

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

Francisco Arislan Mateus Damiano¹

Luana Silva Vidal²

Zaira Conceição Tavares Pereira³

Gabriela Silva Cruz⁴

Erika Helena Salles De Brito⁵

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.com¹

UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, luanavidal.unilab@gmail.com²

UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, za.kode@outlook.com³

UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, gabrielacruz.gc7@gmail.com⁴

UNILAB, Instituto de Ciências da Saúde, Docente, erika@unilab.edu.br⁵



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 35°C, 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

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 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 proteinase activities in different *Candida* species isolated from anatomically distinct sites of healthy adults. Japanese Journal of 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.

