

# **AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE CEPAS DE *TRICHOPHYTON* SP FRENTE A BETAMETASONA E AO CETOCONAZOL**

ANDERSON ROBERTO COSTA SANTOS, PAULA FERNANDA GOMES TELLES,  
LUZIA LYRA E ANGÉLICA ZANINELLI SCHREIBER

**Laboratório de Investigação em Fungos-Departamento de Patologia Clínica, FCM-  
UNICAMP**

## **INTRODUÇÃO**

Dermatófitos são fungos com capacidade de invadir tecidos queratinizados (pele, pelos e unhas) de seres humanos e animais e produzir infecção (dermatofitose ou *tinea*), geralmente restrita a essa camada de tecido por inabilidade do fungo de penetrar tecidos mais profundos ou órgãos de hospedeiros imunocompetentes (WEITZMAN & SUMMERBELL 1995). As dermatofitoses são causadas por fungos do gênero *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. A espécie mais isolada no Setor de Micologia do Laboratório de Microbiologia do HC-Unicamp é o *Trichophyton rubrum*, seguido de *T. mentagrophytes*. As alterações patológicas do hospedeiro podem resultar em sintomas leves ou graves, dependendo do estado imunológico do paciente (KWON-CHUNG e BENNETT, 1992). Embora extremamente raro, os dermatófitos podem atingir tecidos profundos, resultando em abscessos subcutâneos e ulceração, em pacientes imunocomprometidos, diabéticos e atópicos (ELEWSKI, 1994; ERBAGCI, 2004). A colonização se inicia na camada córnea da epiderme, crescendo dicotomicamente, de maneira circular e centrífuga, resultando, ao final de alguns dias, em uma lesão macroscópica (SIDRIN e MOREIRA, 1999). Apresentam variantes clínicas denominadas conforme a topografia do acometimento: tinha do couro cabeludo,

tinha da barba, tinha do corpo, tinha inguino-crural, tinha da unha, tinha pedis e tinha da mão (ZAITZ, 1998).

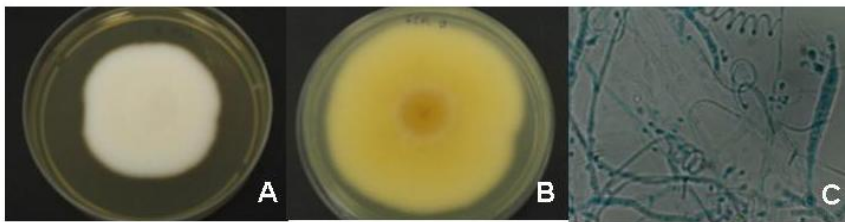
O tratamento consiste na aplicação de antifúngico tópico devido à sua menor toxicidade em relação ao antifúngico oral. No entanto, quando a terapêutica tópica é ineficaz ou nos casos de *tinea capitis* e *tinea unguium* há a necessidade de associar a terapia sistêmica à terapia tópica (FAVRE, 2003). Quando a infecção produz uma reação inflamatória importante, pode-se associar à terapêutica um corticosteróide tópico, para alívio da sintomatologia enquanto o agente antifúngico erradica a infecção. Essa combinação pode estar associada a efeitos adversos pelo uso de corticosteróides por longos períodos (WEINSTEIN, 2002). Existem no mercado várias combinações de produtos contendo corticosteróides, sendo a associação tópica mais comumente encontrada a de cetoconazol e betametasona (DEF 2003/2004). Há resultados conflitantes entre os estudos que investigam qual tipo de terapia (antifúngico puro ou associado a corticosteróide), é mais efetiva no tratamento das infecções por dermatófitos. Embora haja estudos mais antigos com resultados favoráveis à utilização da terapia combinada, os mais recentes indicam que haja equivalência ou mesmo superioridade na terapia com antifúngicos apenas (GREENBERG, 2002; ERBAGCI, 2004).

## **OBJETIVOS**

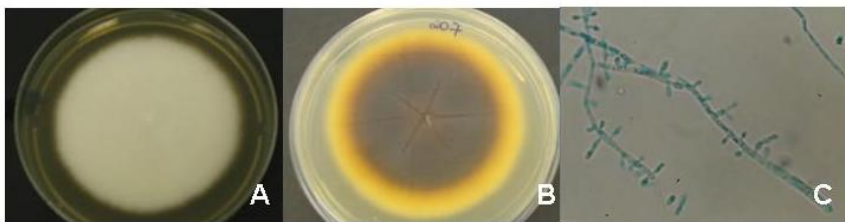
1. Avaliar o efeito de diferentes concentrações de betametasona no crescimento de cepas do gênero *Trichophyton*.
2. Avaliar o efeito de diferentes concentrações de cetoconazol no crescimento de cepas do gênero *Trichophyton*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Cepas:** 25 cepas de *Trichophyton* sp., sendo 8 de *T. mentagrophytes* (figura 1), 13 de *T. rubrum* (figura2) e 3 de *Trichophyton* sp. da Micoteca do Setor de Micologia do Laboratório de Microbiologia – DPC/HC/UNICAMP, mantidas pelo Laboratório de Investigação em Fungos (LIF) FCM/UNICAMP.



**Figura 1.** *T. mentagrophytes*: macromorfologia (A) frente da colônia, (B) verso da colônia e (C) micromorfologia.



**Figura 2.** *T. rubrum*: macromorfologia (A) frente da colônia, (B) verso da colônia e (C) micromorfologia.

### Teste de suscetibilidade *in vitro*

**Drogas:** cetoconazol (Galena, Yanshu Chemi) e betametasona (Celestone Soluspan, Mantecorp) pesadas e/ou ajustadas de acordo com a apresentação adquirida.

**Inóculo:** preparado após crescimento fúngico de 40 dias à temperatura ambiente, em ágar batata por contagem em câmara de Newbauer (inóculo final de  $0,4$  a  $5,0 \times 10^4$  UFC/ml).

**Cepas padrão para controle de qualidade dos testes:** *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida krusei* ATCC 6258.

**Microdiluição em caldo:** foi realizada, de acordo com o CLSI M38-A, para as drogas isoladas. A leitura da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada com até 168 horas de incubação, a temperatura ambiente e a concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada retirando-se uma alíquota de meio dos poços onde não se observou crescimento fúngico e transferindo-a para um meio de cultura livre de droga (figura 3).

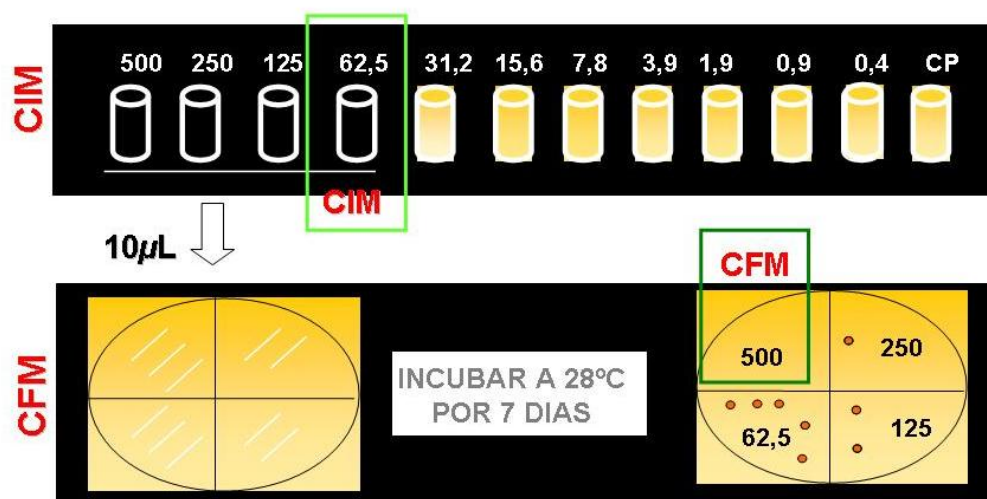


Figura 3. Esquema de determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) para as cepas de dermatófitos.

## RESULTADOS

Conforme dados constantes na tabela 1, para betametasona as concentrações inibitórias mínimas (CIM) obtidas ficaram entre 150 e 300 µg/ml (destaque) para todas as cepas avaliadas. Foi realizado cultivo em ágar Sabouraud de onde não se observou crescimento, para determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM), obtendo-se os resultados demonstrados na tabela 2. Neste trabalho observou-se que a CIM de betametasona é igual à sua CFM para as cepas analisadas, indicando uma ação fungicida da betametasona.

Os valores de CIM obtidos neste trabalho no teste de susceptibilidade ao cetoconazol estão entre 0,25 e 1,0 µg/ml para as cepas de *T.mentagrophytes*, entre 0,25 a 2,0 µg/ml para as cepas de *T.rubrum* e 1,0 a 2,0 µg/ml para as cepas de *Trichophyton* sp conforme observados na tabela 3 (destaque).

Os resultados do teste com cetoconazol, frente às cepas padrão, está de acordo com os valores preconizados pelo Documento M38A do CLSI (2002). Para os testes de betametasona não há dados de controle de qualidade disponíveis.

**Tabela 1.** Determinação da suscetibilidade de cepas do gênero *Trichophyton* frente a betametasona (CIM em destaque)

Nº LIF•	Espécie	Concentração de betametasona (em µg/ml)						
		600	300	150	75	37,5	18,75	9,375
9	<i>T.mentagrophytes</i>	-	- *	+**	+	+	+	+
10	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	+	+	+	+
11	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	+	+	+	+	+
47	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	+	+	+	+	+
178	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	+	+	+	+	+
393	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	+	+	+	+	+
438	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	+	+	+	+	+
508	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	+	+	+	+	+
12	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	+	+	+	+
45	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
142	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
207	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
233	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
249	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
280	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	+	+	+	+
367	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
371	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
434	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
437	<i>T.rubrum</i>	-	-	+	+	+	+	+
1158	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	+	+	+	+
1172	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	+	+	+	+
1321	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	+	+	+	+
424	<i>Trichophyton sp</i>	-	-	+	+	+	+	+
509	<i>Trichophyton sp</i>	-	-	+	+	+	+	+
547	<i>Trichophyton sp</i>	-	-	+	+	+	+	+
□ <i>C. krusei</i> ATCC 6258		-	-	-	-	+	+	+
□ <i>C.parapsilosis</i> ATCC 22019		-	-	-	-	+	+	+

• Laboratório de Investigação em fungos; \* (-): sem crescimento visível; \*\* (+): com crescimento visível; □ testes com as cepas padrão ATCC.

**Tabela 2.** Comparação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) e fungicidas mínimas (CFM) obtidas para as cepas de *Trichophyton* frente a betametasona.

Cepas avaliadas		Concentrações obtidas em ug/mL	
Nº LIF•	Espécie	CIM	CFM
9	<i>T.mentagrophytes</i>	300	300
10	<i>T.mentagrophytes</i>	150	150
11	<i>T.mentagrophytes</i>	300	300
47	<i>T.mentagrophytes</i>	300	300
178	<i>T.mentagrophytes</i>	300	300
393	<i>T.mentagrophytes</i>	300	300
438	<i>T.mentagrophytes</i>	300	300
508	<i>T.mentagrophytes</i>	300	300
12	<i>T.rubrum</i>	150	150
45	<i>T.rubrum</i>	300	300
142	<i>T.rubrum</i>	300	300
207	<i>T.rubrum</i>	300	300
233	<i>T.rubrum</i>	300	300
249	<i>T.rubrum</i>	300	300
280	<i>T.rubrum</i>	150	150
367	<i>T.rubrum</i>	300	300
371	<i>T.rubrum</i>	300	300
434	<i>T.rubrum</i>	300	300
437	<i>T.rubrum</i>	300	300
1158	<i>T.rubrum</i>	150	150
1172	<i>T.rubrum</i>	150	150
1321	<i>T.rubrum</i>	150	150
424	<i>Trichophyton sp</i>	300	300
509	<i>Trichophyton sp</i>	300	300
547	<i>Trichophyton sp</i>	300	300
	□ <i>C. krusei</i> ATCC 6258	75	75
	□ <i>C.parapsilosis</i> ATCC 22019	75	75

• Laboratório de Investigação em fungos; \* ( - ): sem crescimento visível; \*\* ( + ): com crescimento visível; □ testes com as cepas padrão ATCC.

**Tabela 3.** Determinação da suscetibilidade de cepas do gênero *Trichophyton* frente a cetoconazol (CIM em destaque)

Cepas Avaliadas		Concentração de cetoconazol (em µg/ml)										
Nº LIF•	Espécie	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
9	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
10	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
11	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
47	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
178	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
393	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
438	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
508	<i>T.mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
12	<i>T.rubrum</i>											
45	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
142	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
207	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
233	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
249	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
280	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
367	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
371	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
434	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
437	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
1158	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
1172	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
1321	<i>T.rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
424	<i>Trichophyton sp</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
509	<i>Trichophyton sp</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
547	<i>Trichophyton sp</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
□ <i>C. krusei</i> ATCC 6258		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
□ <i>C.parapsilosis</i> ATCC 22019		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

• Laboratório de Investigação em fungos; \* (-): sem crescimento visível; \*\* (+): com crescimento visível; □ testes com as cepas padrão ATCC.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Neste estudo, os testes de susceptibilidade foram realizados seguindo-se as instruções do documento CLSI M38-A (2002) para os testes de microdiluição em caldo. Para o cetoconazol, os valores de CIM obtidos para todas as cepas estão entre 0,25 e 8 µg/ml (tabela 3), em concordância com valores observados na literatura, que variaram de 0,03 a 16 µg/mL (BARROS e HAMDAN, 2005; SIQUEIRA e cols, 2008, ARAÚJO

e cols, 2009). A partir dos dados do presente trabalho e da literatura, concluímos que o cetoconazol demonstrou boa atividade *in vitro* contra dermatófitos, apresentando valores baixos de CIM para a droga isolada.

Os mesmos critérios foram observados para a avaliação da susceptibilidade à betametasona. Não foram localizados trabalhos na literatura disponível que se propusessem a avaliar a susceptibilidade *in vitro* de dermatófitos frente à betametasona ou outro corticóide, não havendo, portanto, parâmetros que permitissem uma análise comparativa dos dados obtidos no presente trabalho com dados obtidos de outros autores.

Para todas as cepas avaliadas neste trabalho, a concentração inibitória mínima foi igual à concentração fungicida mínima para betametasona, variando de 150 a 300 µg/mL, demonstrando capacidade de inibição do crescimento fúngico, assim como características fungicidas do composto.

Concluímos, portanto, que a betametasona isolada apresenta, na dependência da concentração, atividade fungicida *in vitro* para as cepas avaliadas. Vale ressaltar que a concentração avaliada neste estudo fica bem abaixo da concentração encontrada nas medicações com associação (betametasona+cetoconazol) disponíveis no mercado na forma de cremes e pomadas. Associação esta que pretendemos avaliar em continuação a este trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO CR, MIRANDA KC, FERNANDES ODE F, SOARES AJ, SILVA MDO R. In vitro susceptibility testing of dermatophytes isolated in Goiania, Brazil, against five antifungal agents by broth microdilution method. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2009 Jan-Feb;51(1):9-12.

BARROS ME, HAMDAN JS. Determination of susceptibility/resistance to antifungal drugs of Trichophyton mentagrophytes isolates by a macrodilution method. Can J Microbiol. 2005 Nov;51(11):983-7.

CLSI document M38-A 2002-Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard, Wayne, 2002.

Dicionário de Especialidades Farmacêuticas – J Bras Med. 2003/4.Ed. de Publicações Científicas Ltda. Rio de Janeiro – RJ.

ELEWSKI B & SULLIVAN J - Dermatophyte as opportunistic pathogens. J Am Acad Dermatol, 30 1021-1022,1994.

ERBAGCI Z - Topical Therapy for Dermatophytoses Should Corticosteroids be Included? Am J Clin Dermatol 5(6) 375-384,2004.

FAVRE, B, HOFBAUER, B, HILDERING, KS, RYDER, NS - Comparison of *In Vitro* activities of 17 antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution assay. J Clin Microbiol, 41(10):4817-4819,2003.



GREENBERG HL, SHWAYDET TA, BIESZK N, FIVENSON DP - Clotrimazole/ Betamethasone Dipropionate: A Review of costs and Complications in the Treatment of Common Cutaneous Fungal Infections. *Pediatr Dermatol* 19(1) 78-81, 2002.

KWON-CHUNG, KJ & BENNETT, JE – *Medical Mycology*, Pennsylvania - USA, Lea & Febiger, 1992.

SIDRIN, JJC, MOREIRA, JLB - *Fundamentos Clínicos e Laboratoriais de Micologia Médica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999.

SIQUEIRA ER, FERREIRA JC, PEDROSO RS, LAVRADOR MA, CANDIDO RC. Dermatophyte susceptibilities to antifungal azole agents tested in vitro by broth macro and microdilution methods. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2008 Jan-Feb;50(1):1-5.

WEINSTEIN, A, BERMAN, B - Topical treatment of common Superficial tinea infections. *Am. Fam. Phys.* 65(10), 2095-102, 2002.

WEITZMAN, I, SUMMERBELL, RC - The Dermatophytes. *Clin Microbiol Rev* 8(2) 240-259, 1995.

ZAITZ, C, CAMPBELL, I, MARQUES, S, RUIZ, LRB, SOUZA, VM - *Compendio de Micologia Médica*. Rio de Janeiro, Medsi, 1998. p.81-98.