o maior número de derivados, que se dividem em imidazólicos diazólicos (miconazol, clotrimazol, econazol e cetoconazol) e imidazólicos triazólicos (fluconazol e itraconazol) (21, 49, 61, 111). Esses azólicos encontram-se disponíveis em uma variedade de formulações para uso tópico e oral no tratamento da CVV (66).

Para uso tópico, azólicos como o butaconazol, clotrimazol, miconazol, econazol, tioconazol, terconazol e sertaconazol estão disponíveis em forma de cremes, loções, tabletes vaginais, supositórios e óvulos (112). A aplicação intravaginal de antimicóticos em forma de cremes ou óvulos não se tem mostrado inteiramente satisfatória (40). Pelo fato de proporcionar maior efetividade da droga, a terapia por via oral destaca-se na CVV (76, 78, 79). Atualmente, no tratamento por via oral, utilizam-se fluconazol, itraconazol e cetoconazol.

O cetoconazol, apesar de altamente efetivo no tratamento para vaginite por *Candida*, pode apresentar excepcionalmente danos hepatotóxicos em uma de

cada dez mil mulheres tratadas, o que, contudo, não deve invalidar o seu uso (112, 113).

Muito eficazes no tratamento da CVV, os triazólicos, por sua vez, são drogas fungistáticas que apresentam as seguintes características: possuem elevada potência antimicótica, alcançam uma alta concentração tecidual vaginal, têm maior efeito residual e apresentam poucas reações adversas. Os triazólicos possuem menor potencial de toxicidade em relação aos imidazólicos diazólicos devido à sua maior especificidade de ligação ao citocromo da célula fúngica do que ao citocromo das células do hospedeiro (4, 9, 27, 30, 80, 87, 119).

Convém ressaltar que posologias normalmente utilizadas na prática médica, para uso específico na vaginite por *Candida*, com um único dia de tratamento (200 mg duas vezes ao dia para o itraconazol e 150 mg em dose única para o fluconazol) têm-se mostrado altamente eficazes, alcançando cura clínica e micológica (67, 79, 112).

O itraconazol é um agente de amplo espectro, que se caracteriza por uma variação interindividual considerável na absorção da droga e por uma extensiva distribuição tecidual. Sua difusão nos tecidos, muito maior do que no plasma (54, 55, 115), ocorre graças às suas propriedades lipofílicas, e sua penetração nas camadas mais profundas do tecido vaginal propicia um efeito terapêutico mais prolongado (23, 57). A meia-vida de eliminação do itraconazol é de cerca de 24 horas. Esse fármaco deve ser administrado após as principais refeições, pois os alimentos auxiliam na sua absorção e distribuição para os tecidos (57, 111, 115). Entre as reações adversas destacam-se: dor abdominal, náuseas, dispepsia e cefaléia. Em terapias prolongadas o itraconazol pode ocasionar hipocalcemia (14). O tratamento com itraconazol apresenta um amplo espectro de atividade contra inúmeras espécies de *Candida* e, portanto, ótimos resultados na terapia (54).

O fluconazol é também considerado um agente antifúngico de amplo espectro. Por ser hidrofílico, permanece circulando no sangue por mais tempo. Sua concentração nos tecidos não alcança níveis tão elevados como os atingidos pelo itraconazol. Sua baixa ligação (12%) com as proteínas lhe permite uma alta concentração no soro e uma rápida e ampla distribuição aos tecidos, chegando a apresentar uma biodisponibilidade de aproximadamente 90% (10, 22, 44, 70). A dose única de 150 mg de fluconazol utilizado para tratamento da CVV é recomendada pelo Center for Disease Control and Prevention (CDC) (15), levando-se em consideração sua meia-vida, que é de aproximadamente 30 horas, o que lhe permite ser administrado uma vez ao dia (43). A absorção desse fármaco, diferentemente da do itraconazol, não é afetada pela alimentação ou pela acidez gástrica; rapidamente absorvido no trato gastrointestinal, ele apresenta concentração plasmática máxima de uma a três horas após sua administração (43, 63, 129). Dentre os efeitos adversos destacam-se: náuseas, cefaléia, exantema, dor abdominal, vômitos e diarreia

(118). O tratamento com fluconazol apresenta excelentes resultados contra várias espécies de *Candida*, exceto *C. krusei* e *C. glabrata*, que mostram resistência intrínseca a esse agente (34, 100, 121, 128).

Outros agentes antifúngicos, como voriconazol, posaconazol (SCH 56592), ravuconazol (BMS 207147) (52, 88) e NND-502 (84) – sucessores do itraconazol e fluconazol –, estão sendo desenvolvidos como alternativas para o tratamento de várias infecções fúngicas, em especial de espécies resistentes aos conhecidos derivados azólicos (7, 8, 31, 47).

O tratamento concomitante de parceiros assintomáticos de mulheres com CVV tem sido largamente questionado em razão das inúmeras controvérsias existentes. Estudos prospectivos têm mostrado que o tratamento do parceiro sexual não influencia na candidíase vaginal da parceira, a não ser que ele apresente balanite sintomática ou dermatite peniana (15). Entretanto outros pesquisadores propõem o tratamento por via oral de ambos os parceiros, pois admitem a possibilidade de transmissão sexual (38, 64, 75, 114).

Resistência aos azólicos

A resistência aos agentes antifúngicos engloba mecanismos tais como alterações genéticas, expressão transitória do gene de resistência, instabilidade genômica dentro da mesma cepa, modificações na via biossintética do ergosterol, alterações moleculares do gene ERG 11, diminuição do acúmulo da droga e mecanismo das bombas de efluxo (80, 126).

Fatores do estado imunológico do hospedeiro, tais como o sítio e a gravidade da infecção e a resposta ao tratamento, e fatores relacionados às drogas, como sua natureza fungistática, dosagem e dose acumulativa, farmacocinética e interação droga-droga, podem, em conjunto, alterar o sucesso da terapia com azólicos (80).

Os padrões de resistência aos antifúngicos azólicos são largamente estudados em pacientes imunocomprometidos. Poucos estudos, entretanto, são realizados em indivíduos imunocompetentes, nos quais a resistência é raramente relatada (30, 121). Em muitos casos, o termo “resistência” tem sido usado para descrever cepas não suscetíveis às doses convencionais dos agentes antifúngicos. A causa mais comum de infecções fúngicas refratárias ao tratamento é a presença de cepas nas quais a concentração inibitória mínima (CIM) da droga apresenta-se mais alta que a média (69, 80). O National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) estabeleceu os parâmetros de suscetibilidade, resistência e dose-dependência para itraconazol, fluconazol e fluorocitosina (NCCLS 1997) (82).

SUSCETIBILIDADE *IN VITRO*

O elevado número de drogas antifúngicas disponíveis, o relato de resistência verificado em isolados de *Candida* e a necessidade de um tratamento rápido, adequado e eficaz despertaram um grande interesse em estudos capazes de padronizar testes de suscetibilidade *in vitro* para a escolha da terapia adequada (2, 18, 44, 82, 109). Para melhor padronização desses testes de suscetibilidade, o NCCLS estabeleceu um subcomitê na tentativa de alcançar resultados com boa reprodutibilidade e concordância inter e intralaboratorial para as leveduras. Um significativo número de investigadores colaborou com o subcomitê determinando variáveis como a concentração e o preparo do inóculo, composição do meio, tempo de incubação, temperatura, volume e definição de *endpoints* (32, 98). Como resultado, em 1997 o NCCLS padronizou, aprovou e introduziu o método de referência de macrodiluição em caldo, através do Documento M27-A, para testar fluconazol, itraconazol, anfotericina B, cetoconazol e 5-fluorocitosina para leveduras do gênero *Candida* e para *C. neoformans* (82). Nesse documento foram estabelecidos *breakpoints* nas categorias de suscetível, suscetível dose-dependente e resistente a fluconazol, itraconazol e fluorocitosina para as espécies de *Candida* (101). O método de referência, no entanto, demanda muito tempo e trabalho intensivo, tornando-se frustrada, deste modo, sua aplicação na rotina dos laboratórios clínicos (127). Modificações e procedimentos menos trabalhosos como o Etest (AB Biodisk Solna, Suécia) têm sido propostos como alternativas para o método de macrodiluição em caldo (19, 33, 90, 108).

O Etest® (AB Biodisk, Solna, Suécia) é um teste comercial de difusão em ágar que se baseia no uso contínuo de um gradiente de concentração de um agente antimicrobiano expresso em µg/mL numa fita de plástico. Essa fita é transferida para um meio de cultura sólido no qual uma suspensão padronizada de microrganismos é previamente plaqueada. A inibição de crescimento do microrganismo sensível é verificada através de uma área de inibição em forma de elipse, na fita, onde a CIM é lida como sendo a concentração da droga expressa na fita, no ponto em que a tira do Etest intercepta a borda da zona de inibição (34, 108). A determinação das CIMs para vários agentes antifúngicos através do Etest mostra boa correlação com o teste de referência do NCCLS para leveduras do gênero *Candida* e para *C. neoformans* (16, 19, 20, 33, 34, 99, 108, 125). Segundo Espinel-Ingroff et al. (1996), este método demonstra boa reprodutibilidade inter e intralaboratorial representando, portanto, um método promissor para a execução dos testes de suscetibilidade *in vitro*, em laboratórios de rotina.

Esses testes são basicamente utilizados: (a) em condições clínicas nas quais se verifica resistência ou falha na resposta aos tratamentos clássicos (126); (b) nas micoses mucocutâneas recorrentes (93); (c) para testar os

isolados de infecções profundas disseminadas, principalmente os de não-*albicans*; (d) para monitorar a resistência da droga durante o curso do tratamento; (e) para propósitos epidemiológicos (48).

CORRELAÇÃO *IN VITRO*-*IN VIVO*

Os resultados dos testes de suscetibilidade antifúngica *in vitro* são muito importantes no prognóstico de confiança da resposta *in vivo* para terapia em infecções humanas (90, 106). Usando modelos animais experimentais e dados de pacientes, Rex et al. (1997) demonstraram existir uma considerável correlação entre as CIMs e os resultados clínicos. Vários autores acreditam na necessidade da avaliação dos resultados dos testes de suscetibilidade *in vitro* e de sua correlação com a resposta clínica do paciente (12, 24, 66, 97, 101).

Entretanto, estabelecer a relevância clínica dos resultados *in vitro* tem sido uma tarefa complicada, uma vez que não é somente o padrão de suscetibilidade antifúngica que influencia a resposta clínica dos pacientes (50). Em alguns, as propriedades farmacocinéticas da droga antifúngica e certos fatores do hospedeiro, como doenças preexistentes e estado imunológico, também determinam o destino da infecção (101). Os valores de CIM encontrados nos testes *in vitro*, portanto, não significam obrigatoriamente que haja sensibilidade ou resistência dos isolados aos agentes antifúngicos. Sabe-se que a suscetibilidade, na maioria das vezes, pode não prever sucesso terapêutico, mas a resistência pode frequentemente pressupor falha de resposta do hospedeiro ao agente antifúngico (101).

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis: clinical aspects, oral treatment with azoles and susceptibility *in vitro*

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is the most common infection of the female genital tract. It has been estimated that approximately 75% of women will experience at least one episode of VVC during their child-bearing period. The majority of episodes of mucosal candidiasis are caused by *Candida albicans*, a dimorphic fungal commensal organism of the gastrointestinal and lower female reproductive tracts. Clinical experience show that hormonal influences and antibiotic usage appear to predispose to VVC. Signs and symptoms of infection may include itching, burning, dyspareunia, dysuria and vaginal discharge, but neither symptom is specific to VVC and neither is invariably associated with disease. Antimycotics for the treatment of women with VVC are available for local and oral use. However, several studies indicate that given the choice, most women prefer oral therapy. Clinical results of oral therapy are at least as good as, if not superior to, conventional

topical antimycotic therapy. Oral azoles derivatives as itraconazole and fluconazole have proved to be efficacious in vaginal candidiasis. All the parameters, as factors involved in clinical vulvovaginitis, symptoms, and treatment, represent questions that need to be clarified.

KEYWORDS: Vulvovaginal candidiasis. Symptoms. Treatment. *In vitro* susceptibility.

REFERÊNCIAS

1. Agatensi L, Franchi F, Mondello F, Bevilacqua RL, Ceddia T, De Bernardis F, Cassone A. Vaginopathic and proteolytic *Candida* species in outpatients attending a gynaecology clinic. *J Clin Pathol* 44: 826-30, 1991.
2. Alves SH, Cury AE. Sensibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas de pacientes com câncer, à antifúngicos poliênicos. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 34: 251-254, 1992.
3. Araújo MR, Colombo A, Paula CR. Susceptibility profile of vaginal yeasts isolated from Brazil. *Mycopathologia* 151: 5-10, 2001.
4. Arenas CG, Archa WG, Bolivar N, Pizarro E, Cruz MA. Itraconazol: evaluación de su seguridad y eficacia en tratamiento de vulvovaginitis por *Candida*. *Rev Chil Infect* 8: 88-91, 1991.
5. Auler ME. Identificação, fatores de virulência e sensibilidade aos antifúngicos de amostras isoladas em candidíase vulvovaginal, primária e recorrente. Instituto de Ciências Biomédicas II USP. São Paulo 117 p. Dissertação de Mestrado, 2002.
6. Bagnoli VR, Fonseca AM, Linhares IM. Estudo multicêntrico brasileiro das etiologias das vaginites e vaginoses. *Rev Bras Med Ginecol Obstet* 5: 464-466, 1994.
7. Barchiesi F, Schimizzi AM, Fothergill AW, Scalise G, Rinaldi MG. *In vitro* activity of the new echinocandin antifungal MK-0991 against common and uncommon clinical isolates of *Candida* species. *Eur J Microbiol Infect Dis* 18: 302-304, 1999.
8. Bartizal K, Gill CJ, Abruzzo GK, Flattery AM, Kong L, Scott PM, Smith JG, Leighton CE, Bouffard A, Dropinski JF, Balkovec C. *In vitro* preclinical evaluation studies with the echinocandin antifungal MK-0991 (L-743,872). *Antimicrob Agents Chemother* 41: 2326-2332, 1997.
9. Boag FC, Houang ET, Westrom R, McCormack SM, Lawrence AG. Comparison of vaginal flora after treatment with clotrimazole 500mg vaginal pessary or a fluconazole 150mg capsule for vaginal candidosis. *Genitourin Med* 67: 232-234, 1991.
10. Brammer KW, Farrow PR, Faulkner JK. Pharmacokinetics and tissue penetration of fluconazole in humans. *Rev Infect Dis* 12: 5318, 1990.
11. Brof B. The diagnosis of *Candida* vaginitis in general practice. *Scand J Prim Health Care* 7: 19-22, 1989.
12. Burgess DS, Hastings RW, Summers KK, Hardin TC, Rinaldi MG. Pharmacodynamics of fluconazole, itraconazole and amphotericin B against *Candida albicans*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 36: 13-18, 2000.
13. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* 9: 327-335, 2001.
14. Carrillo-Muñoz AJ, Brió S, Quindós G. Una nueva generación de fármacos antifúngicos. *Rev Iberoam Micol* 18: 2-5, 2001.
15. Centers for Disease Control and Prevention. 1998 guidelines for treatment of sexually transmitted disease. *Mor Mortal Wkly Rep CDC* 47(Nº RR-1): 75-79, 1998.
16. Chen SCA, O'Donnell ML, Gordon S, Gilbert GL. Antifungal susceptibility testing using the Etest: Comparison with the broth macrodilution technique. *J Antimicrob Chemother* 37: 265-273, 1996.

17. Coleman DC, Bennett DE, Sullivan DJ, Gallagher PJ, Henman MC, Shanley DB, Russell RJ. Oral *Candida* in HIV infection and AIDS, new perspectives / new approaches. *Crit Rev Microbiol* 19: 61-82, 1993
18. Colombo, AL. *Avaliação in vitro, por três métodos diferentes da sensibilidade de leveduras a antifúngicos azólicos*. Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 72p. Tese de Doutorado, 1994.
19. Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA, Rinaldi MG. Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth microdilution method for azole antifungal susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 33: 535-540, 1995a.
20. Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA, Fothergill AW, Rinaldi MG. Evaluation of Etest system versus a microtitre broth method for antifungal susceptibility testing of yeast against fluconazole and itraconazole. *J Antimicrob Chemother* 36: 93-100, 1995b.
21. Como JA, Dismukes WE. Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. *N Engl J Med* 330: 263-72, 1992.
22. Crowe HM. Focus on fluconazole: a potent antifungal agent. *Hosp Formul* 25: 611, 1990.
23. Daneshmend, TK. Pharmacokinetics properties of itraconazole. In: A review based on a satellite symposium of the IVth International workshop for Infectious Disease in Gynaecology and Obstetric and the 1st Meeting of the European Society for Infectious Disease in OB/GYN (Esidog). Vaginal Candidosis and this treatment with oral itraconazole. Oxford clinical communication 34-43pp, 1989.
24. De Doncker P. Itraconazole and terbinafine in perspective: from petri dish to patient. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1: S10-S16, 1999.
25. De Pauw BE. New antifungal agents and preparations. *Int J Antimicrobial Agents* 16: 147-150, 2000.
26. Delgado W, Aguirre JM. Las micosis orales en la era del SIDA. *Rev Iberoam Micol* 14: 14-22, 1997.
27. Dellenbach P, Thomas JL, Guerin V, Ochsenbein E, Contet-Audonou N. Topical treatment of vaginal candidosis with sertaconazole and econazole sustained-release suppositories. *Int J Gynaecol Obstet* 71: S47-S52, 2000.
28. Dicionário de Especialidades Farmacêuticas. Jornal Brasileiro de Medicina, Editora de Publicações Científicas Ltda, Rio de Janeiro, 2000/01.
29. Drago L, Mombelli B, De Vecchi E, Bonaccorso C, Fassina MC, Gismondo MR. *Candida albicans* cellular internalization: a new pathogenic factor? *Int J Antimicrob Agents* 16: 545-547, 2000.
30. Dun E. Antifungal resistance in yeast vaginitis. *Yale J Biol Med* 72: 281-285, 1999.
31. Ernest EJ, Klepser ME, Messer SA, Pfaller, MA. *In vitro* pharmacodynamic properties of MK 0991 determined by time-kill methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 33: 75-80, 1999.
32. Espinel-Ingroff A, Kerkering TM, Goldson PR, Shadomy S. Comparison study of broth microdilution and microdilution antifungal susceptibility test. *J Clin Microbiol* 29: 1089-1094, 1991.
33. Espinel-Ingroff A. Etest for antifungal susceptibility testing of yeasts. *Diagn Microbiol Infect Dis* 19: 217-220, 1994.
34. Espinel-Ingroff A, Pfaller M, Erwin ME, Jones RN. Interlaboratory evaluation of Etest method for testing antifungal susceptibilities of pathogenic yeasts to five antifungal agents by RPMI 1640 medium with 2% glucose. *J Clin Microbiol* 34: 848-855, 1996.
35. Ferrer J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. *Int J Gynaecol Obstet* 71: S21-S27, 2000.
36. Fidel Jr PL. Host defense against oropharyngeal and vaginal candidiasis: site-specific differences. *Rev Iberoam Micol* 16: 8-15, 1999.
37. Fidel Jr PL, Sobel JD. Protective immunity in experimental *Candida* vaginitis. *Rev. Res Immunol* 149: 361-373, 1998.
38. Fong IW. The value of treating the sexual partners of women with recurrent vaginal candidiasis with ketoconazole. *Genitourin Med* 68: 174-176, 1992.
39. Foxman B. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: Risk factors. *American J Publ Health* 80: 329-331, 1990.
40. Frega A, Gallo G, Di Renzi F, Stolfi G, Stentella P. Persistent vulvovaginal candidiasis: systemic treatment with oral fluconazole. *Clin Experiment Obstetr Gynecol* 31: 259, 1994.
41. Freydière AM, Guinet R. Rapid methods for identification of the most frequent clinical yeast. *Rev Iberoam Micol* 14: 85-89, 1997.
42. Friedrich Jr EG. Current perspectives in candidal vulvovaginitis. *Am J Obstet Gynecol* 158: 985, 1988.
43. Galgiani JN. Fluconazole, a new antifung agent. *Ann Intern Med* 113: 177, 1990.
44. Galgiani JN, Rinaldi MG, Polak AM, Pfaller MA. Standardization of antifungal susceptibility testing. *J Med Vet Mycol* 30: 213-224, 1992.
45. Gallis HA. Amphotericin B: a commentary on its role as an antifungal agent and as a comparative agent in clinical trials. *Clin Infect Dis* 22: S145-S147, 1996.
46. Georgopapadakou NH. Antifungals: mechanism of action and resistance, established and novel drugs. *Curr Opin Microbiol* 1: 547-557, 1998.
47. Georgopapadakou NH. Update on antifungals targeted to the cell wall: focus on beta-1, 3 glucan synthase inhibitors. *Expert Opin Invest Drugs* 10: 269-280, 2001.
48. Ghannoum MA. Yeast susceptibility testing: reference methods and commercial test systems. *Clin Microbiol Newsletter* 23: 131-135, 2001.
49. Ghannoum MA, Hossain MA. New investigational antifungal agents for treating invasive fungal infections. *Expert Opin Invest Drugs* 9: 1797-1813, 2000.
50. Ghannoum MA, Rex JH, Galgiani JN. Susceptibility testing of fungi: current status of correlation of in vitro data with clinical outcome. *J Clin Microbiol* 34: 489-495, 1996.
51. Gough PM, Warnock DV, Richardson MD. IgA and IgG antibodies to *Candida albicans* in the genital tract secretions of women with and without vaginal candidiasis. *Sabouraudia* 4: 265-271, 1989.
52. Graybill JR. New antifungal agents. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 8: 402-412, 1989.
53. Greefield RA. Host defense system interactions with *Candida albicans*. *J Med Veter Mycol* 30: 89-104, 1992.
54. Haria M, Bryson HM, Gon KL. Itraconazole: a reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in the management of superficial fungal infections. *Drugs* 51: 585-620, 1996.
55. Heykants J, Van Peer A, Van de Velde V, Vam Rooy P, Meuldermans W, Lavrijesen K, Woestenborghs R, Van Cutsem J, Cauwenbergh G. The clinical pharmacokinetics of itraconazole: an overview. *Mycoses* 32: 67-87, 1989.
56. Horowitz BJ, Edelstein SW, Lippman L. Sugar chromatography studies in recurrent *Candida* vulvovaginitis. *J Reprod Med* 29: 441, 1984.
57. Jansen TM, Van de Ven MA, Borgers MJ, Odds FC, Van Custem JM. Fungal Morphology after treatment with itraconazole as a single dose in experimental vaginal candidosis in rats. *Am J Obstetr Gynecol* 165: 1552-1557, 1991.
58. Joseph-Home T, Hollomon DW. Molecular mechanisms of azole resistance in fungi. *FEMS Microbiol Lett* 149: 141-149, 1997.
59. Kent HL. Epidemiology of vulvovaginitis. *Am J Obstetr Gynecol* 165: 1168-1175, 1991.
60. Kinghorn GR. Medical overview of vaginal candidiasis. *Int J Gynaecol Obstetr* 37: 3, 1992.
61. Klepser ME, Hoffman HL, Evans EJ. Novel triazole antifungal agents. *Expert Opin Invest Drugs* 9: 539-605, 2000.
62. Kurtzman CP, Fell JW. *The yeasts: a taxonomic study*, 4th New York, Elsevier, p. 919-925, 1998.
63. Lim SG, Sawyer AM, Hudson M, Sercombe J, Pounder RS. Short report.: the absorption of fluconazole under conditions of low intragastric acidity. *Aliment Pharmacol Ther* 7: 317-321, 1993.
64. Linhares IM, Bagnolli VR, Halbe HW. Vaginose bacteriana, candidose e tricomoníase. In HW Halbe, *Tratado de Ginecologia* 2 ed., Roca, São Paulo 1: 875, 1994.

109. Shadomy S, Pfäller MA. Laboratory studies with antifungal agents: susceptibility tests quantitation in body fluids and bioassays. In: A Ballows, WJ Hausler Jr, KL Herrmann, HD Isenberg, HJ Shadomy, *Manual of Clinical Microbiology*, Am Soc Microbiol, 5^a ed., Washington, p. 1173-83, 1991.
110. Silva M.R.R. *Variabilidade fenotípica e genotípica de amostras de Candida albicans isoladas da mucosa bucal de pacientes com AIDS*. Instituto de Ciências Biomédicas II-USP. São Paulo 158p. Tese de Doutorado, 1999.
111. Silva P. Drogas Antifúngicas. In: *Farmacologia*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 5^a ed, p. 1081-1090, 1998.
112. Sobel JD. Genital candidiasis. In: GP Bodey, *Candidiasis: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment*, Raven Press Ltd., New York, p. 225-245, 1993.
113. Sobel JD. Controversial aspects in the management of vulvovaginal candidiasis. *J Am Acad Dermatol* 31: S10-S13, 1994.
114. Spinillo A, Carrata L, Pizzoli G, Lombardi G, Cavanna C, Michelone G, Guaschino S. Recurrent vaginal candidiasis result of a cohort study of sexual transmission and intestinal reservoir. *J Reproduct Med* 37: 343-347, 1992.
115. Suarez-Kurtz G, Bozza FA, Vicente FL, Ponte CG, Struchiner CJ. Modelos com estratégia de amostragem limitada para o itraconazol e hidróxi-itraconazol baseados nos dados de um estudo de bioequivalência. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 134-140, 1999.
116. Sugar AM. Use of amphotericin B with azole antifungal drugs: what are we doing? *Antimicrob Agents Chemother* 39: 1907-1912, 1995.
117. Sullivan DJ, Henman MC, Moran GP, O'Neil LC, Benett DE, Shanley DB, Coleman DC. Molecular genetic approaches to identification, epidemiology and taxonomy of non-*albicans* *Candida* species. *J Med Microbiol* 44: 399-408, 1996.
118. Taker JR. Successful use of fluconazole for treatment of urinary tract fungal infections. *J Urol* 148: 1917-1918, 1992.
119. Timonem H. Shorter treatment for vaginal candidosis: comparison between single dose oral fluconazole and three-day treatment with local miconazole. *Mycoses* 35: 317-320, 1992.
120. Tkacz JS, Didomenico B. Antifungals: what's in the pipeline. *Antimicrob* 4: 540-545, 2001.
121. Troke PF. In vitro and experimental in vivo activities of fluconazole against some fungi causing cutaneous mycosis. In: JW Rippon, *Cutaneous antifungal agents*, Fromtling RA, New York, p. 199-214, 1993.
122. Vanden Bossche H. Mechanisms of antifungal resistance. *Rev Iberoam Micol* 14: 44-49, 1997.
123. Vanden Bossche H, Marichal P, Odds FC. Molecular mechanism of drugs resistance in fungi. *Trends Microbiol* 2: 393-400, 1994.
124. Wade JC. Epidemiology of *Candida* infections. In: GP Bodey, *Candidiasis: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment*, Raven Press, 2nd ed., New York, p. 85-107, 1993.
125. Wanger A, Mills K, Nelson PW, Rex JL. Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standard broth microdilution method for antifungal susceptibility testing: Enhanced ability to detected amphotericin B-resistant *Candida* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 39: 2520-2522, 1995.
126. White TC, Marr KA, Bowden RA. Clinical, cellular and molecular factors that contribute to antifungal resistance. *Clin Microbiol Rev* 11: 382-402, 1998.
127. Willinger B, Apfalter P, Hirschl AM, Makristathis A, Rotter M, Seibold M. Susceptibility testing of *Candida* species: comparison of NCCLS microdilution method with Fungitest®. *Diagn Microbiol Infect Dis* 38: 11-15, 2000.
128. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Miller CB, Karp JE, Saral R. Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 1847-1849, 1993.
129. Zimmermann T, Yeates RA, Laufen H, Pfaff G, Wildfeuer A. Influence of concomitant food intake on the oral absorption of triazol antifungal agents, itraconazole and fluconazole. *Eur J Clin Pharmacol* 14: 147-150, 1994.