AVALIAÇÃO DA VIRULÊNCIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS DE CEPAS DE CANDIDA SPP. EM INDIVÍDUOS NATURAIS DO CONTINENTE AFRICANO

Francisco Arislan Mateus Damião[1]
Luana Silva Vidal[2]
Zaira Conceição Tavares Pereira[3]
Gabriela Silva Cruz[4]
Erika Helena Salles De Brito[5]

RESUMO

O gênero Candida é composto por fungos polimórficos, cuja patogenicidade é facilitada pela expressão de uma série de fatores de virulência. Estes fatores são aqueles que interagem diretamente com as células do hospedeiro, causando danos e sendo responsável pelos casos de maior resistência à ação dos antifúngicos. O presente estudo teve como objetivo identificar os fatores de virulência e o perfil de sensibilidade a antifúngicos de espécies de Candida, isoladas da microbiota oral de indivíduos provenientes de países do continente africano. O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Redenção-Ceará em que foram utilizadas 23 cepas de Candida spp., previamente isoladas da mucosa oral de estudantes internacionais recém-ingressos à universidade, previamente identificadas quanto à espécie. Em seguida foi realizado o teste para avaliar a produção de fosfolipase e teste de sensibilidade perante os antifúngicos (fluconazol, itraconazol e anfotericina B) desenvolvido pelo método de microdiluição em caldo. No teste de produção de fosfolipase, obteve-se uma forte produção (n=16) de fosfolipases pelas cepas de Candida spp. Quanto aos testes de sensibilidade aos antifúngicos fluconazol, itraconazol e anfotericina B, eles apontaram uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 0,5 µg/mL a 16 µg/mL. Conclui-se que os isolados são sensíveis aos derivados azólicos testados, com a exceção de uma cepa de Candida sp. que apresentou sensibilidade dose-dependente, quanto ao teste com o fluconazol. Contudo, os resultados obtidos evidenciam a alta virulência da maioria das cepas testadas.

Palavras-chave: Patogenicidade Candida albicans Fatores de virulência Microbiota oral .

UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, arislan09@gmail.com[1]
UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, luanavidal.unilab@gmail.com[2]
UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, za.kode@outlook.com[3]
UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, gabrielacruz.gc7@gmail.com[4]
UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Docente, erika@unilab.edu.br[5]

ISSN: 2447-6161

INTRODUÇÃO

O gênero Candida é composto por fungos polimórficos os quais pertencem ao filo Ascomycota, classe Saccharomycetes, ordem Saccharomycetales (LEVETIN et al., 2016). No contexto das patologias fúngicas, Candida spp. contribuem ao promover infecções em situações em que há comprometimento da resposta imunológica ou perda da integridade das barreiras naturais de defesa do hospedeiro, tornando-a um fungo oportunista (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). O escopo da candidíase abrange uma ampla gama de doenças, as quais podem ser caracterizadas por manifestações clínicas superficiais, como a candidíase esofágica ou orofaríngea, ou a candidíase invasiva (LIM et al., 2012).

A patogenicidade das espécies do gênero Candida é facilitada pela expressão de uma série de fatores de virulência, os quais podem estar relacionados à secreção de enzimas hidrolíticas (proteases, fosfolipases e hemolisinas). Estes fatores de virulência são aqueles que interagem diretamente com as células do hospedeiro, causando danos e sendo responsável pelos casos de maior resistência à ação dos antifúngicos (SILVA, et al., 2012). Diante disso, esse estudo teve como objetivo identificar os fatores de virulência e o perfil de sensibilidade a antifúngicos de espécies de Candida, isoladas da microbiota oral de indivíduos provenientes de países do continente africano.

METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), entre 2018 e 2019, em que foram utilizadas 23 cepas de Candida spp., previamente isoladas e identificadas em estudo anterior (estudo aprovado pelo Comitê de Ética da UNILAB, conforme parecer nº 1.937.092 e CAAE: 59953716.5.0000.5576) (CRUZ, 2018).

O teste para avaliar a produção de fosfolipase baseou-se no protocolo descrito por Price Wilkinson e Gentry (1982). A atividade enzimática (Pz) foi determinada após 7 dias de incubação a 35ºC, através da razão entre o diâmetro da colônia fúngica e o diâmetro total (colônia juntamente do halo de precipitação), quando $Pz \geq 1$ indica que os isolados não produzem fosfolipase; $1 > Pz \geq 0{,}64$ cepa produtora de fosfolipase; e $Pz < 0{,}64$ indica forte produção (SIDRIM et al.,2010). O teste de sensibilidade perante os antifúngicos (fluconazol, itraconazol e anfotericina B) foi desenvolvido pelo método de microdiluição em caldo, descrito no documento M27-A3, do Clinical Laboratory Standards (CLSI). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) foram estabelecidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após os testes, foi possível identificar do acordo com o Quadro 1, uma elevada produção (n=16) de fosfolipase pelas cepas de Candida spp., destacando uma cepa de Candida albicans como forte produtora.

Quadro 1. Produção de fosfolipase por cepas de Candida spp.

A espécie C. albicans secreta variedades de fosfolipases B que estão relacionadas à virulência em modelos animais com candidíase (OKSUZ et al., 2007, GHANNOUM, 2000). Espécies de Candida não-albicans são capazes de secretar fosfolipases, mas essa produção é relativamente inferior quando comparada a C. albicans (OKSUZ et al., 2007; SILVA et al., 2012).

Quanto aos testes de sensibilidade aos antifúngicos fluconazol, itraconazol e anfotericina B, eles apontaram

ISSN: 2447-6161

uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 0,5 µg/mL a 16 µg/mL, para o Fluconazol, CIM de 0,015625 µg/mL a 0,125 µg/mL, para o Itraconazol, e CIM de 0,125 µg/mL a 2 µg/mL, para a Anfotericina B. Para uma cepa de Candida sp., houve uma sensibilidade dose-dependente para o Fluconazol (CIM 16 µg/mL) (Tabela 1).
Tabela 1. Perfil de sensibilidade de cepas Candida spp.

Em relação à Concentração Fungicida Mínima, para o Fluconazol, 40,9% das cepas de Candida albicans (n = 9) tiveram seu crescimento inibido por uma concentração de 8 µg/mL, quantitativo igual ao inibido pela concentração de 16 µg/mL. Em relação à ação do Itraconazol, a concentração de 0,125 µg/mL inibiu 50% das cepas de Candida, sendo 10 Candida albicans e 1 Candida sp. Para a Anfotericina B, a concentração de 1 µg/mL inibiu 45,8% das cepas de Candida albicans (n = 11) (Tabela 2).
Tabela 2. Concentração Fungicida Mínima (CFM) de antifúngicos.

CONCLUSÕES

Após a verificação da Concentração Inibitória Mínima e da Concentração Fungicida Mínima, verificou-se que os isolados são sensíveis aos derivados azólicos testados, com a exceção de uma cepa de Candida sp. que apresentou sensibilidade dose-dependente, quanto ao teste com o fluconazol. Contudo, os resultados obtidos evidenciam a alta virulência da maioria das cepas testadas. Deste modo, faz se necessário o aprofundamento de mais estudos sobre o potencial patogênico das espécies de Candida.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico (FUNCAP) pela bolsa de iniciação científica concedida à aluna Zaira Conceição Tavares Pereira para a realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por Candida spp. Rev Soc Bras Med Trop, v. 36. n. 5, p. 599-607, 2003.
CRUZ, G.S. Experiência de cárie e seus fatores de risco de acadêmicos recém-ingressos a uma universidade de cunho internacional. Dissertação - Curso de Mestrado Acadêmico Em Enfermagem, Programa de Pós-graduação em Enfermagem, Universidade da Integração
Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2018.
LEVETIN, E.; HORNER, W. E.; SCOTT, J. A.; WORKGROUP, E. A. Taxonomy of allergenic fungi. J. Allergy Clin. Immunol. Pract., v. 4, n. 3, p. 375–385, 2016.
LIM, C. S.; ROSLI, R.; SEOW, H.F.; CHONG, P.P. Candida and invasive candidiasis: back to basics. European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases, v. 31, n. 1, p. 21- 31, 2012.
OKSUZ, S.; SAHIN, I.; YILDIRIM, M.; GULCAN, A.; YAVUZ, T.; KAYA, D.; KOC, A. N. Phospholipase and

ISSN: 2447-6161

proteinase activities in different Candida species isolated from anatomically distinct sites of healthy adults. Japanese Journalof Infectious Diseases, v. 60, n. 5, p. 280-283, 2007.

PRICE MF, WILKINSON ID, GENTRY LO. Plate methods for detection of phospholipase activity in Candida albicans. Sabouraudia 20:7-14, 1982.

SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D.W.; AZEREDO, J. Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiology Reviews, v. 36, n. 2, p. 288-305, 2012.

SIDRIM, J. J. C.; DE SOUZA COLLARES, D. C. B.; BRILHANTE, R. S. N. B.; SOARES, G. D. P.; CORDEIRO, R. A. C.; MONTEIRO, A. J.; ROCHA, M. F. G. Candida species isolated from the gastrointestinal tract of cocktiels (Nymphicus hollandicus): in vitro antifungal susceptibility profile and phospholipase activity. Veterinaty microbiology, v. 145, n. 3, p. 324-328, 2010.

ISSN: 2447-6161