

AÇÃO SINÉRGICA DA ANFOTERICINA B E 5-FLUOROCITOSINA EM FONSECAEA PEDROSOI

Maria Aparecida de RESENDE (1)

R E S U M O

Demonstrou-se a ocorrência de sinergismo entre anfotericina B e 5-fluorocitosina "in vitro" em 10 amostras de *Fonsecaea pedrosoi*. Foram utilizadas várias concentrações das duas drogas, isoladamente, e em associação. A soma dos FIC (concentração inibitória fracionária) variou e 0,12 a 0,60 µg/ml para todas as amostras examinadas.

I N T R O D U Ç Ã O

Após a sua descoberta em 1953, a anfotericina B (AmB) se tornou o principal antifúngico para terapia de infecções sistêmicas no homem. Apesar de sua comprovada toxicidade, até recentemente não havia nenhuma outra alternativa para o tratamento das micoses sistêmicas⁷, assim como da cromomicose, que é infecção do tipo subcutâneo. A anfotericina B, como os outros antibióticos poliênicos, parece induzir alterações de permeabilidade de membranas através de sua ligação com esteróis presentes nessas estruturas celulares.

Com a descoberta da atividade antifúngica da 5-fluorocitosina (5-FC) em 1963 por GRUNBERG & col.⁶ surgiu a alternativa do uso de uma droga menos tóxica para o tratamento da cromomicose^{9,11,12}. A 5-Fluorocitosina inibe a síntese de ácidos nucléicos nos organismos através de seu efeito na via de biossíntese de pirimidinas. Entretanto, ocorrem casos resistentes entre pacientes de cromomicose tratados com essa droga¹⁰. Outros fungos apresentam inclusive resistência natural à droga, como é o caso de algumas amostras de *Candida albicans*, *Torulopsis glabrata* e *Cryptococcus neoformans*.

O sinergismo entre a anfotericina B e a 5-fluorocitosina tem sido demonstrado "in vi-

tro" e em diversos animais experimentais em alguns fungos leveduriformes^{1,14,15,16,17,18,19}. A associação das duas drogas tem sido usada também em pacientes com micoses sistêmicas^{5,8}. Resultados preliminares do uso da associação das duas drogas "in vitro" em agentes da cromomicose foram apresentados anteriormente¹⁷. No tratamento da cromomicose a associação foi usada dando bons resultados^{2,3,13}. Segundo POLAK & SCHOLER¹⁶, o principal interesse prático desse sinergismo está no uso de menores quantidades das drogas, levando, como conseqüência, a uma diminuição do efeito tóxico da anfotericina B e a redução do risco de aparecimento de resistência à 5-fluorocitosina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 10 amostras de *Fonsecaea pedrosoi* isoladas de pacientes de cromomicose da Santa Casa de Belo Horizonte. Micélios de culturas de 7 dias de crescimento em meio sintético de asparagina²⁰ foram homogeneizados em solução salina. Gotas dessa suspensão foram inoculadas em tubos de ensaio contendo volume final de 5 ml de meio sintético de asparagina com diferentes concentrações das drogas. As culturas foram incubadas

(1) Prof. Assistente do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

à temperatura ambiente por 7 dias. A leitura do crescimento foi feita pela medida da densidade óptica em fotocolorímetro Klett Summerson (filtro verde) após homogeneização do micélio. Em todos os experimentos foi feita a inoculação de um tubo controle, que não continha nenhuma das drogas.

A 5-fluorocitosina (cedida gentilmente pela F. Hoffmann — La Roche & Co.), foi utilizada a partir de uma solução aquosa de 20 µg/ml. A anfotericina B foi utilizada na forma de Fungizon (Squibb) e partiu-se de uma solução de 5,0 mg/ml. As concentrações das drogas usadas isoladamente foram:

- 1) 5-fluorocitosina: 10,0 — 5,0 — 1,0 e 0,1 µg/ml;
- 2) Anfotericina B: 5,0 — 1,0 — 0,1 e 0,05 µg/ml.

Metade das concentrações de cada droga foi usada em associação. A atividade fungistática de 5-fluorocitosina e anfotericina B em combinação foi avaliada calculando-se o FIC, que é a concentração inibitória fracionária⁴. O FIC é calculado dividindo-se a concentração do inibidor presente na combinação pela quantidade de inibidor que seria requerida para produzir mesmo grau e inibição por si mesmo. Foram escolhidas medidas de densidade óptica, determinadas pelas concentrações das drogas usadas em associação e que correspondiam às mesmas medidas de crescimento obtidas com cada droga usada isoladamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As somas dos FIC para cada amostra são apresentadas na Tabela I. A soma dos FIC tem o valor de 1 quando o efeito combinado é aditivo; quanto menor o número, maior é o grau de sinergismo. A associação das duas drogas apresentou sinergismo em todas as amostras de *Fonsecaea pedrosoi* testadas pois as somas dos FIC variaram de 0,12 a 0,60 µg/ml.

Segundo LOPES & col.¹³, a associação da anfotericina B com a 5-fluorocitosina se mostrou bastante eficaz no tratamento da cromomicose e parece ser efetiva contra o aparecimento da resistência à 5-fluorocitosina. É bastante evidente que a associação virá a ser o tratamento de escolha para a cromomicose.

Comprovamos que a ação sinérgica das duas drogas "in vitro" corresponde a uma ação "in vivo".

TABELA I

Eficácia da combinação AmB com 5-FC

| Amostra | FIC (*) | | Soma dos FIC das combinações mais efetivas |
|---------|---------|------|--|
| | AmB | 5-FC | |
| 1-AB | 0,5 | 0,1 | 0,6 |
| 2-AM | 0,5 | 0,1 | 0,6 |
| 3-FR | 0,05 | 0,5 | 0,55 |
| 4-GB | 0,1 | 0,25 | 0,35 |
| 5-JB | 0,1 | 0,02 | 0,12 |
| 6-JF | 0,25 | 0,05 | 0,3 |
| 7-JJ | 0,5 | 0,1 | 0,6 |
| 8-JU | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| 9-MA | 0,1 | 0,05 | 0,15 |
| 10-VL | 0,1 | 0,25 | 0,35 |

(*) Concentração inibitória fracionária

O sinergismo antifúngico da anfotericina B com a 5-fluorocitosina ocorre provavelmente devido a uma alteração na barreira de permeabilidade da superfície da membrana, resultando no aumento da penetração da 5-fluorocitosina¹⁴. Acreditamos que se faz necessário um melhor estudo do mecanismo desse sinergismo em agentes da cromomicose.

SUMMARY

Synergism of amphotericin B and 5-fluorocytosine against *Fonsecaea pedrosoi*

Ten strains of *Fonsecaea pedrosoi* were tested "in vitro" in regard to their susceptibility to 5-fluorocytosine and amphotericin B, using different concentrations of both drugs, isolatedly or associated. The sum of the values obtained for the Fractional Inhibitory Concentrations (FIC) ranged from 0.12 to 0.60 µg/ml for all the strains tested, indicating a synergistic effect of the drugs.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Cid Ferreira Lopes, pelas sugestões e o envio das biopsias dos pacientes de cromomicose, para a obtenção das amostras de *Fonsecaea pedrosoi*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLOCK, E. R. & BENETT, J. E. — The combined effect of 5-fluorocytosine and amphotericin B in the therapy of murine cryptococcosis (37049). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142: 476-480, 1973.
2. BOPP, C. — Novo método de tratamento da cromoblastomicose. *An. Brasil. Dermat.* 49: 191, 1974.
3. BOPP, C. — Cura da cromoblastomicose por novo método de tratamento. *Med. Cutanea* 4: 285, 1976.
4. ELION, G. B.; SINGER, S. & HITCHINGS, G. H. — Antagonists of nucleic acid derivatives. VIII. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites. *J. Biol. Chem.* 208: 477-478, 1954.
5. GARRIQUES, I. L.; SANDE, M. A.; UTZ, J. P.; MANDRELL, G. L.; WARNER, J. F.; McGEHEE, R. F. & SHADOMY, S. — Abstract presented at 13th International Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, Sept. 1973.
6. GRUNBERG, E.; TITSWORTH, E. & BENETT, M. — Chemotherapeutic activity of 5-fluorocytosine. *Antimicrobial Agents Chemother.* 3: 566-568, 1964.
7. HOEPRICH, P. D. — Chemotherapy of systemic fungal diseases. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 18: 205-231, 1978.
8. KITAHARA, M.; MEDOFF, G. & KOBAYASHI, G. S. — Abstract presented at the 14th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, Sept. 1974.
9. LOPES, C. F. — Tratamento e cura da cromomicose pela 5-fluorocitosina. A sua propriedade. *An. Brasil. Dermat.* 48: 165-171, 1973.
10. LOPES, C. F.; ALVARENGA, R. J.; CISALPINO, E. O. & RESENDE, M. A. — Casos de cromomicose resistentes a 5-fluorocitosina. *An. Brasil. Dermat.* 53: 1-9, 1978.
11. LOPES, C. F.; ALVARENGA, R. J.; CISALPINO, E. O.; RESENDE, M. A. & OLIVEIRA, L. G. — Six years experience of chromomycosis with 5-fluorocytosine. *Int. J. Dermat.* 17: 414-418, 1978.
12. LOPES, C. F.; CISALPINO, E. O.; ALVARENGA, R. G.; ARMOND, S.; PORTO, R. V.; MAIA, F. A. A. & PEIXOTO, Y. — Treatment of chromomycosis with 5-fluorocytosine. *Int. J. Dermat.* 10: 182-191, 1971.
13. LOPES, C. F.; RESENDE, M. A.; ALVARENGA, R. J.; MOREIRA, Y. & FERREIRA, I. — 5-fluorocytosine in the treatment of chromomycosis. In: *Proceedings of the 10th International Congress of Chemotherapy*. Vol. I: 219-220. Zurich/Switzerland, 18-23 September, 1977. Publ. by Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C., 1978.
14. MEDOFF, G.; KOBAYASHI, G. S.; KWAN, C. N.; SCHLESSINGER, D. & VENKOV, P. — Potentiation of Rifampicin and 5-fluorocytosine as antifungal antibiotics by Amphotericin B. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 69: 186-199, 1972.
15. POLAK, A. M. — Determination de la synergie entre la 5-fluorocytosine et l'amphotéricine B au moyen de différents modèles "in vitro" et "in vivo". *Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd.* 3: 175-178, 1974.
16. POLAK, A. & SCHOLER, H. J. — Combination of amphotericin B and 5-fluorocytosine. In: *9th International Congress on Chemotherapy*. London, 1975. Reprinted from *Chemotherapy* 6: 1976.
17. RESENDE, M. A.; LOPES, C. F.; ANDRADE, E. S.; COSTA, R. T. & OLIVEIRA, L. G. — Testes de susceptibilidade de amostras de *Fonsecaea pedrosoi* à associação de 5-fluorocitosina e anfotericina B "in vitro". In *Anais do VI Congresso Brasileiro de Microbiologia*, Porto Alegre, 25 a 29 de julho de 1976.
18. SHADOMY, S. & DAVIS, B. A. — In vitro and in vivo studies with combinations of Amphotericin B and 5-fluorocytosine. In: *Proceedings of the 13th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1973.
19. SHAW, D. B.; RABINOVICH, S. & DONTA, S. T. — Abstract presented at the Annual Meeting of the American Society of Microbiology, Ann Arbor, 1972.
20. SMITH, C. E.; WHITING, E. G.; BAKER, E. E.; ROZENBERGER, H. C.; BEARD, R. R. & SAITO, M. T. — The use of coccidioidin. *Amer. Rev. Tuberc.* 57: 330, 1948.

Recebido para publicação em 8/3/1979.