

EFICÁCIA *IN VITRO* DE MANIPULAÇÕES MAGISTRAIS DE ITRACONAZOL NO TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA E CANINA

STEFANIE BRESSAN WALLER¹; ISABEL MARTINS MADRID²; ANGELITA DOS REIS GOMES³; RENATA DE OSÓRIO FARIAS⁴; MARLETE BRUM CLEFF⁵; JOÃO ROBERTO BRAGA DE MELLO⁶

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul – waller.stefanie@yahoo.com.br

² Centro de Controle de Zoonoses de Pelotas – imadrid_rs@yahoo.com.br

³ Universidade Federal de Pelotas – angelitagomes@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – renataosorio@ig.com.br

⁵ Universidade Federal de Pelotas – emebrum@bol.com.br

⁶ Universidade Federal do Rio Grande do Sul – jmello@gabinete.ufrgs.br

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose tem sido considerada uma doença emergente e reconhecida mundialmente, cujas opções de tratamento consistem no uso de drogas antifúngicas, sendo o itraconazol considerado de eleição para caninos e felinos. A dose recomendada para essas espécies é de 10 a 40mg/kg/dia via oral, a cada 24h por cerca de três meses, devendo ser prolongado por no mínimo 30 dias após a cura clínica (MADRID et al., 2010).

A possibilidade de prescrever medicamentos de forma individualizada aos pacientes, através da manipulação magistral, tem recebido grande interesse dos profissionais da saúde, inclusive de médicos veterinários (MARKMAN et al., 2007). Embora as farmácias de manipulação sejam constantemente fiscalizadas por órgãos competentes a seguirem rígida legislação pela RDC nº 67, que instituiu as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em Farmácias (BPMF), ainda observa-se a falta de padronização como um dos entraves para o sucesso de uma terapia (ANVISA, 2007).

Estudos sobre a eficácia do itraconazol manipulado no tratamento da esporotricose não foram encontrados na literatura. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar e comparar a eficácia *in vitro* de três medicamentos manipulados de itraconazol contra fungos do complexo *Sporothrix* spp., isolados de casos clínicos de felinos e caninos com esporotricose.

2. METODOLOGIA

O fármaco antifúngico itraconazol foi adquirido na apresentação de cápsulas em três diferentes estabelecimentos comerciais de manipulação farmacêutica, identificadas como “Farmácia A” (FA), “Farmácia B” (FB) e “Farmácia C” (FC), localizados na cidade de Pelotas, RS, Brasil. As cápsulas foram abertas e o seu conteúdo transferido individualmente para um recipiente, sendo macerado manualmente com auxílio de um pistilo para a obtenção da solução-mãe em 10 mL de dimetilsulfóxido. Os testes foram realizados através da técnica de Microdiluição em Caldo, conforme documento M38-A3, preconizado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). O itraconazol foi testado nas concentrações de 16 a 0,03 µg mL⁻¹, conforme recomendado pelo protocolo.

Para a realização dos testes de suscetibilidade *in vitro* foram utilizadas 23 cepas do Complexo *Sporothrix* spp. provenientes de casos clínicos confirmados de felinos ($n=13$) e caninos ($n=10$) com esporotricose oriundas da micoteca do Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram variação nos valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) entre os medicamentos obtidos de diferentes farmácias de manipulação. De modo geral, observou-se atividade fungistática (CIM) em 86,9% dos isolados animais testados com o medicamento da FA, enquanto que para FB e FC esse percentual foi de 78,2%. Entretanto, ao se analisar a atividade fungicida (CFM), verificou-se um baixo percentual de isolados sensíveis à maior concentração testada ($16 \mu\text{g mL}^{-1}$), sendo de 43,5% dos isolados sensíveis para o medicamento da FA; 34,8% para FB e 47,8% para FC (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) do Itraconazol ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de três diferentes estabelecimentos farmacêuticos de manipulação frente a cepas s do Complexo *Sporothrix* spp. isoladas de casos clínicos de felinos e caninos com esporotricose.

Complexo <i>Sporothrix</i> spp.	Farmácia A		Farmácia B		Farmácia C	
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
Isolado Felino 01	1	>16	0,12	>16	1	>16
Isolado Felino 02	8	>16	0,5	4	1	>16
Isolado Felino 03	8	>16	1	>16	2	>16
Isolado Felino 04	2	>16	1	8	2	>16
Isolado Felino 05	>16	>16	>16	>16	>16	>16
Isolado Felino 06	2	>16	0,5	>16	1	>16
Isolado Felino 07	0,5	4	0,25	8	0,5	8
Isolado Felino 08	2	>16	0,5	>16	0,25	8
Isolado Felino 09	>16	>16	>16	>16	>16	>16
Isolado Felino 10	2	16	2	>16	4	>16
Isolado Felino 11	>16	>16	>16	>16	>16	>16
Isolado Felino 12	2	0,5	>16	>16	>16	>16
Isolado Felino 13	0,25	0,5	>16	>16	>16	>16
Isolado Canino 01	0,5	>16	0,25	>16	0,5	4
Isolado Canino 02	2	16	1	16	2	16
Isolado Canino 03	1	>16	0,5	>16	1	16
Isolado Canino 04	2	>16	1	>16	1	>16
Isolado Canino 05	2	>16	1	>16	2	16
Isolado Canino 06	1	2	0,5	2	0,5	1
Isolado Canino 07	1	4	0,5	8	1	16
Isolado Canino 08	1	2	0,5	1	1	4
Isolado Canino 09	1	8	1	16	1	4
Isolado Canino 10	2	16	2	>16	4	16

Na análise comparativa, observou-se que os três medicamentos apresentaram atividade antifúngica para os mesmos isolados de maneira semelhante, embora as concentrações necessárias para conferir ação fungistática e fungicida tenham sido diferentes. Acredita-se que isso tenha ocorrido pelo fato de que uma única formulação medicamentosa possa ser preparada de diferentes maneiras, mesmo atendendo à prescrição médica, entretanto, a geração dos produtos ocorre em diferentes graus de qualidade, conforme descrito por Okuyama & Moro (2010).

Para os isolados fúngicos oriundos de felinos, foi verificada atividade fungistática em oito (78,2%) isolados frente aos produtos da FB e FC e em dez

(86,9%) isolados para a FA. Para os isolados provenientes de caninos, verificou-se inibição de 100% do crescimento fúngico frente aos três produtos testados, com valores médios de CIM de $1,35 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a FA, $0,82 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a FB e de $1,4 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a FC. Estudos sobre a eficácia de itraconazol manipulado não foram encontrados na literatura consultada, entretanto, estudos avaliando a suscetibilidade do itraconazol comercial foram similares aos do presente estudo, tal como os resultados de Meinerz et al. (2007), que demonstraram a suscetibilidade de seis isolados felinos de *Sporothrix* spp. na CIM de 0,2 a $1,75 \mu\text{g mL}^{-1}$, ao passo que o único isolado canino testado foi suscetível na concentração de $1,75 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nossos resultados foram similares a outros estudos de atividade inibitória que demonstraram CIM variáveis de isolados animais a 0,06 a $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. schenckii* ($n=6$); $0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. brasiliensis* ($n=1$) e $32 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. albicans* ($n=1$) e *S. luriei* ($n=1$) (Oliveira et al., 2011) e valores de CIM de 0,5 a $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra seis isolados humanos do Brasil (Silveira et al., 2009).

Na avaliação da atividade fungicida, os isolados felinos apresentaram maior resistência às concentrações testadas dos medicamentos manipulados, sendo onze (84,6%) isolados não suscetíveis ao itraconazol obtido da FC, dez (76,9%) isolados ao da FB e nove (69,2%) isolados ao da FA, demonstrando que a maioria dos isolados felinos do Complexo *Sporothrix* spp. não foram sensíveis. Por sua vez, os isolados caninos foram mais suscetíveis em relação aos felinos, uma vez que a um máximo de 50% dos isolados foram resistentes às concentrações testadas, observada em cinco isolados frente ao itraconazol obtido da FB, ao passo que a resistência conferida aos demais produtos foram observados em quatro (40%) isolados frente ao medicamento da FA e somente em um (10%) isolado canino para a FC. De modo geral, observou-se que o itraconazol oriundo da FA conferiu melhor atividade para os isolados felinos (CFM de 0,5 a $4 \mu\text{g mL}^{-1}$) em relação aos demais produtos, ao passo que aquele obtido da FC conferiu melhor ação para um maior número de isolados caninos (1 a $16 \mu\text{g mL}^{-1}$). Estudos da concentração fungicida de itraconazol são escassos para este gênero fúngico, sendo que um estudo observou CFM de 8 a $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ para seis isolados humanos do Brasil (Silveira et al., 2009).

Os isolados felinos testados foram em sua grande parte resistentes às concentrações de qualquer itraconazol, o que pode estar relacionada à identificação da espécie de *Sporothrix* spp. destes isolados conforme observado por Oliveira et al. (2011). Em um estudo da suscetibilidade *in vitro* de cinco espécies do complexo *Sporothrix* spp., somente *S. brasiliensis* apresentou suscetibilidade frente ao itraconazol comercial nas concentrações de 0,5 a $2 \mu\text{g mL}^{-1}$, entretanto, o antifúngico não apresentou boa resposta contra *S. schenckii*, *S. globosa*, *S. mexicana* e *S. albicans* (MARIMON et al., 2008). Devido à grande possibilidade dos isolados fúngicos utilizados pertencerem a mais de uma espécie do gênero *Sporothrix* spp., análises moleculares serão realizadas para a identificação das espécies dentro do complexo *Sporothrix* spp., uma vez que as respostas *in vitro* dos isolados aos antifúngicos foram distintas.

4. CONCLUSÕES

A atividade *in vitro* comparativa de itraconazóis manipulados auxiliou no maior aprofundamento sobre a suscetibilidade e resistência de isolados clínicos do Complexo *Sporothrix* spp. oriundos de felinos e caninos, os quais contribuem para a conduta terapêutica do médico veterinário sobre o uso de produtos manipulados em felinos e caninos com esporotricose.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. **Resolução RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em Farmácias.** 2007. Acessado em 09 out. 2013. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/segurancadopaciente/documentos/rdcs/RDC%20N%C2%BA%2067-2007.pdf>

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S.; MARTINS, A. F.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Feline Sporotrichosis in the Southern Region of Rio Grande Do Sul, Brazil: Clinical, Zoonotic and Therapeutic Aspects. **Zoonoses Public Health**, Berlin, v. 27, p. 151-154, 2010.

MARIMON, R.; SERENA, C.; GENE, J.; CANO, J.; GUARRO, J. In vitro antifungal susceptibilities of five species of *Sporothrix schenckii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 52, n. 2, p. 732-734, 2008.

MARKMAN, B.E.O.; KOSCHTSCHAK, M.R.W.; AURICCHIO, M.T. Otimização e validação de método farmacopéico para avaliar possíveis desvios de qualidades de matérias-primas e cápsulas manipuladas contendo hormônios tireoidianos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n.3, p. 268-74, 2007.

MEINERZ, A. R. M.; NASCENTE, P. S. N.; SCHUCH, L. F. D.; CLEFF, M. B.; SANTIN, R.; BRUM, C. S.; NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A.; MELLO, J.R.B. Suscetibilidade in vitro de isolados de *Sporothrix schenckii* frente a terbinafina e itraconazol. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.40, p. 60–62, 2007.

OKUYAMA, S. S. K.; MORO, C. M. C. **Proposta de Padronização para o Preparo de Medicamentos na Farmácia Magistral: Formas Farmacêuticas Semi- Sólidas e Líquidas.** 2010. Acessado em 07 out. 2013. Disponível em: <http://www.sbis.org.br/cbis11/arquivos/718.pdf>

OLIVEIRA, D.C.; LOPES, P.G.M.; SPADER, T.B.; MAHL, C.D.; TRONCO-ALVES, G.R.; LARA, V.M.; SANTURIO, J.M.; ALVES, S.H. Antifungal Susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* Complex Identified in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.49, n.8, p.3047-3049. 2011.

SILVEIRA, C.P.; TORRES-RODRÍGUEZ, J.M.; ALVARADO-RAMÍREZ, E.; MURCIANO-GONZALO, F.; DOLANDE, M.; PANIZO, M.; REVIKINA, V. MICs and minimum fungicidal concentrations of amphotericin B, itraconazole, posaconazole and terbinafina in *Sporothrix schenckii*. **Journal of Medical Microbiology**, London, v.58, p. 1607–1610, 2009.