

PERFIL DE SUSCETIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DE *CANDIDA* spp. ISOLADAS DA CAVIDADE ORAL DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Lyon, JP¹; Moreira LM¹, Cristo CG¹, Resende MA²

¹Universidade do Vale do Paraíba; Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, julianalyon@univap.br

¹Universidade do Vale do Paraíba; Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, leonardomarmo@univap.br

²Universidade Federal de Minas Gerais; Instituto de Ciências Biológicas, maresend@icb.ufmg.br

Resumo- A estomatite protética é uma condição inflamatória que ocorre em usuários de prótese total e está frequentemente associada a leveduras do gênero *Candida*. Os perfis de suscetibilidade a antifúngicos têm sido extensivamente estudados em pacientes com candidíase ou em indivíduos imunossuprimidos, mas não em portadores saudáveis de *Candida*. No presente estudo, fluconazol, itraconazol, voriconazol, terbinafina e 5-flucitosina foram testados contra 109 isolados orais de *Candida* spp. Todos os agentes antifúngicos mostraram-se eficazes contra as amostras avaliadas, exceto a terbinafina. O presente trabalho pode fornecer dados epidemiológicos com relação à susceptibilidade a antifúngicos por *Candida* spp isoladas de indivíduos com saúde oral.

Palavras-chave: Usuários de prótese total, Portadores de *Candida*, Mucosa oral normal

Área do Conhecimento: Saúde

Introdução

A estomatite protética é uma condição inflamatória que frequentemente ocorre no palato de usuários de prótese total. Esta patologia normalmente está associada a leveduras do gênero *Candida* (LANFON et al., 2005; RAMAGE et al., 2004; BARBEAU et al., 2003). O uso de agentes azólicos para o tratamento da candidose oral tem se tornado muito difundido entre pacientes imunocompetentes. Dessa forma, é importante determinar a prevalência de amostras resistentes a estas drogas para que o clínico possa administrar o tratamento mais efetivo (HABERLAND-CARRODEGUAS et al., 2002).

Outros agentes antifúngicos, como a terbinafina 5-flucitosina e anfotericina B também são importantes para o tratamento de infecções fúngicas. Ainda que não sejam usualmente empregados contra candidoses orais, o perfil de suscetibilidade de amostras isoladas da cavidade oral com relação a estes agentes pode fornecer importantes dados epidemiológicos.

Vários estudos focados na suscetibilidade de *Candida* spp. têm sido desenvolvidos utilizando amostras obtidas de indivíduos imunossuprimidos ou indivíduos com presença de candidose. Todavia, a presença de amostras resistentes a antifúngicos não foi extensivamente estudada entre portadores saudáveis da levedura. A avaliação do perfil de suscetibilidade de *Candida* spp. isoladas da cavidade oral de indivíduos saudáveis trará informações adicionais com relação a esse assunto.

Metodologia

Um total de 112 indivíduos usuários de prótese total por pelo menos um ano e 103 indivíduos portadores de dentes naturais foram avaliados. Os indivíduos citados foram recrutados das clínicas de prótese total da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) e Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Todos os pacientes eram HIV negativos, nunca haviam apresentado neoplasias malignas e não estavam sob terapia antifúngica no momento da coleta. As amostras foram coletadas do dorso da lingual utilizando um swab esterilizado. Após a coleta, foram obtidas 109 amostras, sendo 71 *C. albicans*, 15 *C. glabrata*, 12 *C. tropicalis*, oito *C. parapsilosis* e três *C. krusei*. Estas amostras foram identificadas através de testes bioquímicos, morfológicos e fisiológicos (KURTZMAN; FELL, 1998).

Anfotericina B (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA), 5-flucitosina (Hoffman La Roche, Bale, Switzerland), fluconazol (Pfizer São Paulo, Brazil), itraconazol (Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium), voriconazol (Pfizer, São Paulo, Brazil) e terbinafina (Novartis Biociências S.A., São Paulo, Brazil) foram obtidos como reagentes diretamente do fabricante. Testes de microdiluição foram realizados de acordo com as diretrizes do documento M27-A do CLSI. Após a incubação, a concentração inibitória mínima do fluconazol, itraconazol, voriconazol e terbinafina foram lidas como a menor concentração em que houve decréscimo de 80% na turbidez. Para Anfotericina B e 5-flucitosina, a CIM foi considerada a concentração em que ocorreu inibição completa do crescimento. O controle de qualidade foi assegurado pela inserção da amostra ATCC 22019 de *C. parapsilosis*.

Resultados

Os resultados estão apresentados na tabela 1. Os valores para interpretação da susceptibilidade foram aqueles sugeridos por Pfaller et al. (2003), Rex et al. (2001), Ryder (1999) e o CLSI.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) em µg/ml obtida para *Candida* spp. Isoladas de usuários de prótese total, indivíduos com dentes naturais e para a totalidade de indivíduos.

Antifúngico	UPT	IDN	TI
	CIM ₉₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)
Fluconazol			
<i>C. albicans</i>	2.0 ^a	2.0 ^a	2.0 ^a
<i>C. glabrata</i>	8.0 ^d	4.0 ^a	8.0 ^d
<i>C. parapsilosis</i>	1.0 ^a	4.0 ^a	4.0 ^a
<i>C. krusei</i>	64.0 ^d	64.0 ^d	64.0 ^d
<i>C. tropicalis</i>	2.0 ^a	1.0 ^a	2.0 ^a
Itraconazol			
<i>C. albicans</i>	0.06 ^a	0.06 ^a	0.06 ^a
<i>C. glabrata</i>	0.5 ^a	0.12 ^a	0.12 ^a
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a
<i>C. krusei</i>	0.03 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a
<i>C. tropicalis</i>	0.03 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a
Voriconazol			
<i>C. albicans</i>	0.25 ^a	0.5 ^a	0.25 ^a
<i>C. glabrata</i>	1.0 ^a	0.12 ^a	1.0 ^a
<i>C. parapsilosis</i>	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a
<i>C. krusei</i>	0.12 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a
<i>C. tropicalis</i>	0.12 ^a	0.12 ^a	0.12 ^a
Anfotericina B			
<i>C. albicans</i>	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a
<i>C. glabrata</i>	1.0 ^a	0.5 ^a	1.0 ^a
<i>C. parapsilosis</i>	0.25 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a
<i>C. krusei</i>	0.5 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a
<i>C. tropicalis</i>	0.25 ^a	0.25 ^a	0.25 ^a
5-Flucitosina			
<i>C. albicans</i>	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a
<i>C. glabrata</i>	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a
<i>C. parapsilosis</i>	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a
<i>C. krusei</i>	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a
<i>C. tropicalis</i>	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a
Terbinafina			
<i>C. albicans</i>	64.0	64.0	64.0
<i>C. glabrata</i>	64.0	64.0	64.0
<i>C. parapsilosis</i>	64.0	64.0	64.0
<i>C. krusei</i>	64.0	64.0	64.0
<i>C. tropicalis</i>	64.0	2.0	64.0

CIM 90- Concentração inibitória mínima para 90% dos isolados; IDN- Indivíduos com dentes naturais; UPT- Usuários de prótese total; TI- Totalidade dos indivíduos. ^a Suscetível, ^b Suscetível dose-dependente, ^c Intermediário, ^d Resistente.

Discussão

A prevalência de *Candida* spp na cavidade oral de usuários de prótese total é consideravelmente maior do que em indivíduos com dentes naturais (LYON et al., 2006) mesmo considerando que a presença de leveduras não implica necessariamente em manifestação clínica. Ambos os grupos foram comparados quanto ao

perfil de susceptibilidade e não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o perfil obtido para nenhum dos antifúngicos testados, exceto para itraconazol e fluconazol contra *C. glabrata*. A contínua exposição de leveduras do gênero *Candida* a antifúngicos pode alterar o padrão de susceptibilidade das amostras (KURIYAMA et al., 2005; RAUTEMAA et al., 2007). Além disso, o tratamento com antifúngicos pode levar a seleção de amostras não albicans resistentes a azólicos como *C. glabrata* e *C. krusei*.

Apesar de a maioria das drogas antifúngicas testadas neste trabalho não estarem disponíveis para a administração oral, dados sobre o perfil de susceptibilidade de isolados orais fornecem dados epidemiológicos e podem servir como guia para a prática clínica. Por outro lado, microrganismos de origem oral podem ser responsáveis por infecções disseminadas ou candidose severa. Nestes casos, o perfil de susceptibilidade poderia ser extrapolado.

O Itraconazol apresentou uma eficácia surpreendentemente baixa contra *C. albicans*. *C. glabrata* também foram resistentes a essa droga, o que já havia sido relatado por Pfaller et al. (2003) e Swoboda-Kopec et al. (2003). Considerando a alta prevalência da espécie *albicans* entre usuários de prótese total, estes resultados estão em desacordo com Cross et al. (2004) que defendem a eficácia do Itraconazol no tratamento da estomatite protética. Entretanto é importante ressaltar que o presente trabalho não desenvolveu estudos clínicos.

Os resultados obtidos para Anfotericina B foram consistentes com aqueles obtidos por outros autores (WINTERGER et al., 2007; GHANNOUM; RICE, 1999). O Voriconazol também apresentou boa eficácia contra as amostras testadas.

A terbinafina não apresentou bons resultados contra as amostras testadas, o que é corroborado por um número de autores (PETRANIY et al., 1987; RYDER; FAVRE, 1997). Por outro lado, Jessup et al, (2000) defendem o uso deste antifúngico contra leveduras. É possível que os resultados in vitro não correspondam à resposta in vivo.

Conclusão

A partir do presente trabalho é possível concluir que o resultado geral de testes de susceptibilidade antifúngica contra os isolados orais testados foi bastante satisfatório, exceto para a terbinafina. Este estudo pode fornecer dados epidemiológicos sobre a susceptibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas da cavidade oral de indivíduos saudáveis.

Referências

1. BARBEAU, J.; SÉGUIN, J.; GOULET, J.P.; KONINCK, L.; AVON, S.L.; LALONDE, B.; ROMPRÉ, P.; DESLAURIERS, N. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture related stomatitis. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodont. 95, 51-59, 2003.
2. CROSS, L.J.; WILLIAMS, D.W.; SWEENEY, C.P.; JACKSON, M.S.; LEWIS, M.A.O.; BAGG, J. Evaluation of the recurrence of denture stomatitis and *Candida* colonization in a small group of patients who received itraconazole. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodont. 97, 351-358, 2004.
3. GHANNOUM, M.A.; RICE, L.B. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. Clin. Microbiol. Rev. 12, 501-17, 1999.
4. HABERLAND-CARRODEGUAS, C.; ALLEN, C.M.; BECK, F.M.; BUESCHILING, W.J.; KOLETAR, S.L.; SUNDSTRON, P. Prevalence of fluconazole-resistant strains of *Candida albicans* in otherwise healthy outpatients. J.Oral Pathol. Med. 31, 99-105 2002.
5. JESSUP, C.J.; RYDER, N.S.; GHANNOUM, M.A. An evaluation of the in vitro activity of Terbinafine. Med. Mycol. 38, 155-159, 2000.
6. KURIYAMA, T.; WILLIAMS, D.W.; BAGG, J.; COULTER, W.A.; READY, D.; LEWIS, M.A.O. In vitro susceptibility of oral *Candida* to seven antifungal agents. Oral Microbiol. Immunol. 20, 349-353, 2005.
7. KURTZMAN, P.C.; FELL, J.W. The yeasts: a taxonomic study. Amsterdam: Elsevier, 1998.
8. LANFON, H.; AL-KARAAWI, Z.; MC COLLOUGH, M.; PORTER, S.R.; PRATTEN, J. Composition of in vitro denture plaques biofilms and susceptibility to antifungal. FEMS Microbiol. Lett. 242, 345-341, 2005.
9. LYON, J.P.; COSTA, S.C.; TOTTI, V.M.G.; MUNHOZ, M.F.; RESENDE, M.A. Predisposing conditions for *Candida* spp. carriage in the oral cavity of denture wearers and individuals with natural teeth. Canadian J. Microbiol. 52, 462-467, 2006.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard (NCCLS document M27-A2) Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
11. PETRANYI, G.; MEINGASSNER, J.G.; MIETH, H. Antifungal activity of the allylamine derivative Terbinafine in vitro. Antimicrob. Agents Chemother. 31, 1365-1368, 1987.
12. PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J.; MESSER, S.A.; BOYKEN, S.; HOLLIS, R.J.; JONES, R.N. *In vitro* activities of Voriconazole, Posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against *Candida* species infrequently isolated from blood. J.Clin. Microbiol. 41, 78-83, 2003.
13. RAMAGE, G.; TOMSETT, K.; WICHERS, B. L.; LOPEZ-RIBOT, J.L.; REDDING, S.W. Denture stomatitis: A role for *Candida* biofilms. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodont. 98, 53-59, 2004.
14. RAUTEMAA, R.; RICHARDSON, M.; PFALLER, M.; KOUKILA-KÄHKÖLÄ, P.; PERHEENTUPA, J.; SAXÉN, H. Decreased susceptibility of *Candida albicans* to azole antifungals: a complication of long-term treatment in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) patients. J. Antimicrob Chemother. 60, 889-892, 2007.
15. REX, J.H.; PFALLER, M.A.; WALSH, T.J.; CHATURVEDI, V.; ESPINEL-INGROFF, A.; GHANNOUM, M.A.; GOSEY, L.L.; ODDS, F.C.; RINALDI, M.G.; SHEEHAN, D.J.; WARNOCK, D.W. Antifungal susceptibility testing: Practical aspects and current challenges. Clin. Microbiol. Rev. 14, 643-658, 2001.
16. RYDER, N.S.; FAVRE, B. Antifungal activity and mechanism of action of Terbinafine. Pharmacotherapy. 8, 275-287, 1997.
17. SWOBODA-KOPEC, E.; WROBLEWSKA, M.; ROKOSZ, A.; KRAWCZYK, E.; LUCZAC, M. Susceptibility of clinical isolates of *Candida glabrata* to new triazoles. Int. J. Antimicrob. Agents. 21, 360-361, 2003.
18. WINTERGER, M.A.; GUILHERMETTI, E.; SHINOBU, C.S.; TAKAKI, I.; SVIDZINSKI, I.E. Microbiological identification and *in vitro* sensitivity of *Candida*. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 40, 272-276, 2007.