

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE BIOMEDICINA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM BIOMEDICINA**

**Perfil de suscetibilidade a antifúngicos de dermatófitos
isolados de pacientes com insuficiência renal crônica**

Cibele Massotti Magagnin

Porto Alegre, Julho de 2010.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE BIOMEDICINA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM BIOMEDICINA**

**Perfil de suscetibilidade a antifúngicos de dermatófitos
isolados de pacientes com insuficiência renal crônica**

Cibele Massotti Magagnin

Maria Lúcia Scroferneker
Orientadora

Cheila Denise Ottonelli Stopiglia
Co-orientadora

Porto Alegre, Julho de 2010.

*Aos meus pais, Mauri e Eliane,
Pela dedicação, apoio e amor incondicional.
Compartilho esta conquista com vocês.*

“ Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos ”

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar o meu caminho e permitir que eu realizasse esta conquista.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo ensino público, gratuito e de qualidade.

Aos meus pais pelo apoio e incentivo nas horas difíceis. Serei eternamente grata.

Aos meus irmãos, Amauri e Cinara, pelo carinho e compreensão.

Ao laboratório de Micologia Médica, em especial a Prof^a. Maria Lúcia Scroferneker por oportunizar a realização deste trabalho.

A minha co-orientadora Cheila, pela paciência, empenho, ensinamentos e companhia.

Aos que entraram na minha vida como colegas e hoje estão nela como amigos, Aline, Gabriel, Luana, Marcus e Taci.

As minhas amigas Caroline, Mariana e Rafaela, que comigo estiveram nos bons e maus momentos.

Ao meu namorado Gustavo pela compreensão, incentivo e carinho sempre demonstrado.

A todos que de alguma forma participaram desta conquista.

Muito Obrigada!

Sumário

Resumo	7
Introdução compreensiva	8
Dermatofitoses	
1. Epidemiologia	8
2. Aspectos Clínicos	9
2.1. <i>Tinea corporis</i>	10
2.2. <i>Tinea cruris</i>	10
2.3. <i>Tinea faciei</i>	10
2.4. <i>Tinea pedis</i>	10
2.5. <i>Tinea manus</i>	11
2.6. <i>Tinea capitis</i>	11
2.7. <i>Tinea barbie</i>	11
2.8. <i>Tinea ungueal</i>	11
2.8.1. Onicomicose subungueal distal e lateral	12
2.8.2. Onicomicose subungueal proximal	12
2.8.3. Onicomicose superficial branca	13
2.8.4. Infecção da região ungueal por leveduras do gênero <i>Candida</i>	13
2.8.5. Onicomicose distrófica total	14
3. Diagnóstico	14
4. Tratamento	15
4.1. Antifúngicos de uso tópico	15
4.2. Antifúngicos de uso oral	15
4.3. Alilaminas	16
4.4. Azóis	16
4.4.1. Azóis de administração oral	17
4.4.2. Azóis de administração tópica	17
4.5. Griseofulvina	17
4.6. Hidroxipiridonas	18
4.7. Morfolinas	18
4.8. Novos agentes antifúngicos	18
4.9. Tratamento combinado	19
5. Análise <i>in vitro</i>	19
Trabalho experimental: Perfil de suscetibilidade a antifúngicos de dermatófitos isolados de pacientes com insuficiência renal crônica ...	21
Conclusões e perspectivas	22
Referências	24

Resumo

Dermatófitos são um grupo de fungos com capacidade de invadir tecidos queratinizados capazes de causar infecções denominadas dermatofitoses. As espécies *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans* e *Epidermophyton floccosum* são as mais frequentemente relatadas como causadoras de infecção em humanos. Estudos tem demonstrado que pacientes com insuficiência renal crônica apresentam elevada prevalência de dermatofitoses, principalmente onicomicoses. Inserido nesse contexto, o presente estudo avaliou a atividade *in vitro* de nove antifúngicos comercialmente utilizados para tratamento de dermatofitoses contra 26 isolados clínicos de dermatófitos oriundos de pacientes com insuficiência renal crônica. Essa avaliação foi realizada através do método de microdiluição em caldo segundo o documento M38-A proposto pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*, com modificações para dermatófitos. Dentre os antifúngicos testados, a terbinafina e o tioconazol obtiveram os melhores resultados de sensibilidade e o fluconazol apresentou baixa atividade, especialmente para as amostras da espécie *M. gypseum*. O ciclopirox olamina, apesar de menos eficaz que a terbinafina, também mostrou resultados satisfatórios. De um modo geral, o perfil de sensibilidade dos antimicóticos testados seguiu o padrão de resultados mostrados por estudos anteriores, ratificando a necessidade de conhecimento da espécie causadora da dermatofitose, devido à variação do perfil de suscetibilidade entre as espécies. Além disso, os resultados obtidos reforçam a importância de realizara avaliação da atividade antifúngica *in vitro* principalmente em isolados de pacientes com insuficiência renal crônica, imunocomprometidos e com micoses superficiais associadas a falha terapêutica, visto que isolados de uma mesma espécie podem apresentar suscetibilidades distintas a um mesmo antimicótico.

Introdução explicativa

Dermatofitoses

Dermatofitoses são infecções fúngicas superficiais causadas por fungos dermatófitos, os quais são um grupo especializado de fungos que acometem o tecido queratinoso de seres humanos e outros vertebrados, causando infecções superficiais. Podem ser classificados como zoofílicos, antropofílicos ou geofílicos, dependendo de sua fonte primária de infecção (animal, humana ou solo).¹ A infecção por fungos dermatófitos em seres humanos parece ser tão antiga quanto a história da humanidade. Segundo Greer,² a existência de fungos queratinofílicos saprófitas remanesce da era Mesozóica. Assim, podemos concluir que as dermatofitoses acompanham a própria existência dos seres humanos.³

Em 1890, Sabouraud começou o estudo sistemático de dermatófitos e Emmons em 1934, classificou esses fungos em apenas três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. Estes avanços no conhecimento das dermatofitoses foram importantes pilares no desenvolvimento da micologia médica, porque estes foram os primeiros fungos patogênicos humanos a serem reconhecidos.⁴

1. Epidemiologia

Das diferentes espécies de dermatófitos conhecidas, a grande maioria está taxonomicamente classificada em três gêneros anamórficos: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*.⁵ As espécies mais frequentemente relatadas como causadoras de infecção em humanos são *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans* e *Epidermophyton floccosum*,⁶ as quais estão distribuídas geograficamente de maneira universal. Existem espécies que apresentam restrição geográfica parcial, tais como *T. schoenleinii* (Eurásia e África), *T. soudanense* (África), *T. violaceum* (África, Ásia e Europa), e *T. concentricum* (Ilhas do Pacífico, Extremo Oriente e Índia). A epidemiologia da infecção por dermatófitos é provavelmente alterada com a mudança dos

padrões de migração, crescimento do turismo e mudanças nas condições sócio-econômicas.⁷⁻⁹

Estudos epidemiológicos indicam que infecção por dermatófitos está dentre as mais prevalentes no mundo, sendo considerada a segunda doença de pele mais frequente na população adulta,^{2,10} visto que afeta 20-25% da população mundial e sua incidência continua a crescer.¹¹ Nos últimos anos, o número de infecções causadas por estes fungos aumentou consideravelmente provocando preocupação especial quando acometem pacientes imunocomprometidos, nos quais as manifestações podem ser atípicas e graves, produzindo extensas lesões.¹²

Dentre os fatores de risco associados com a dermatofitose incluem-se o aumento da idade, imunossupressão, histórico familiar para diabetes mellitus, doença vascular periférica, distúrbios relacionados com a pele como hiperidrose e psoríase, uso de calçados apertados e traumas nas unhas.¹³ Inserido nesse contexto, estudos tem demonstrado que pacientes com insuficiência renal crônica apresentam elevada prevalência de dermatofitoses. Além disso, tais pacientes exibem alterações cutâneas como xerose, prurido, hiperpigmentação, equimoses e alterações ungueais. A suscetibilidade as alterações ungueais nestes indivíduos podem ocorrer devido a alterações histológicas e diminuição da imunidade causada pela uremia.¹⁴

2. Aspectos clínicos

Os aspectos clínicos das dermatofitoses são muito variáveis e resultam da combinação da destruição da queratina com a resposta inflamatória do hospedeiro. Fatores importantes que levam a diferentes formas clínicas são o tipo de fungo invasor (fungos zoofílicos tendem a causar uma reação inflamatória mais intensa do que antropofílicos), o estado imunológico do hospedeiro e, principalmente, a queratinização do local afetado. Visto que diferentes espécies possuem predileção por diversos locais do organismo, as dermatofitoses são caracterizadas conforme o local em que ocorre a infecção.¹ Desta forma, pode-se fazer uma divisão das principais infecções da pele glabra (*tinea corporis*, *tinea cruris*, *tinea faciei*), da pele altamente queratinizada (palmas das mãos e plantas dos pés), da

pele rica em folículos pilosos (*tinea capitis*, *tinea barbae*) e das unhas (onicomicoses).¹⁵

2.1. *Tinea corporis*

Esta micose é típica da pele glabra exposta e pode ser causada por todas espécies de dermatófitos conhecidas. Por isso, a prevalência do agente causador dessa infecção apresenta variação geográfica. A lesão característica é circular, geralmente bem delimitada e de coloração rosa. À medida que a lesão progride, ela assume forma anular. Entretanto, algumas espécies causam lesões com aspectos distintos aos descritos. Infecções por *T. rubrum* podem causar lesões extensivas, crônicas e de característica não inflamatória.^{16,17}

2.2. *Tinea cruris*

Esta infecção é caracterizada pela reação inflamatória crônica da pele da região inguinal. É uma infecção comum com maior incidência em climas quentes, sendo que adultos são mais acometidos do que crianças. *T. rubrum* é o agente etiológico mais frequente, mas *T. interdigitale* também podem causar essas infecções.¹⁶

2.3. *Tinea faciei*

Esta infecção tem um aspecto muito parecido com o da *tinea corporis*, mas sua região de acometimento é a face. As lesões podem ter o aspecto típico de *tinea corporis*, entretanto, a descamação do local atingido é menos pronunciada. Os agentes causais variam de acordo com as regiões geográficas, mas em geral, a origem da infecção é zoofílica ou é a extensão de uma infecção de outra região do corpo.¹⁷

2.4. *Tinea pedis* (micose do pé, pé de atleta)

Tinea pedis é a forma mais comum de infecções por dermatófitos em países desenvolvidos, sendo a forma interdigital o subtipo mais frequente. Em geral, essa infecção acomete a região entre os dedos dos pés e a apresentação clínica pode ser caracterizada pelo ressecamento, descamação e fissuras ou por esbranquiçamento da região afetada. Irritação

e prurido são frequentemente presentes. Em alguns casos, a infecção pode se estender até a superfície dorsal do pé e apresenta-se como *tinea corporis* típica, com o avanço da lesão.^{17,18}

2.5. *Tinea manus*

A micose da palma das mãos (*tinea manus*) é muito rara e geralmente afeta apenas uma das mãos. Se ambas as mãos forem afetadas, utiliza-se o termo *tinea manuum*. A espécie *T. rubrum* é o agente etiológico mais comum e na maioria dos casos, há uma infecção pré-existente no pé, com ou sem envolvimento ungueal.^{15,17}

2.6. *Tinea capitis*

Tinea capitis é a dermatofitose cuja epidemiologia mudou de forma significativa, especialmente em países ocidentais. Em muitos países do mundo, *tinea capitis* é a micose superficial mais comum em crianças.¹⁹⁻²³ Atualmente sua incidência tem aumentado e ocorreram mudanças significativas nas espécies responsáveis por esta infecção, visto que na maioria dos países europeus, o *M. audouinii* foi substituído pelo *M. canis*.²⁴ A lesão inicial é uma pequena pápula vermelha em torno do folículo piloso do cabelo, e com a progressão da lesão, torna-se mais pálida e escamosa, podendo resultar em alopecias.^{15, 25}

2.7. *Tinea barbae*

Na maioria dos casos, os fungos *T. verrucosum* e *T. mentagrophytes* são responsáveis por esse tipo de infecção na barba e nas sobrancelhas. Essa infecção acomete homens adultos e o quadro clínico se caracteriza por uma reação inflamatória intensa.¹⁵

2.8. *Tinea ungueal* (onicomicose)

A onicomicose é uma infecção fúngica crônica que afeta as unhas, causada por dermatófitos, fungos filamentosos não-dermatófitos e leveduras (principalmente espécies do gênero *Candida*) e é uma das doenças mais comuns em muitos países. Em 80% dos casos de onicomicose, o acometimento afeta as unhas dos pés e *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* são

as espécies causadoras da infecção em mais de 90% dos casos.^{26, 27} Cinco tipos de onicomicoses, caracterizadas de acordo com apresentação clínica e a via de invasão, são conhecidas: onicomicose subungueal distal e lateral, superficial branca, subungueal proximal, por candidíase e distrófica total.^{25,26}

2.8.1. Onicomicose subungueal distal e lateral

A maioria dos casos de onicomicose subungueal distal e lateral é devido a infecção por dermatófitos. Esse tipo de onicomicose geralmente afeta o hiponíquio, nas bordas laterais, e segue proximalmente ao longo do leito, resultando em hiperqueratose e onicólise (descolamento da lâmina ungueal do leito ungueal). Este espaço subungueal pode servir como um reservatório de bactérias e fungos, que darão aspecto marrom amarelado a lesão. Onicomicose subungueal distal e lateral pode desenvolver-se nas unhas das mãos, dos pés ou ambas, e a principal espécie causadora da infecção é *T. rubrum*. Entretanto, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* e *E. floccosum* também são conhecidos por serem agentes causadores.^{28, 29}

2.8.2. Onicomicose subungueal proximal

Essa infecção é também conhecida como onicomicose subungueal proximal branca e é um subtipo relativamente raro que ocorre quando microrganismos invadem a unha através da cutícula, penetram na lâmina ungueal e migram para a porção distal. A apresentação clínica inclui hiperqueratose subungueal, onicólise proximal, leuconíquia e destruição da lâmina ungueal proximal. No Brasil, *T. rubrum* é o principal agente causador da onicomicose subungueal proximal. Embora essa infecção seja de ocorrência rara na população em geral, sua frequência aumenta em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (AIDS), sendo considerado um marcador clínico precoce de infecção por HIV. A infecção também pode ocorrer ocasionalmente secundária a trauma e, além disso, condições tais como doença vascular periférica e diabetes também podem se apresentar desta maneira.^{25, 30}

2.8.3. Onicomicose superficial branca

Ocorre quando certos fungos invadem diretamente a camada superficial da lâmina ungueal. Mais tarde, a infecção pode mover-se através da lâmina ungueal para infectar a camada queratinizada (leito e o hiponíquio). Esse tipo de onicomicose pode ser reconhecida pela presença de opacidades bem delineadas, conhecidas como "ilhas brancas" na placa ungueal externa, que se aglutinam e se espalham conforme a doença progride. Nestes locais, a unha fica áspera, maleável e friável. Geralmente não há foco de inflamação, pois o tecido viável não está envolvido. A onicomicose branca superficial ocorre principalmente nas unhas dos pés e *T. mentagropytes* é o agente etiológico mais comum.^{26,29}

2.8.4. Infecção da região ungueal por leveduras do gênero *Candida*

É causada principalmente por *C. albicans* e pode apresentar-se de quatro maneiras: paroníquia crônica com distrofia ungueal secundária, infecção ungueal, candidíase mucocutânea crônica e candidíase secundária.

A paroníquia crônica das unhas geralmente ocorre em pacientes que exercem atividade com água. Tais práticas, quando crônicas, propiciam o inchaço da prega posterior da unha resultando no desprendimento da cutícula. Dessa forma, a unha perde as suas propriedades à prova d'água e microrganismos como leveduras e bactérias invadem o espaço subcuticular podendo causar infecções. Já a infecção e inflamação na área da matriz ungueal por leveduras do gênero *Candida* caracteriza-se por causar distrofia ungueal proximal. Embora onicomicose por *Candida* spp. não pode ser diferenciada clinicamente de onicomicose distal e subungueal lateral, a ausência de comprometimento da unha e um menor grau de hiperqueratose subungueal são recursos úteis para diferenciação de diagnóstico. Candidíase mucocutânea crônica é de etiologia multifatorial e acomete geralmente pacientes imunocomprometidos. Os sinais clínicos variam de acordo com a gravidade da imunossupressão, mas em casos mais graves há o espessamento das unhas. A onicomicose por candidíase secundária ocorre como consequência de outras doenças do aparelho ungueal, principalmente psoríase.^{26,29}

2.8.5. Onicomicose distrófica total

Qualquer das variedades acima de onicomicose pode eventualmente evoluir para distrofia ungueal total, onde a lâmina ungueal é quase totalmente destruída.²⁶

3. Diagnóstico

Dermatofitose pode não ser facilmente diagnosticada apenas com base nas manifestações clínicas, dado que inúmeras patologias podem apresentar características semelhantes a esse tipo de infecção. Entretanto, a identificação dessa infecção é necessária não só para o diagnóstico correto, mas também para as estratégias terapêuticas a serem adotadas.^{31,32} Assim, o diagnóstico diferencial das dermatofitoses inclui dermatite seborréica, dermatite atópica, dermatite de contato, psoríase, candidíase, eritrasma e eczema.³³ Além disso, é mais difícil diagnosticar dermatofitose em pacientes imunodeprimidos, pois as apresentações clínicas são frequentemente atípicas.³⁴

Dessa forma, além da observação das condições dermatológicas, o exame micológico direto é forma de diagnóstico rápido das dermatofitoses e o exame cultural identifica o agente etiológico da infecção. Para tanto, é importante que se faça uma coleta adequada do material, pois o resultado da análise laboratorial depende diretamente da qualidade (presença de estruturas fúngicas) na amostra clínica.³ Entretanto, este tipo de diagnóstico apresenta limitações, pois muitas vezes, os fungos não crescem em cultura, cujo tempo de espera é cerca de uma a três semanas. Recomenda-se a realização de pelo menos duas amostras sequenciais para melhorar a precisão do diagnóstico micológico, principalmente antes de iniciar o tratamento antifúngico oral.³⁵ Além disso, isolados de pacientes em tratamento com antifúngicos geralmente não apresentam cultura com morfologia característica.

Recentemente, técnicas com base na biologia molecular, tais como PCR seguido de *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), PCR em tempo real e PCR multiplex foram adaptados para a detecção de dermatófitos a partir de amostras clínicas. Esses métodos moleculares apresentam um bom potencial para a detecção direta de dermatófitos a partir

de isolados clínicos, porém estas técnicas requerem laboratórios bem equipados e ainda não estão padronizadas para a rotina dos laboratórios clínicos.³⁶⁻³⁸

4. Tratamento

Agentes de uso tópico são as escolhas mais frequentes para tratamento de dermatofitoses. Entretanto, nos casos de *tinea unguium* e *tinea capitis*, bem como em pacientes imunocomprometidos a via mais recomendada é a oral.³ Entre os agentes de uso tópico destacam-se diversos antimicóticos imidazólicos e seus derivados, agentes morfolínicos (amorolfina), alilamínicos (terbinafina, naftifina e butenafina), hidroxipiridonas (ciclopirox olamina e piroctona olamina) e outros agentes representantes de várias classes de medicamentos.³⁹ Para uso oral, os antimicóticos de escolha preferencial são os derivados azólicos cetoconazol, itraconazol e fluconazol, a alilamina terbinafina e a griseofulvina.^{3, 40}

4.1. Antifúngicos de uso tópico

A preferência por tratamentos com antimicóticos de uso tópico está associada as infecções que não acometem grandes áreas.⁴¹ Alguns autores consideram que esse tipo de terapia só é eficaz quando realizada nos estágios iniciais da infecção.⁴² Para onicomicoses, por exemplo, o fracasso terapêutico com uso de agentes tópicos pode chegar a 85% dos casos. Em geral, os resultados obtidos com esse tipo de terapia podem ser melhorados mediante associação com tratamentos que utilizam medicações antimicóticas de uso oral. Em termos terapêuticos, a utilidade do tratamento com antifúngicos de uso tópico é indicada como profilaxia ou nos casos em que há contraindicação da administração oral.^{39, 43, 44}

4.2. Antifúngicos de uso oral

O tratamento com terapia oral é recomendado para pacientes que apresentam fracasso terapêutico através da administração de antifúngicos de uso tópico e nesses casos, pode ocorrer associação de antifúngicos. Entretanto, não ocorre aumento no espectro de ação, mas a potencialização do efeito terapêutico. De uma forma geral, a escolha do tratamento por via

oral produz melhores resultados que o tratamento tópico, porém, a eliminação por via hepática e renal da maioria dos antifúngicos é uma das desvantagens que esse tipo de terapia apresenta.^{39, 44}

4.3. Alilaminas

Os antifúngicos desta classe tem mecanismo de ação fundamentado na inibição seletiva da enzima esqualeno epoxidase, a qual está envolvida na síntese do ergosterol, um constituinte da membrana celular fúngica.⁴⁵ Fármacos desta classe desempenham tanto ação fungicida quanto fungistática. Terbinafina, principal representante, é o antifúngico de escolha para tratamento de fungos dermatófitos que causam onicomicoses, *tinea unguium* e *tinea capitis*.³ apresentando elevada atividade frente a fungos dermatófitos, bem como contra fungos filamentosos, dimórficos e dematiáceos, e algumas espécies de levedura.⁴⁶ A formulação tópica da terbinafina é rapidamente absorvida pela pele, tecido adiposo e unhas, devido ao caráter lipofílico da molécula. Quando utilizada na forma oral, o mecanismo de ação deste antifúngico não interfere com enzimas dependentes do citocromo P450, mas os efeitos adversos causados pela utilização deste antifúngico são alterações cutâneas, gastrointestinais leves e outras de maior importância como disfunção hepática, sendo contraindicada para pacientes com tal disfunção, pois nesta condição os níveis plasmáticos do fármaco são aumentados de forma imprevisível.⁴⁷

4.4. Azóis

O mecanismo de ação deste grupo de antifúngicos se restringe a inibição da enzima lanosterol-14- α -demetilase, um sistema enzimático microssomal dependente do citocromo P450. Essa inibição prejudica a síntese do ergosterol na membrana citoplasmática e acarreta no acúmulo de 14- α -metilesteróis, os quais não possuem a mesma forma e propriedades físicas que o ergosterol e levam a formação da membrana com propriedades alteradas, não desempenhando as funções básicas necessárias ao desenvolvimento do fungo. Podem ter ação fungicida ou fungistática dependendo do fármaco e da dose de tratamento.⁴⁵ Os representantes dessa classe de antimicótico atuam mais lentamente se comparados com os

poliênicos (anfotericina B e nistatina) e possuem seletividade maior para as membranas fúngicas do que para as membranas dos mamíferos, o que garante menor toxicidade. Além disso, alguns representantes como o itraconazol, por exemplo, apresentam acentuado caráter lipofílico, o que facilita o acúmulo de moléculas ativas dentro do estrato córneo da pele.^{39,47}

4.4.1. Azóis de administração oral

Cetoconazol, itraconazol e fluconazol, três derivados azólicos de absorção oral. Os dois primeiros são lipofílicos e terceiro é hidrofílico. Eles apresentam um espectro de atividade muito semelhante contra fungos dermatófitos, porém, para outras espécies de fungos, o seu espectro de ação e sua farmacodinâmica são diferenciados.³

4.4.2. Azóis de administração tópica

O tioconazol é um antifúngico com amplo espectro de ação, ativo frente a leveduras, fungos filamentosos dermatófitos e não dermatófitos e também bactérias. Apresenta perfil de atividade superior ao do miconazol e é principalmente eficaz para tratamento de micoses com infecção secundária por bactérias.³⁹

O miconazol é indicado para tratamento de onicomicoses causadas pelo gênero *Candida*, bem como para profilaxia de dermatofitoses, com a finalidade de evitar reinfecções.^{39, 42}

4.5. Griseofulvina

O mecanismo de ação deste antimicótico se fundamenta na alteração da síntese da parede celular do fungo e na interferência na estrutura e função dos microtúbulos, o que resulta em um efeito inibitório da reprodução celular. O fármaco acumula-se preferencialmente em células precursoras de queratina, onde proporciona o aumento da resistência dessa proteína ao ataque dos fungos queratinofílicos. Sua atividade fungistática só é ativa sobre fungos dermatófitos^{39,49}

4.6. Hidroxipiridonas

Fármacos desta classe, como o cicliporox olamina e a piroctona olamina, são substâncias que atuam como bloqueadoras da reprodução celular. São antifúngicos de rápida absorção por via oral e a eliminação se dá por via renal. Na formulação em creme ou gel, a atividade desses fármacos é vista em leveduras, fungos dermatófitos e outros fungos filamentosos.^{39,48}

4.7. Morfolinas

A amorolfina, principal representante desta classe de antimicóticos, é uma substância de amplo espectro e elevada atividade antifúngica para o tratamento de onicomicoses. Ensaio clínico relatam que a acurácia de onicomicoses tratadas com amorolfina varia entre 60 e 76%. Sua principal vantagem é a capacidade de atuar sobre estruturas de resistência dos fungos, e por isso, reduz o risco de recidivas.³⁹

4.8. Novos antifúngicos

Na última década, as investigações sobre novos antifúngicos tem se concentrado em melhorar antigas formulações e torná-las menos tóxicas, além de desenvolver novos fármacos a partir das estruturas já conhecidas. A partir da primeira geração de triazólicos surgem o voriconazol, o ravuconazol e o posaconazol classificados como a segunda geração de triazólicos, sendo mais potentes e com amplo espectro de ação sobre leveduras e fungos filamentosos.⁵⁰ Com aprovação concedida em 2002, o voriconazol é estruturalmente relacionado ao fluconazol e também possui biodisponibilidade clinicamente relevante após administração oral, pois não sofre degradação pelo pH gástrico. Com características farmacocinéticas complexas, o voriconazol apresenta extensa metabolização hepática, meia-vida estimada em aproximadamente 24 horas com doses de 4-6 mg/kg endovenosa duas vezes ao dia,^{50,51} além de atingir concentrações terapêuticas no líquido cefalorraquidiano, sendo sugerido como potencial alternativa terapêutica para tratamento de meningite criptocócica.⁵²

A síntese de novos derivados triazólicos como o KP-103, o qual apresenta boa atividade *in vitro*, tem proporcionado uma alternativa para o

tratamento de infecções fúngicas por via tópica. Alguns ensaios de *tinea unguium* em modelos animais tem revelado uma atividade superior desta molécula em comparação com a terbinafina oral e a amorolfina tópica. De forma semelhante, o óxido de cariofilina, molécula utilizada como conservante alimentar, também tem mostrado atividade em modelos animais de onicomicoses.^{39, 53}

4.9. Tratamento combinado

A combinação de antifúngicos tem produzido avanços no tratamento de infecções fúngicas, principalmente graves e múltiplas. São descritas associações de terbinafina e itraconazol oral administrados de forma consecutiva; administração tópica de tioconazol e griseofulvina oral; ciclopirox olamina e terbinafina; amorolfina e griseofulvina; entre outras combinações. Algumas dessas combinações tem efeito sobre estruturas de resistência dos fungos dermatófitos, entretanto, todas elas apresentam evidências de melhora das infecções, quando comparado com tratamento oral convencional com apenas um antifúngico⁵⁴

5. Atividade *in vitro*

Dentre as metodologias utilizadas para realização de testes de suscetibilidade a antimicrobianos, o teste de disco-difusão é o teste de escolha para avaliar patógenos comuns e de crescimento rápido. Entretanto, testes de disco-difusão baseados apenas na presença ou ausência de um halo de inibição, sem consideração do tamanho do halo, não são aceitáveis.⁵⁵

Além disso, essa metodologia depende diretamente da difusão do agente antimicrobiano no meio de cultura, o que se torna bastante problemático para fármacos lipossolúveis, como a maioria dos antifúngicos. Considerando esta metodologia e os agravos na evolução das doenças fúngicas humanas tornou-se imprescindível o aperfeiçoamento das metodologias laboratoriais para determinação das suscetibilidades *in vitro* dos diferentes patógenos frente aos agentes antifúngicos disponíveis para uso clínico. A possibilidade de prever um insucesso terapêutico revela a importância da correlação entre um ensaio de suscetibilidade e a resposta

clínica. Estes testes também podem ser utilizados para descoberta de novos fármacos e estudos epidemiológicos.⁵⁶

Em diversos estudos realizados, métodos como macro e microdiluição em caldo, diluição em ágar, Etest[®] e disco-difusão foram utilizados para determinar a suscetibilidade de dermatófitos frente a agentes antifúngicos. Entretanto, em 2002, o *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) padronizou um método de microdiluição em caldo para testes de suscetibilidade de agentes antifúngicos contra alguns fungos filamentosos. Esta padronização está descrita no documento M38-A, porém, fungos dermatófitos não foram incluídos. Apesar de não existir uma técnica recomendada para avaliar testes de suscetibilidade a antifúngicos contra dermatófitos, vários estudos *in vitro* foram realizados com metodologia semelhante à descrita pelo protocolo M38-A, mas com alguns parâmetros como temperatura, tempo de incubação, meio de cultura e concentração do inóculo adaptados a esses fungos.^{57- 61} No entanto, embora tenham ocorrido tentativas de padronização desta metodologia, os dados obtidos ainda não permitiram correlacionar de forma segura os valores encontrados nestes ensaios *in vitro* com a resposta *in vivo*. Dessa forma, faz-se necessário mais estudos aplicando esta metodologia para que tais objetivos possam ser atingidos.

**Este artigo foi elaborado segundo as normas da
“Latin American Journal of Pharmacy”**

Conclusões e perspectivas

Uma definição clara sobre quais concentrações inibitórias mínimas podem correlacionar suscetibilidade *in vitro* de espécies de dermatófitos aos antifúngicos com a resposta clínica da infecção ainda é uma lacuna a ser preenchida. Além disso, a falta de padronização de uma técnica para ensaios de suscetibilidade *in vitro* de dermatófitos dificulta o estabelecimento de conceitos relacionados com sensibilidade ou resistência de isolados testados.

Embora os pontos de corte para determinar a resistência de dermatófitos aos diferentes antifúngicos não sejam conhecidos com precisão, nesse estudo foram considerados os parâmetros estabelecidos pelo documento M38-A do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) para fungos filamentosos. A partir disso, os ensaios realizados demonstraram variação no perfil de sensibilidade aos antifúngicos testados, visto que para as espécies *M. canis* e *T. mentagrophytes* os melhores resultados referem-se a terbinafina. Já a espécie *M. gypseum* apresentou elevada sensibilidade ao tioconazol. Os isolados de *T. interdigitale*, por sua vez, obtiveram as melhores médias geométricas para a terbinafina, seguido do tioconazol, cetoconazol e miconazol. Para os isolados clínicos da espécie *T. rubrum* os resultados mais expressivos referem-se a terbinafina e ao tioconazol. Além disso, os ensaios realizados demonstraram a problemática do uso de alguns agentes azóis, dada a elevada taxa de resistência para cetoconazol, itraconazol e fluconazol. Nosso estudo mostrou também a eficácia da terbinafina e a variação no perfil de suscetibilidade a um mesmo antifúngico entre as espécies, e até mesmo entre isolados de uma mesma espécie.

Assim, considerando os dados relatados, a importância do presente estudo está em poder auxiliar no desenvolvimento de um método de referência para avaliação do perfil de suscetibilidade de dermatófitos, visto que nossos resultados contribuem para o crescimento de um banco de dados de testes de atividade antifúngica *in vitro* de dermatófitos, utilizando parâmetros semelhantes aos já descritos. Além disso, os resultados obtidos ratificam a relevância da análise *in vitro* do perfil de sensibilidade a

antifúngicos de dermatófitos isolados de pacientes com insuficiência renal crônica, imunocomprometidos e com micoses superficiais associadas a falha terapêutica, considerando as diferenças obtidas no perfil de sensibilidade a antifúngicos dentro da mesma espécie.

Como perspectiva, o objetivo é aumentar o número de isolados clínicos de fungos dermatófitos a fim de obter-se resultados mais expressivos. Posteriormente, a atividade antifúngica será realizada com a combinação de fármacos antimicóticos, visando representar laboratorialmente as possíveis combinações a antifúngicos que podem poder utilizadas na prática clínica para melhorar a eficácia do tratamento das dermatofitoses.

Referências

1. Mims; Playfair; Roitt; Wakelin; Williams. *Microbiologia Médica*. Ed. Manole LTDA. São Paulo, 1. ed. 1995. p. 28.14.
2. Greer DL. An overview of common dermatophytes. *J Am Acad Dermatol*. 1994; 31:S112-6.
3. Rubio MA, Rezusta A, Tomás JG, Ruesca RB. Perspectiva micológica de los dermatofitos en el ser humano. *Rev Iberoam Micol*. 1999; 16:16-22
4. Negroni, R. Historical aspects of dermatomycosis. *Clin Dermatol*. 2010; 28(2):125-32.
5. Santo JL., Negri C M, Wagner DC, Philipi R, Nappi BP, Coelho MP. Some aspects of dermatophytoses seen at University Hospital in Florianopolis, Santa Catarina, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop*. 1997; 39:137-40.
6. Rezende C, Borsari GP, Da Silva AC, Cavalcanti FR. Dermatophytosis epidemiologic study in public institution of Barretos city, São Paulo, Brazil. *Rev Bras An Clin*. 2008, 40(1):13-6.
7. Ellabib MS, Khalifa Z, Kavanagh K. Dermatophytes and other fungi associated with skin mycoses in Tripoli, Libya. *Mycoses*. 2002; 45:101-4.
8. Morar N, Dlova NC, Gupta AK, Aboobaker J. *Tinea capitis* in Kwa-Zulu Natal, South Africa. *Paediatr Dermatol*. 2004; 21:444-7.
9. Woldeamanuel Y, Leekassa R, Chryssanthou E. Prevalence of *tinea capitis* in Ethiopian school children. *Mycoses*. 2005; 48:137-41.
10. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller M.A., Rosenthal KS. Superficial, cutaneous and subcutaneous mycosis. In: *Microbiol Med*. 1994; 404-37.

11. Ameen M. Epidemiology of superficial fungal infections. *Clin Dermatol.* 2010; 28: 197–201.
12. Fernández-Torres AJ, Carrillo E, Martin A, Del Palacio MK, Moore A, Valverde M, Serrano, Guarro J. *In vitro* activities of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains. *Antimicrob Agents Ch.* 2001; 45(9):2524-8.
13. Mazón A, Salvo S, Vives R, Valcayo A, Sabalza MA . Estudio etiológico y epidemiológico de las dermatofitosis en Navarra. *Rev Iberoam Micol.* 1997; 14: 65-8
14. Kuvandik G, Cetin M, Genctoy G. The prevalence, epidemiology and risk factors for onychomycosis in hemodialysis patients. *BMC Infect Dis.* 2007; 7:102-106
15. Degreef H. Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). *Mycopathologia.* 2008; 166(5-6):257-65.
16. Bolognia JL, Bolognia J; Bylaws Task Force. Proposed revisions to bylaws of the International Society of Dermatology. *Int J Dermatol.* 2009; 48(2):196-200.
17. Degreef H, De Doncker P, editors. Fighting fungal infections around the globe. Itraconazole in perspective. Kent: Wells medical holdings;2000. p. 57–89
18. Leyden JJ. Progression of interdigital infections from simplex to complex. *J Am Acad Dermatol.* 1993; 28(5):7–11.
19. Cantrell WC, Jacobs MK, Sobera JO, Parrish CA, Warner J, Elewski BE. *Tinea capitis* in Birmingham: Survey of Elementary School Students. *Pediatr Dermatol.* 2010; *In press.*

20. Del Boz J, Crespo V, Rivas-Ruiz F, De Troya M. A 30-year survey of paediatric *tinea capitis* in southern Spain. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010; *In press*.
21. Rook A, Dawber R. Ringworm of the scalp. In: Infections and infestations: diseases of the hair and scalp. London: Blackwell Scientific Pub; 1982. p. 367–85.
22. Elewski BE. *Tinea capitis*: a current perspective. *J Am Acad Dermatol*. 2000; 42:1–20.
23. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Tinea capitis* in dermatophytosis and other superficial mycosis. In: *Principles and practice of infectious disease*. New York: Churchill Livingstone; 1995: 2379–82.
24. Ang CC, Tay YK. Inflammatory *tinea capitis*: non-healing plaque on the occiput of a 4-year-old child. *Ann Acad Med Singapore*. 2010; 39(5):412-4.
26. Roberts DT, Taylor WD, Boyle J. Guidelines for treatment of onychomycosis. *Br J Dermatol*. 2003; 148:402–10.
25. Elewski BE. Onychomycosis: Pathogenesis, diagnosis and management. *Rev Clin Microbiol*. 1998; 11(3): 415–29.
27. Bueno JG, Martinez C, Zapata B, Sanclemente G, Gallego M, Mesa AC. *In vitro* activity of fluconazole, itraconazole, voriconazole and terbinafine against fungi causing onychomycosis. *Clin Exp Dermatol*. 2009; *In press*.
28. Elewski BE. Large scale epidemiological study of the causal agents of onychomycosis: mycological findings from the multicenter onychomycosis study of terbinafine. *Arch Dermatol*. 1997;133:1317–8.
29. Cohen JL, Scher RK, Pappert AS. *The nail and fungus infections*. 1992., p.106–122.

30. Aly R, Berger T. Common superficial fungal infections in patients with AIDS. *Clin Infect Dis*. 1996; 22(S2):128–32.
31. Shiraki Y, Soda N, Hirose N, Hiruma M. Screening examination and management of dermatophytosis by *Trichophyton tonsurans* in the Judo Club of a University. 2004; 45:7–12.
32. Urano S, Shirai S, Suzuki Y, Sugaya K, Takigawa M, Mochizuki T. A case of *tinea capitis* caused by *Trichophyton tonsurans*. *J Med Mycol*. 2003; 44:25–9.
33. Barry I, Hainer MD. Dermatophyte infections. *Am fam phys*. 2003; 67:101–8.
34. Odom RB. Common superficial fungal infections in immunosuppressed patients. *J Am Acad Dermatol*. 1994; 31:56–9.
35. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p. 252-352
36. Yang G, Zhang M, Li W, An L. Direct species identification of common pathogenic dermatophyte fungi in clinical specimens by semi-nested PCR and Restriction Fragment Length Polymorphism. *Mycopathologia*. 2008; 166:203–8.
37. Arabatzis M, Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Kuijper EJ, de Hoog GS, Lavrijsen AP, Templeton K, Raaij-Helmer EM van der, Velegraki A, Gräser Y, Summerbell RC. *Diagnosis of common dermatophyte infections by a novel multiplex real-time Polymerase Chain Reaction detection/identification scheme*. *Br J Dermatol*. 2007; 157:681–9.

38. Brillowska DA, Saunte DM, Arendrup MC. Five-hour diagnosis of dermatophyte nail infections with specific detection of *Trichophyton rubrum*. *J Clin Microbiol.* 2007; 45:1200–4.
39. Muñoz-Carrillo AJ, Tur Tur C, Hernández- Molina JM, Santos P, Cárdena D, Giusiano G. Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales. *Rev Iberoam Micol.* 2010; 27(2):49–56.
40. Fernández-Torres B, Cabañes FJ, Carrillo-Munõz AJ, Esteban AI, Inza, L. Abarca & J. Guarro. Collaborative evaluation of optimal antifungal susceptibility testing conditions for dermatophytes. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:3999-4003
41. Gupta AK, Carney PS, Jegasothy SM, Turner JE, Werschler WP, Epstein B. Onychomycosis: management and treatment. *Cutis.* 2004; 74:16–25.
42. Del Palácio A, Garau M, Cuétara MS. Tratamiento actual de las dermatofitosis. *Rev Iberoam Micol.* 2002; 19:69–71.
43. Baran R, Gupta AK, Piérard GE. Pharmacotherapy of onychomycosis. *Expert Opin Pharmacother.* 2005; 6:609–24.
44. Baran R, Kaoukhov A. Topical antifungal drugs for the treatment of onychomycosis: an overview of current strategies for monotherapy and combination therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2005; 19:21–9.
- 45 Bennett, JE. Fármacos antimicrobianos: fármacos antifúngicos. *Goodman & Gilman. As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 10 ed., Rio de Janeiro, McGraw- Hill, 2003. cap. 43, p. 859-875
46. Balfourds JA, Fauls D. Terbinafine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic, properties, and therapeutic potential in superficial mycoses. *Drugs.* 1992; 43:259-84.

47. Barak O, Loo DS. AN-2690, a novel antifungal for the topical treatment of onychomycosis. *Curr Opin Investig Drugs*. 2007; 8:662–8.
49. Bellmann R. Clinical pharmacokinetics of systemically administered anti-mycotics. *Curr Clin Pharmacol*. 2007; 2:37–58
50. Carrillo-Muñoz AJ, Brió S, Quindós G. Una nueva generación de fármacos antifúngicos. *Rev Iberoam Micol*. 2001; 8:2-5.
51. Chen SCA, Sorrel TC. Antifungal agents. *Medical J Aust*. 2007; 187(7): 404-9.
52. Serena C, Pastor RFJ, Mariné M, Rodríguez M, Guarro J. Efficacy of voriconazole in a murine model of cryptococcal central nervous system infection. *J Antimicrob Chemot*. 2007; (60):162-5.
53. Carrillo-Munñoz AJ, Giusiano G, Ezkurra PA , Quindós G. Mecanismos de acción de antifúngicos em leveduras. *Rev Esp Quimioter*. 2006; 19:130–9.
54. Grover C, Bansal S, Nanda S, Reddy BS, Kumar V. Combination of surgical avulsion and topical therapy for single nail onychomycosis: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*. 2007; 157:364–8.
55. Clinical and Laboratory Standards Institute (2003) Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição.
56. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Esoniel-Ingroff, Aghannoum MA, Gosey LL, Odds FC, Rinaldi MG, Sheehan DJ, Warnock DW. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14(4): 643-8.

57. Fernández-Torres B, Cabañes FJ, Carrilo Muñoz AJ, Esteban A, Inzza I, Abarca L, Guarro J. Collaborative evaluation of optimal antifungal susceptibility testing conditions for dermatophytes. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(11): 3999- 4003.
- 58- Gupta AK, Kohl Y. Clinical and Laboratory Investigations In vitro susceptibility testing of ciclopirox, terbinafine, ketoconazole and itraconazole against dermatophytes and nondermatophytes, and in vitro evaluation of combination antifungal activity. *Br J Dermatol.* 2003; 149:296–305
59. Favre B, Hofbauer B, Hildering KS. Comparison of *in vitro* activities of 17 antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution assay. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(10):4817–9.
60. Mota CR, Miranda KC, Lemos J, Costa CR, Hasimoto e Souza LK, Passos XS, Menezes e Silva H, Silva Mdo R. Comparison of in vitro activity of five antifungal agents against dermatophytes, using the agar dilution and broth microdilution methods. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009; 42(3):250-4.
61. Ozcan D, Seçkin D, Demirbilek M. In vitro antifungal susceptibility of dermatophyte strains causing *tinea pedis* and onychomycosis in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a case-control study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010. *In press*