

Organizadores
Sivoneide Maria da Silva
Francisco Henrique da Silva
Amanda Virgínia Barbosa
Matheus Alves Siqueira de Assunção
Fálba Bernadete Ramos dos Anjos

FATORES DE VIRULÊNCIA MICROBIANOS E TERAPIAS EMERGENTES

Vol. 02 - Fungos

São José dos Pinhais
LATIN AMERICAN PUBLICAÇÕES
2021

Organizadores

Sivoneide Maria da Silva

Francisco Henrique da Silva

Amanda Virgínia Barbosa

Matheus Alves Siqueira de Assunção

Fálba Bernadete Ramos dos Anjos



Fatores de virulência microbianos e terapias emergentes

Vol. 02 - Fungos

LATIN AMERICAN
publicações

**Latin American Publicações
2021**

2021 by Latin American Publicações Ltda.
Copyright © Latin American Publicações
Copyright do Texto © 2021 Os Autores
Copyright da Edição © 2021 Latin American Publicações
Editora Executiva: Barbara Luzia Sartor Bonfim Catapan
Diagramação: Lorena Fernandes Simoni
Edição de Arte: Os Autores
Revisão: Os autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial:

Prof^a. Dr^a. Fátima Cibele Soares - Universidade Federal do Pampa, Brasil. Prof. Dr. Gilson Silva Filho - Centro Universitário São Camilo, Brasil.

Prof. Msc. Júlio Nonato Silva Nascimento - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil.

Prof^a. Msc. Adriana Karin Goelzer Leining - Universidade Federal do Paraná, Brasil. Prof. Msc. Ricardo Sérgio da Silva - Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. Prof. Esp. Haroldo Wilson da Silva - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil.

Prof. Dr. Orlando Silvestre Fragata - Universidade Fernando Pessoa, Portugal.

Prof. Dr. Orlando Ramos do Nascimento Júnior - Universidade Estadual de Alagoas, Brasil.

Prof^a. Dr^a. Angela Maria Pires Caniato - Universidade Estadual de Maringá, Brasil. Prof^a. Dr^a. Genira Carneiro de Araujo - Universidade do Estado da Bahia, Brasil.

Prof. Dr. José Arilson de Souza - Universidade Federal de Rondônia, Brasil.

Prof^a. Msc. Maria Elena Nascimento de Lima - Universidade do Estado do Pará, Brasil.

Prof. Caio Henrique Ungarato Fiorese - Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil.

Prof^a. Dr^a. Silvana Saionara Gollo - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Brasil.

Prof^a. Dr^a. Mariza Ferreira da Silva - Universidade Federal do Paraná, Brasil.

Prof. Msc. Daniel Molina Botache - Universidad del Tolima, Colômbia.

Prof. Dr. Armando Carlos de Pina Filho - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima, Brasil.

Prof^a. Msc. Juliana Barbosa de Faria - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil.

Prof^a. Esp. Marília Emanuela Ferreira de Jesus - Universidade Federal da Bahia, Brasil.

Prof. Msc. Jadson Justi - Universidade Federal do Amazonas, Brasil.

Prof^a. Dr^a. Alexandra Ferronato Beatrice - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Brasil.

Prof^a. Msc. Caroline Gomes Mâcedo - Universidade Federal do Pará, Brasil. Prof. Dr. Dilson Henrique Ramos Evangelista - Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil.

Prof. Dr. Edmilson Cesar Bortoletto - Universidade Estadual de Maringá, Brasil.

Prof. Msc. Raphael Magalhães Hoed - Instituto Federal do Norte de Minas Gerais, Brasil.

Prof^a. Msc. Eulália Cristina Costa de Carvalho - Universidade Federal do Maranhão, Brasil.

Prof. Msc. Fabiano Roberto Santos de Lima - Centro Universitário Geraldo di Biase, Brasil.

Prof^a. Dr^a. Gabrielle de Souza Rocha - Universidade Federal Fluminense, Brasil.

Prof. Dr. Helder Antônio da Silva, Instituto Federal de Educação do Sudeste de Minas Gerais, Brasil.

Prof^a. Esp. Lida Graciela Valenzuela de Brull - Universidad Nacional de Pilar, Paraguai.

Prof^a. Dr^a. Jane Marlei Boeira - Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Brasil. Prof^a. Dr^a. Carolina de Castro Nadaf Leal - Universidade Estácio de Sá, Brasil.

Prof. Dr. Carlos Alberto Mendes Moraes - Universidade do Vale do Rio do Sino, Brasil.

Prof. Dr. Richard Silva Martins - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul Rio Grandense, Brasil.

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Tonani Tolfo - Centro Universitário de Rio Preto, Brasil.

Prof. Dr. André Luís Ribeiro Lacerda - Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil. Prof. Dr. Wagner Corsino Eneidino - Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.

Prof^a. Msc. Scheila Daiana Severo Hollveg - Universidade Franciscana, Brasil.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586f Silva, Sivoneide Maria

Fatores de virulência microbianos e terapias emergentes /
Sivoneide Maria da Silva. São José dos Pinhais: Latin
American Publicações, 2021.
262 p.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui: Bibliografia

ISBN: 978-65-992783-3-4

DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000058

1. Infecções. 2. Bactérias.

I. Silva, Sivoneide Maria. II. Silva, Francisco Henrique.

III. Barbosa, Amanda Virgínia. IV. Assunção, Matheus

Alves Siqueira. V. Anjos, Fálba Bernadete Ramos.

Título.

Latin American Publicações
São José dos Pinhais – Paraná – Brasil
www.latinamericanpublicacoes.com.br/
editora@latianamericanpublicacoes.com.br

APRESENTAÇÃO

A coleção intitulada “**Fatores de Virulência Microbianos e Terapias Emergentes**” surgiu a partir de ideias e indagações de singelos pesquisadores, movidos pelo desejo sempre novo de desbravar o mundo fantástico dos microrganismos. A proposta para o possível lançamento de um livro nos inspirou a organizar uma série de livros que contasse como os seres microscópicos sobrevivem às adversidades do meio.

O segundo volume desta coleção é destinado aos fungos de importância médica. Este livro é constituído por diferentes capítulos, que convidam o leitor a um passeio engrandecedor pelo Reino Fungi. As diferentes abordagens deste volume ao mesmo tempo que apresentam variados fungos patogênicos ao homem, estimulam a curiosidade sobre as inovações terapêuticas associadas ao controle de infecções fúngicas.

Sivoneide Maria da Silva
Francisco Henrique da Silva
Amanda Virgínia Barbosa
Matheus Alves Siqueira de Assunção
Fálba Bernadete Ramos dos Anjos

PREFÁCIO

É com grande felicidade que celebramos as conquistas da ciência, em tempos de tantos ataques e negacionismo científico. O livro Fatores de Virulência Microbianos e Terapias Emergentes, é um presente em um momento histórico, de pandemia, onde a microbiologia, infectologia, biotecnologia, imunologia, farmacologia, epidemiologia e demais áreas ligadas a ciência translacional, estão no dia a dia da população, na TV, nas redes sociais.

O livro é uma importante forma de divulgação do conhecimento científico, onde a universidade pública e o Sistema Único de Saúde merecem grande atenção. A pesquisa contribui para a geração de conhecimento e para o desenvolvimento da humanidade.

A Micologia, neste contexto se apresenta como uma área em ascensão no mundo todo, pois as infecções de origem fúngica são frequentes e afetam um número crescente de pessoas no mundo e estão entre as principais causas de doenças infecciosas. Em pacientes graves, principalmente atendidos em Unidades de Terapia Intensiva, os fungos estão entre os quatro agentes mais frequentes e essa frequência tem aumentado dramaticamente nas últimas décadas.

Aqui, desejo boa leitura, boas ideias, novas parcerias e novos projetos. O livro trás uma leitura, resultado do trabalho de cientistas na área da micologia, fonte da perseverança e curiosidade que devem sempre fazer parte da vida de quem veste um jaleco e decide fazer do laboratório um local de contribuição para melhoria da qualidade de vida da humanidade, fazendo da ciência uma ferramenta de transformação.

Abraço fraterno!!

Bruno Severo Gomes

SUMÁRIO

CAPÍTULO 01 1

PRODUÇÃO DE BIOFILME POR FUNGOS FILAMENTOSOS E LEVEDURAS

Franz de Assis Gradano dos Santos
Melyna Chaves Leite de Andrade
Ana Paula Sampaio Feitosa
Luiz Carlos Alves
Fábio André Brayner
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000059

CAPÍTULO 02 21

FUNGOS LIQUENIZADOS

Mônica Cristina Barroso Martins
Maria de Lourdes Lacerda Buril
Beatriz Cristina da Rocha Silva
Nicácio Henrique da Silva
Eugênia Cristina Pereira
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000060

CAPÍTULO 03 40

DERMATOFITOSSES: GÊNEROS DE RELEVÂNCIA CLÍNICA

Aparecido Jonanthan Mandú de Araújo
Roberto Carlos da Silva Bandeira
Bárbara de Azevedo Ramos
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000061

CAPÍTULO 04 55

EFEITO ANTIFÚNGICO DE PRODUTOS DE LIMPEZA USADOS EM AMBIENTES HOSPITALARES SOBRE FUNGOS ANEMÓFILOS

Katiucha Silva Rodrigues
Phelipe Manoel Oller Costa
Bruno Severo Gomes
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000062

CAPÍTULO 05 71

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A GÊNEROS DE *Candida sp.* DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Maria Carolina de Albuquerque Wanderley
Roberta Luciana do Nascimento Godone
José Manoel Duarte Wanderley
Thiago Pajeú Nascimento
Ana Lúcia Figueiredo Porto
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000063

CAPÍTULO 06 89

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE LECTINAS SOBRE LEVEDURAS PATOGÊNICAS: UMA REVISÃO

Leilane Marina Morais dos Santos
Thiago Henrique Napoleão

DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000064

CAPÍTULO 07 107

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *in vitro* DE EXTRATOS E INFUSÕES DE PLANTAS MEDICINAIS

Marília Cleide Tenório Gomes
Bruno Severo Gomes

DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000065

CAPÍTULO 08 127

RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE DE ANTIFÚNGICOS UTILIZADOS NA PRÁTICA CLÍNICA E INOVAÇÕES TERAPÊUTICAS

Mylena Félix de Lira
Bruna Maria Tavares de Melo
Lucas Lima de Oliveira
Cleriston de Oliveira Bezerra
Felipe Neves Coutinho
Marlene Saraiva de Araújo Neta
Antônio Rodolfo de Faria

DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000066

CAPÍTULO 09 148

ASPECTOS CLÍNICOS, DIAGNÓSTICOS, ESTRATÉGIAS DE PREVENÇÃO E TRATAMENTOS DA CRIPTOCOCOSE

Suéllen Pedrosa da Silva
Lidiane Pereira de Albuquerque
Gustavo Ramos Salles Ferreira
Pollyanna Michelle da Silva
Thamara Figueiredo Procópio
Emmanuel Viana Pontual
Patrícia Maria Guedes Paiva
Thiago Henrique Napoleão

DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000067

CAPÍTULO 10 169

LEVEDURAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA NÃO-ALBICANS

Raudiney Frankilin Vasconcelos Mendes
Amanda Virgínia Barbosa
Henrique Nelson Pereira Costa Junior
Bárbara de Azevedo Ramos

DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000068

CAPÍTULO 11 182

Candida albicans: FATORES DE VIRULÊNCIA E IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Henrique Nelson Pereira Costa Junior
Amanda Virgínia Barbosa
Raudiney Frankilin Vasconcelos Mendes
Bárbara de Azevedo Ramos

DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000069

CAPÍTULO 12 194

COMO A TECNOLOGIA FARMACÊUTICA PODE AUXILIAR NO DESENVOLVIMENTO
E INOVAÇÃO DE MEDICAMENTOS ANTIFÚNGICOS (PARTE 1)

Lucas Amadeu Gonzaga da Costa
Myla Lôbo de Souza
Aline Silva Ferreira
Asley Thalia Medeiros Souza
Pedro José Rolim Neto
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000070

CAPÍTULO 13 213

COMO A TECNOLOGIA FARMACÊUTICA PODE AUXILIAR NO DESENVOLVIMENTO
E INOVAÇÃO DE MEDICAMENTOS ANTIFÚNGICOS (PARTE 2)

Lucas Amadeu Gonzaga da Costa
Myla Lôbo de Souza
Aline Silva Ferreira
Asley Thalia Medeiros Souza
Pedro José Rolim Neto
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000071

CAPÍTULO 14 229

IMPORTÂNCIA DAS FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS PARA O
DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS ANTIFÚNGICOS

João Alberto Lins de Lima
Izaulinda Marquez da Rocha Campelo
Salatíel Henrique Pereira de Lima
Otávio Campelo Ramos
Caio José Anselmo da Silva
Thalita Soares de Souza
Aline Claudia Almeida de Britto Silva
Arnon de Melo Andrade Júnior
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000072

CAPÍTULO 15 250

COMPLEXO *Sporothrix schenckii* E ESPOROTRICOSE: UMA REVISÃO

Amanda Virgínia Barbosa
Bárbara de Azevedo Ramos
Ana Vitória Araújo Lima
Sivoneide Maria da Silva
Francisco Henrique da Silva
Márcia Vanusa da Silva
DOI: 10.47174/lap2020.ed.0000073

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 261

CAPÍTULO 01

PRODUÇÃO DE BIOFILME POR FUNGOS FILAMENTOSOS E LEVEDURAS

Franz de Assis Graciano dos Santos

Doutorando em Biologia de Fungos

Instituição: Universidade Federal Pernambuco/UFPE

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE

E-mail: franz.assis@gmail.com

Melyna Chaves Leite de Andrade

Doutora em Medicina Tropical – UFPE / Pós-doutoranda em Medicina Tropical

Instituição: Universidade Federal Pernambuco/UFPE

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE

E-mail: melynaleite@gmail.com

Ana Paula Sampaio Feitosa

Doutora em Medicina Tropical – UFPE / Pós-doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde – LIKA/UFPE

Instituição: Universidade Federal Pernambuco/UFPE

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil

E-mail: sampaiofeitosa@hotmail.com

Luiz Carlos Alves

Pós-doutorado em Biologia Celular e Molecular - National Institute of Health-EUA

Pesquisador Docente do Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ/PE e LIKA-UFPE

Instituição: Universidade Federal Pernambuco/UFPE

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil

E-mail: lcalves@cpqam.fiocruz.br

Fábio André Brayner

Pós-doutorado em Biologia Celular e Molecular - National Institute of Health-EUA

Pesquisador Docente do Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ/PE e LIKA-UFPE

Instituição: Universidade Federal Pernambuco/UFPE

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil

E-mail: brayner.santos@gmail.com

RESUMO: Os biofilmes podem ser definidos como comunidades de microrganismos que vivem aderidos a uma superfície e envoltos numa matriz extracelular complexa formada por uma mistura de compostos tais como proteínas, polissacáridos e DNA extracelular. A descoberta da formação de biofilme por bactérias e leveduras e mais recentemente por fungos filamentosos, levaram a uma melhor compreensão da ecologia microbiana e a novos conhecimentos sobre os mecanismos de virulência e persistência de microrganismos patogênicos, além de compreender os impactos na saúde, indústria e meio ambiente. Dentre os fungos, os biofilmes formados por leveduras representam um problema clínico crescente estando associado a taxas significativamente altas de mortalidade. O gênero *Candida* vem se destacando neste cenário, onde estas leveduras são equipadas com uma gama de fatores de

virulência e características comensais que conferem a capacidade de colonizar e invadir o tecido do hospedeiro. Neste grupo de fungos, a formação de biofilme pode ser dividida em quatro fases principais: adesão, proliferação, maturação e dispersão. Já para os fungos filamentosos estudos sobre a produção de biofilme são restritos e pouco consolidados, em sua maioria o termo biofilme não é utilizado, mas usualmente é utilizado termos alternativos, como "biomassa fúngica", 'massas multicelulares', 'esteiras miceliais', 'submerso/fermentação em estado sólido', ou bola fúngica. Recentemente foi estabelecido que o processo de formação de biofilme desse grupo de fungos compreende seis fases: Adsorção de propágulo, Fixação ativa a uma superfície, formação de microcolônia I, formação de microcolônia II, maturação ou desenvolvimento reprodutivo e fase de dispersão ou planctônica. Neste sentido abordaremos os aspectos gerais para produção de biofilme por fungos filamentosos e leveduras, importância clínica e econômica, além das alternativas terapêuticas disponíveis.

PALAVRAS-CHAVE: Biofilme, leveduras, fungos filamentosos, comunidade microbiana, fator de virulência

ABSTRACT: Biofilms can be defined as communities of microorganisms that live attached to a surface and surrounded by a complex extracellular matrix formed by a mixture of compounds such as proteins, polysaccharides and extracellular DNA. The discovery of biofilm formation by bacteria and yeasts, and more recently by filamentous fungi, has led to a better understanding of microbial ecology and new insights into the mechanisms of virulence and persistence of pathogenic microorganisms, in addition to understanding the impacts on health, industry and environment. Among fungi, yeast biofilms represent a growing clinical problem and are associated with significantly high mortality rates. The genus *Candida* has been standing out in this scenario, where these yeasts are equipped with a range of virulence factors and commensal characteristics that confer the ability to colonize and invade host tissue. In this group of fungi, biofilm formation can be divided into four main phases: adhesion, proliferation, maturation and dispersion. For filamentous fungi, studies on biofilm production are restricted and little quantity consolidated, mostly the term biofilm is not used, but alternative terms are usually used, such as "fungal biomass", "multicellular masses", "mycelial mats", 'submerged / solid state fermentation', or fungal ball. It has recently been established that the biofilm formation process of this group of fungi comprises six phases: Propagule adsorption, Active fixation to a surface, formation of microcolony I, formation of microcolony II, maturation or reproductive development and dispersion or planktonic phase. In this sense, we will approach the general aspects for the production of biofilm by filamentous fungi and yeasts, clinical and economic importance, in addition to the therapeutic alternatives available.

KEYWORDS: Biofilm, yeasts, filamentous fungi, microbial community, virulence factor.

1. INTRODUÇÃO

Biofilmes microbianos são definidos como comunidades microbianas de estrutura complexa, espacialmente orientada, que são envolvidas em uma matriz extracelular (MEC) e fixadas a uma superfície ou substrato (BARROS *et al.*, 2020). Essas comunidades foram descritas pela primeira vez por Anthony van Leewenhoek em 1684 ao observar um grande acúmulo de microorganismos em sua placa dental. Já no final da década de 20, vários artigos descreveram filmes microbianos ou camadas de lodo, no entanto pesquisadores alemães utilizavam o termo "*manto de sujidade*". Como as propriedades observadas em células microbianas aderidas a superfícies são únicas, quando comparadas a microrganismos em forma planctônica, o emprego do termo "Biofilme" tornou-se útil para descrevê-lo. O uso mais antigo de "*biofilme*" na publicação está na revista sueca Vatten: Harremoës, p. 1977. "Half-order reactions in biofilm and filter kinetics". Vatten, 33 122-143 (CHANDKI *et al.*, 2011; MSU, 2014).

Esta estrutura confere proteção contra os mecanismos de defesa do hospedeiro e entrada de antimicrobianos, dificultando assim a difusão dos fármacos nos tecidos. Além disso, facilita o processo de adesão e colonização das cepas constituintes sobre o hospedeiro ou sobre diferentes dispositivos médicos implantáveis como próteses, sondas e cateteres (RAMAGE *et al.*, 2012).

2. ASPECTOS GERAIS DA ADESÃO E FORMAÇÃO DE BIOFILMES

Uma ampla gama de bactérias e fungos são capazes de alternar entre o crescimento planctônico e comunidades multicelulares sésseis, comumente chamadas de biofilmes. As estimativas sugerem que até 80% de todos os microrganismos no ambiente existem em um estilo de vida comunitário, formando biofilme (LEITE-ANDRADE *et al.*, 2017).

As vantagens de formar um biofilme para um organismo incluem a proteção do meio ambiente, a resistência ao estresse físico e químico, a cooperação metabólica e a regulação da expressão gênica baseada na comunidade. Nos últimos anos, tem havido uma maior apreciação do papel que os biofilmes fúngicos desempenham nas doenças humanas, visto que os microrganismos que se desenvolvem no interior do biofilme exibem características fenotípicas únicas em comparação com as células planctônicas, particularmente maior resistência a agentes antimicrobianos (RAMAGE *et al.*, 2012).

A adesão e colonização de populações de fungos complexos em superfícies biológicas e inatas, como a mucosa oral ou substratos acrílicos de dentadura, por exemplo, é comum para fungos clinicamente relevantes (WILLIAMS *et al.*, 2011). Uma ampla variedade de fatores ambientais contribui para a fixação superficial inicial, incluindo o fluxo do meio circundante (urina, sangue, saliva e muco), pH, temperatura, osmolaridade, bactérias, presença de agentes antimicrobianos e fatores imunológicos do hospedeiro (BARROS *et al.*, 2020).

3. IMPORTÂNCIA CLÍNICA E IMPACTO ECONÔMICO ASSOCIADOS A BIOFILMES

Os biofilmes fornecem um nicho seguro, agindo como reservatórios para fontes persistentes de infecção. Esta estrutura tem um impacto adverso na saúde dos indivíduos acometidos com infecções causadas por fungos, visto que representam um problema crescente nos cuidados de saúde (RAMAGE *et al.*, 2009). O avanço na medicina com a finalidade de prolongar a vida dos pacientes no ambiente hospitalar, com uso de dispositivos médicos invasivos, nutrição parenteral, cateteres de demora, antibióticos de amplo espectro, quimioterapia e radioterapia propiciam uma predisposição para a adesão e produção de biofilme em superfícies abióticas por microrganismos, uma vez que essas estruturas sésseis podem se formar em uma ampla variedade de substratos (KOJIC; DAROUICHE, 2004).

Dessa forma, os biofilmes fúngicos se tornaram um problema clínico e econômico cada vez mais significativo, apresentando taxas de mortalidade inaceitavelmente altas. Estudos têm demonstrado que as células que se desprendem do biofilme têm uma associação maior com a mortalidade do que as células planctônicas equivalentes (UPPULURI *et al.*, 2010). Além disso, estas comunidades microbianas são importantes por serem refratários ao tratamento antifúngico, o que representa um grande problema para os médicos, pois a dose necessária para erradicar o biofilme pode exceder as maiores concentrações terapêuticamente atingíveis de antifúngicos (RASMUSSEN *et al.*, 2006).

4. ESTRATÉGIAS DE COMBATE AOS BIOFILMES

Biofilmes produzidos por espécies de *Candida*, como mencionado anteriormente, são responsáveis por infecções recorrentes e crônicas e são tolerantes e/ou resistentes a diferentes compostos antifúngicos, bem como ao

sistema imunológico inato do hospedeiro (MATHE; VAN DIJCK, 2013). Diferentes estudos indicam que a complexa estrutura do biofilme é que determina a susceptibilidade antifúngica desta comunidade. Esse fato pode ser explicado por vários fatores, como o aumento da atividade metabólica que ocorre no desenvolvimento inicial do biofilme, a presença de MEC e alterações na expressão gênica, incluindo a regulação positiva de genes CDR e MDR que codificam transportadores de resistência azólicos (MATHE; VAN DIJCK, 2013; TOBUDIC *et al.*, 2012).

Diferentes espécies de *Candida* demonstram um perfil de susceptibilidade do biofilme bem distinto. Estudos realizados por Rodrigues *et al.* (2016), revelaram que *C. glabrata* pode formar um biofilme mesmo na presença de concentrações terapêuticas de anfotericina B. Além disso, o biofilme revela uma alta concentração de carboidratos (β -1,3 glucanas), na parede celular, o que está implicado em sua tolerância antifúngica. Por outro lado, biofilmes de *C. glabrata* são suscetíveis ao voriconazol, que apresenta melhor potencial de penetração em comparação ao fluconazol (RODRIGUES *et al.*, 2017). Biofilme de *Candida tropicalis* é suscetível à micafungina; no entanto, a anfotericina B lipossomal, amplamente utilizada para o tratamento de infecções por *Candida* spp., não apresenta alta atividade antifúngica (MARCOS-ZAMBRANO *et al.*, 2016). Já *C. auris*, uma espécie emergente multirresistente, e a estrutura do biofilme é relatada como resistente ao fluconazol, ao voriconazol e às equinocandinas, micafungina e caspofungina, mas suscetível à anfotericina B, anfotericina B lipossomal e clorexidina (SHERRY *et al.*, 2017).

Devido às limitações no tratamento do biofilme produzido por *Candida* spp. com drogas convencionais, opções terapêuticas alternativas têm sido relatadas. Os óleos essenciais são uma importante fonte de compostos que podem ser aplicados no tratamento de biofilmes. Manoharan *et al.* (2017) avaliaram 83 óleos essenciais para um efeito anti-biofilme de *C. albicans*, e o óleo de *Helichrysum* foram considerados os mais eficazes, inibindo a formação de biofilme e reduzindo *in vivo* a virulência de *C. albicans*. O magnolol, encontrado principalmente em *Magnolia officinalis* já foi relatado como ativo contra biofilmes de *C. albicans*, *Candida glabrata* e *Candida dubliniensis*; além disso, essa molécula é capaz de se ligar ao ergosterol e causar permeabilização da membrana, o que é uma característica importante quando se considera o desenvolvimento de um novo antifúngico (MANOHARAN *et al.*, 2017).

Outra possibilidade para o tratamento de biofilmes é o reaproveitamento de drogas, que envolve a investigação de novos usos para drogas já existentes para tratar uma doença emergente (KATRAGKOU *et al.*, 2016). Nesse contexto, os inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRSs), fluoxetina e sertralina, foram avaliados e foi verificado que esses compostos são ativos contra biofilmes de *Candida* reduzindo a biomassa e o metabolismo (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Neste estudo, a fluoxetina foi utilizada com sucesso para inibição de biofilmes de isolados resistentes de *C. albicans*, *Candida parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Kathwate e colaboradores, em 2015, ao avaliarem os agonistas dos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA) (diazepam, lorazepam, midazolam) também demonstraram que esses fármacos são ativos contra o biofilme de *C. albicans*.

Ainda, a combinação de drogas foi recentemente relatada como uma possível alternativa para o tratamento do biofilme. O tratamento pode envolver combinações de agentes antifúngicos pertencentes a diferentes classes como opções terapêuticas potenciais. A terapia combinada promove um espectro de ação mais amplo, dosagens reduzidas e menor tolerância antifúngica (SANTOS *et al.*, 2020; DE CREMER *et al.*, 2015). As combinações bem-sucedidas incluem: fitoquímicos e drogas antifúngicas (PEMMARAJU *et al.*, 2013); antimicrobianos e agentes antifúngicos (LU *et al.*, 2018) e substâncias da estratégia de reaproveitamento e drogas antifúngicas (LIU *et al.*, 2016).

A nanotecnologia também vem sendo explorada como estratégia antifúngica no combate à biofilmes de *Candida*. Nanopartículas de prata foram consideradas ativas na inibição da formação de biofilme e em biofilmes pré-formados (LARA *et al.*, 2015). Além disso, a nanoestruturação de óleos com baixa solubilidade potencializa a atividade inibitória em biofilmes de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (SOUZA *et al.*, 2017). A terapia fotodinâmica também foi relatada como uma estratégia promissora no tratamento de biofilmes de *Candida*; esta tecnologia combina luz e um fotossensibilizador e promete reduzir a toxicidade e a tolerância antifúngica (PINTO *et al.*, 2018). A combinação de tecnologia fotodinâmica com drogas antifúngicas para ruptura de biofilme também foi aplicada com sucesso (HUANG *et al.*, 2018).

5. PRODUÇÃO DE BIOFILME POR LEVEDURAS

Biofilmes formados por leveduras representam um problema clínico crescente e está associado a taxas significativamente altas de mortalidade. *C. albicans* é o agente mais relatado como formador de biofilme fúngico, no entanto, outros gêneros como *Cryptococcus* sp. e *Trichosporon* sp. mostraram estar implicados em infecções associadas ao biofilme. Ainda, a persistência deste fator de virulência à terapia antifúngica continua sendo a maior ameaça aos pacientes com biofilmes (RAMAGE *et al.*, 2009).

O espectro de leveduras que colonizam superfícies e formam biofilmes é vasto. Diferentes tipos de biomateriais frequentemente usados nas clínicas propiciam a colonização e a formação de biofilme por leveduras e o aumento das leveduroses invasivas nas últimas décadas é praticamente paralelo ao aumento no uso de uma variedade de dispositivos de implante médico (LEITE-ANDRADE *et al.*, 2017).

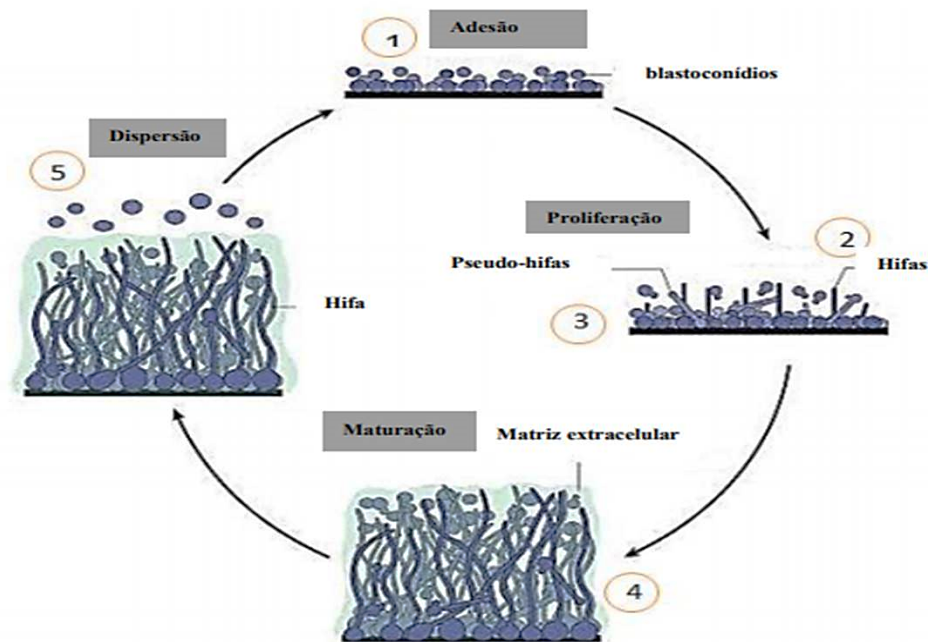
Cryptococcus neoformans, uma levedura oportunista encapsulada que causa meningoencefalite com risco de vida em indivíduos imunocomprometidos, demonstrou colonizar e subsequentemente formar biofilmes em derivações ventriculares, fístulas de diálise peritoneal e válvulas cardíacas (MARTINEZ; CASADEVALL, 2006). Diferentes espécies de *Trichosporon* (também leveduras oportunistas) podem causar infecções disseminadas com risco de vida e também foram associadas a infecções relacionadas a implantes médicos, incluindo cateteres, implantes mamários e enxertos cardíacos (KRZOSSOK *et al.*, 2004).

As espécies de *Candida* estão entre os agentes etiológicos mais comuns de infecções de biofilme relacionadas com leveduras. Dentro deste gênero, várias espécies de *Candida*, além da *C. albicans*, como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, têm sido relatadas como importantes patógenos em casos graves de candidíase invasiva. Estas leveduras são equipadas com uma ampla gama de fatores de virulência e características comensais que conferem a capacidade de colonizar e invadir o tecido do hospedeiro. Esses fatores incluem a expressão de adesinas e invasinas na superfície celular, capacidade de danificar células hospedeiras, timotropismo (detecção de contato), troca fenotípica, secreção de enzimas hidrolíticas e formação de biofilmes (HÖFS *et al.*, 2016).

As espécies de *Candida* são conhecidas por construir biofilmes altamente estruturados e dinâmicos compreendendo várias formas morfológicas (leveduras,

pseudo-hifas e hifas). Neste grupo de fungos, a formação de biofilme pode ser dividida em quatro fases principais: adesão, proliferação, maturação e dispersão (Figura 1) (LOHSE *et al.*, 2018; WALL *et al.*, 2019).

Figura 1: Etapas da formação de biofilme em *Candida* spp.



Fonte: Lohse *et al.*, 2017, com adaptações

Na fase de adesão, as células de levedura aderem a uma superfície e formam uma camada basal que irá ancorar o biofilme. Estudos de microarray de células que participam da formação de biofilme identificaram uma série de “adesões gênicas” com expressões alteradas de forma temporal. Estes estudos mostraram regulação positiva em duas classes de moléculas de adesão em dois momentos: em um ponto inicial (ALS1, ALS2, ALS3, ALS4, EAP1, MSB2, PGA6, SIM1, ORF19. 2449e ORF19. 5126) e em um momento posterior (HYR1, FAV2, IFF4, IFF6, PGA32, PGA55, ORF19.3988, ORF19.4906, ORF19.5813 e ORF19.7539.1) (FOX *et al.*, 2015, ALIM *et al.*, 2018).

A adesão é seguida por uma fase de proliferação, que é caracterizada pelo início da filamentação, levando ao surgimento de uma rede de hifas que contribui para a robustez geral do biofilme. A capacidade de formar hifas, bem como a aderência dessas hifas umas às outras e a outras células, é crítica para o desenvolvimento e manutenção normais do biofilme (Nobile *et al.*, 2015). Nesta fase,

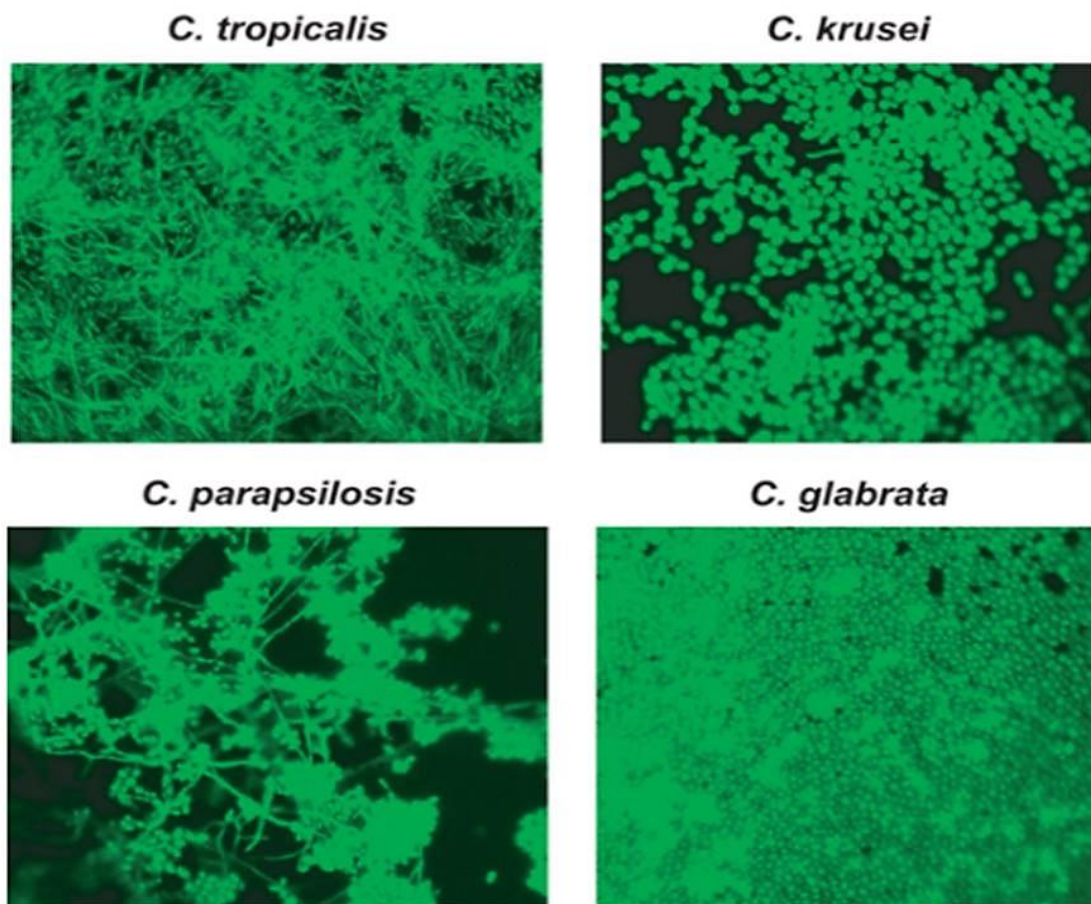
as hifas expressam vários fatores de virulência específicos do tipo celular, como adesinas (HWP1, HWP2, RBT1, ALS3, ALS10, FAV2 e PGA55), enzimas degradantes de tecidos (SAP4, SAP5 e SAP6), proteínas de defesa antioxidante (SOD5) e uma toxina de peptídeo citolítico (ECE1) (MOYES *et al.*, 2016; NOBLE *et al.*, 2017).

Na fase de maturação; há a produção de substâncias exo-poliméricas (EPS) que atuam essencialmente como um adesivo para segurar toda a arquitetura do biofilme. Um biofilme maduro de *C. albicans*, por exemplo, é envolto em uma matriz extracelular que é uma mistura de glicoproteínas (55%), carboidratos (25% em grande parte α - manana e polissacarídeos β -1,6-glucana e, em menor extensão, β -1, 3-glucano), lipídios (15%) e ácidos nucleicos (5%). Mais de 500 proteínas foram identificadas por espectrometria de massa na matriz, muitas das quais são enzimas, incluindo enzimas de hidrólise, sugerindo que a matriz pode desempenhar um papel ativo na quebra de biopolímeros (Lohse *et al.*, 2018), bem como o DNA que também representa um componente funcional da matriz. Outro componente bem conhecido é o β -1,3 glucano, responsável por fornecer resistência contra o fluconazol por sequestro da droga (NETT *et al.*, 2010).

A última fase é caracterizada pela dispersão de células de levedura e/ou partes do biofilme em forma madura. Isso permite a circulação e o estabelecimento dos biofilmes em novos locais, tornando a infecção sistêmica. Vários componentes, como reguladores transcricionais, proteínas da parede celular e chaperonas, são cruciais para esta etapa, sendo os reguladores envolvidos nessa dispersão UME6, PES1 e NRG1 (ALIM *et al.*, 2018; ROBBINS *et al.*, 2011)

Ademais, os biofilmes apresentam variações, a depender da espécie, quanto à estrutura e composição da matriz (Figura 2) (JAIN *et al.*, 2007). Biofilmes de *C. tropicalis* tem como principal componente da matriz extracelular a hexosamina (27%), além de carboidratos, proteínas, fósforo e ácido urônico, em menor quantidade (AL-FATTANI; DOUGLAS, 2006). Enquanto que a arquitetura constitui-se de uma complexa matriz de polissacarídeos com multicamadas compostas de blastoconídios e filamentos metabolicamente ativos (INÁCIO *et al.*, 2019). Já biofilmes de *C. glabrata* e *C. krusei* produzem biofilmes sem a presença de hifas verdadeiras e ricos em matriz extracelular (SILVA *et al.*, 2011).

Figura 2: Diferentes estruturas de biofilmes formados por *Candida* spp.



Fonte: Ramage *et al.*, 2009.

6. PRODUÇÃO DE BIOFILME POR FUNGOS FILAMENTOSOS

Os estudos acerca da produção de biofilmes por fungos filamentosos, ainda são escassos na literatura, provavelmente porque esses microrganismos apresentaram um perfil de formação de biofilmes diferente dos baseados nos modelos bacterianos. Desta forma, é necessário o entendimento acerca dos critérios para a formação de biofilme de destes microrganismos, tais como crescimento agregado complexo: feixes de hifas e/ou camadas (como em oposição a células fracamente associadas ou hifas crescendo em monocamadas), crescimento de células associado à superfície, células incorporadas em uma matriz polimérica extracelular, expressão gênica alterada resultando em mudanças fenotípicas que incluem: maior tolerância a compostos antimicrobianos ou biocidas, mudanças na produção e/ou secreção de enzimas ou metabólitos e mudanças fisiológicas (MOWAT *et al.*, 2008; MICHAEL *et al.*, 2009).

Além disso, muitos desses fungos produzem hifas invasivas e/ou estruturas que se estendem além da interface líquido-ar, ou as estruturas especializadas necessárias para a penetração do hospedeiro, esporulação e acúmulo de nutrientes na interface do hospedeiro. Essas diferenças na morfologia e o crescimento dificulta a compreensão dos biofilmes em fungos filamentosos. Desse modo, na maioria dos casos, o termo "biofilme" não é usado para descrever essa associação em superfície, mas usualmente é utilizado termos alternativos, como "biomassa fúngica", 'massas multicelulares', 'esteiras miceliais', 'submerso/fermentação em estado sólido', ou bola fúngica. No entanto, esporos, fragmentos de hifas e outros propágulos fúngicos podem ser considerados como fase planctônica como visto em leveduras e bactérias (GULIS *et al.*, 2008; MOWAT *et al.*, 2008; MICHAEL *et al.*, 2009).

A formação de biofilme por fungos filamentosos foi descrita inicialmente para *Aspergillus niger* cultivado em malha de poliéster caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), para *Aspergillus fumigatus* foi estudado por microscopia confocal de varredura a laser com (MCVL), transcriptômica, susceptibilidade a antibióticos e MEV, já para *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* foram analisados por MCVL e sensibilidade a antibióticos. Três critérios básicos são observados na formação de biofilme fúngico, todos tempo-dependentes, (i) adesão, que é fortemente aumentada pela hidrofobicidade do esporo de *A. niger*, (ii) uma fase inicial de crescimento e desenvolvimento, a partir da germinação de esporos à colonização da superfície, que é afetada pelo densidade do inóculo, e (iii) uma fase de maturação em que a densidade biomassa é altamente aumentada, uma organização de canal interno foi criado garantido esse fluxo médio através a biomassa, e presença de uma matriz extracelular associada a uma susceptibilidade reduzida a drogas antifúngicas (AKAO *et al.*, 2002; MOWAT *et al.*, 2008; MICHAEL *et al.* 2009; GONZÁLEZ-RAMÍREZ *et al.*, 2016).

Neste sentido, um grupo de pesquisadores canadenses propuseram um modelo de seis estágios para a formação de biofilme por fungos filamentosos (Figura 3) (MICHAEL *et al.*, 2009).

1. Adsorção de propágulo – Caracterizado pela deposição de esporos ou outros propágulos, como fragmentos de hifas ou esporângios. Esta etapa envolve essencialmente contato do organismo com uma superfície biótica ou abiótica.

2. Fixação ativa a uma superfície – Inclui a secreção de substâncias adesivas

por germinação de esporos e gametófitos ativos.

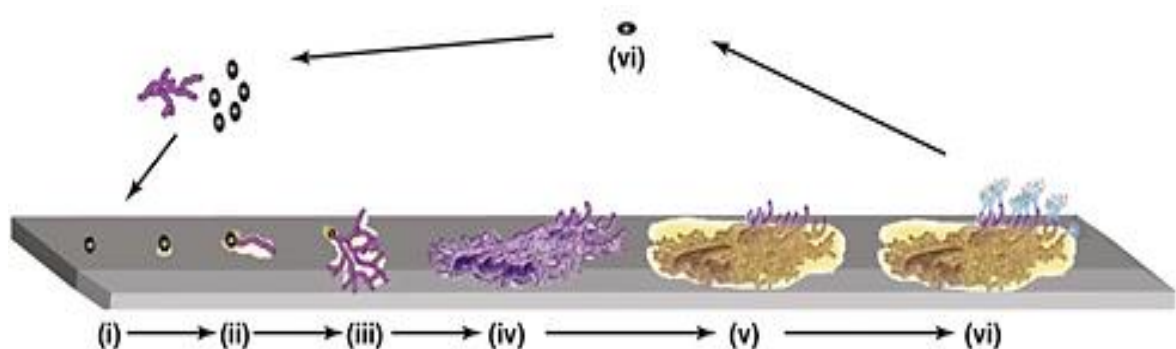
3. Formação de microcolônia I – Estágios iniciais de crescimento e colonização da superfície que envolvem alongamento apical e ramificação das hifas. Essas exploram o substrato, ramificam através das superfícies como uma monocamada, e/ou se tornar invasivo. Esta etapa envolve a produção de uma matriz polimérica extracelular que permite o crescimento de colônia fortemente aderidas ao substrato.

4. Formação de microcolônia II, ou maturação inicial – Envolve a formação de redes compactadas de hifas ou micélios e adesão entre hifa. Isso inclui camadas, formação de feixes de hifas aderidas por uma matriz polimérica extracelular, e a formação de canais de água através da repulsão hidrofóbica entre as hifas.

5. Maturação ou desenvolvimento reprodutivo – Caracterizada pela formação de corpos de frutificação, células esporogênicas, escleródios e outras estruturas de sobrevivência. O crescimento aéreo é muitas vezes uma característica fundamental da frutificação e dispersão de fungos.

6. Fase de dispersão ou planctônica. Envolve a dispersão de esporos ou liberação, de fragmentos de biofilme. As células liberadas podem atuar como novos propágulos para reiniciar o ciclo.

Figura 3: Etapas da formação de biofilme em fungos filamentosos.



Fonte: Harding et al., 2013.

Os fungos filamentosos comumente apresentam mais de uma forma planctônica que pode se dispersar para reiniciar o ciclo (ou seja, esporos sexuais, assexuados esporos, esporângios e fragmentos de hifas). Estas formas dispersivas

não são unicelulares e muitas vezes flutuam no ar em vez de água. Em particular, as estruturas sexuais costumam se formar em resposta ao estresse externo e aumentar a variabilidade genética dentro das populações (MICHAEL *et al.*, 2009). A Morfogênese aérea fúngica envolve a secreção de pequenas proteínas chamadas hidrofobinas. Estas proteínas são exclusivas de filamentosos fungos e desempenham um papel em vários processos no crescimento e desenvolvimento desses organismos. Hidrofobinas são envolvidos na formação de estruturas aéreas e na fixação de hifas a superfícies hidrofóbicas. Esta pode se organizar em interfaces hidrofílica-hidrofóbica e alterar as propriedades da superfície das hifas em resposta a sinais ambientais e de desenvolvimento. Também é possível que as hidrofobinas formem camadas destinadas a selar agregações de hifas em estruturas mais complexas em diversas espécies de fungos filamentosos (WOSTEN, 2001).

6.1 PRODUÇÃO DE BIOFILME POR *ASPERGILLUS* SP

Aspergillus fumigatus é o principal representante do gênero *Aspergillus* capaz de formar biofilme, aderido a superfícies bióticas e abióticas, esta forma de crescimento pode conferir ao patógeno a capacidade de colonizar diversos substratos, assim como resistir às defesas fagocíticas e ataques antimicrobianos (BEAUVAIS *et al.*, 2020; KAUR; SINGH, 2014).

Os biofilmes de *A. fumigatus* são formados estaticamente em condições de crescimento *in vitro* ou *in vivo*. Esta condição de crescimento já foi associada a forma clínica invasiva da aspergilose, frequentemente fatal em pacientes imunocomprometidos, bem como à forma de aspergiloma. Sendo considerada por muitos autores como um dos mais importantes fatores de virulências (MANFIOLLI *et al.*, 2018; VEERDONK *et al.*, 2017).

Estudos *in vivo* demonstram que a presença de biofilme em aspergiloma e aspergilose pulmonar invasiva (API). No aspergiloma, *A. fumigatus* cresce como um biofilme típico caracterizado por hifas fortemente envolvidas em uma matriz extracelular (MEC) formada principalmente por polissacarídeos. Já na aspergilose pulmonar invasiva, embora as hifas cresçam separadamente no pulmão, elas tendem a ser cobertas por uma MEC (BEAUVAIS *et al.*, 2020; MANFIOLLI *et al.*, 2018; KAUR; SINGH, 2014).

A MEC presente nos biofilmes de *A. fumigatus*, é composta por galactomanano, 1,3- glucanos, monossacarídeos, melanina, proteínas, polióis e melanina. Estudos apontam a presença de eDNA. Técnicas de imunomarcção em

proteínas evidenciam a presença de dois antígenos principais, o dipeptidilpeptidase V, e catalase B, e um alérgeno, AspF1 além de hidrofobinas (KAUR; SINGH, 2014; MANFIOLLI *et al.*, 2018). MEC exerce funções estruturais para aumento da densidade celular, controle da desagregação e alteração das necessidades nutricionais, agindo como uma barreira de proteção física e química contra sistema imunológico do hospedeiro e drogas antifúngicas (REICHHARDT *et al.*, 2015).

A produção de MEC está associada com a maturidade do biofilme e forma de infecção. Estudos demonstram que em biofilmes formados aspergiloma apresentam uma MEC mais espessa, quando comparado com biofilmes das infecções pulmonares invasivas, logo as hifas mostram células vacuolizadas após 48 horas de infecção. Já estudos de imunocitoquímicas do aspergiloma indicam a presença dos mesmos polissacarídeos encontrados na MEC produzida *in vitro* em culturas estáticas e aéreas, α -1,3 glucano, galactomanano e galactosaminogalactano, diferentemente da MEC dos biofilmes em API onde não são observados a presença de α -1,3 glucanos (BEAUVAIS *et al.*, 2020; KAUR; SINGH, 2014; MUSZKIETA *et al.*, 2013).

O processo de adesão e germinação dos conídios *in vitro* duram aproximadamente 10 horas, em seguida, há uma fase de alongamento antes que as hifas entrem em contato entre si e, formando uma monocamada em torno de 10 a 16 horas, seguida de maior complexidade estrutural nas próximas 4–8 horas de desenvolvimento (MOWAT *et al.*, 2007). Já a formação de biofilme *in vitro* de *A. fumigatus* em células epiteliais ocorre nas fases inicial (12h), intermediária (48h) e maturação (72h). Em co-culturas de células epiteliais foi demonstrado que os biofilmes de *A. fumigatus* consistiam de hifas paralelas e cruzadas com uma estrutura heterogênea de MEC, estabelecidas em células epiteliais brônquicas humanas e apresentavam as mesmas fases de desenvolvimento (MUSZKIETA *et al.*, 2013).

6.2 PRODUÇÃO DE BIOFILME PELO COMPLEXO *Sporothrix schenckii*

Os estudos acerca da formação de biofilme pelo Complexo *Sporothrix schenckii* continuam limitados. As espécies do Complexo *S. schenckii* são agentes de micose subcutânea aguda ou crônica em humanos e outros mamíferos, e infecções sistêmicas, particularmente em indivíduos imunocomprometidos (CHAKRABARTI *et al.*, 2015) sendo a esporotricose uma micose prevalente em todo o mundo. Vários fatores foram associados à virulência das espécies do Complexo *S.*

schenckii, incluindo termotolerância, produção de melanina, peróxido de ergosterol, proteases e adesão (ROJAS *et al.*, 2018).

A formação de biofilme é potencialmente um fator chave para a patogênese dessa micose. Em estudos recentes *S. schenckii* demonstrou a capacidade de formar biofilmes *in vitro*, sendo observadas as fases de adesão, desenvolvimento e maturação. Além da presença glicoproteínas e polissacarídeos de parede celular que são importantes para a interação e adesão em superfícies abióticas e bióticas. A adesão é um primeiro requisito para o desenvolvimento de biofilmes e para estabelecer uma infecção; *S. schenckii* apresentam conídios que se aderem à superfície e apresenta parede celular glicoproteica com manose e resíduo de glicose os quais participam desse processo de adesão às células epiteliais. (SÁNCHEZ-HERRERA *et al.*, 2020; SANDOVAL-BERNAL *et al.*, 2011).

Em biofilmes de *S. schenckii*, a matriz extracelular apresenta carboidratos e proteínas semelhantemente as matrizes de biofilme de *Candida* e *Aspergillus*, que são compostos por hexosamina e polissacarídeos. No entanto, a matriz extracelular de *S. schenckii* possui uma maior quantidade de carboidratos e menos proteína quando comparados aos biofilmes de espécies de *Candida*, sugerindo que a composição da matriz pode ser específica para cada espécie de fungo (SHOPOVA *et al.*, 2013).

Ademais, na matriz de biofilme do *S. schenckii* temos a presença de quatro classes macromoleculares: carboidratos, proteínas, lipídios e ácido nucleico. Nesse aspecto, há um consenso geral de que a matriz de biofilme atua como uma barreira para a difusão de agentes antimicrobianos, formando canais de água para hidratação e distribuição de nutrientes, o que proporciona estabilidade mecânica aos biofilmes, medeia a adesão de a superfícies e forma uma coesa rede de polímero tridimensional que se interconecta e transitoriamente imobiliza células de biofilme. (NOGUEIRA BRILHANTE *et al.*, 2017; MITCHELL *et al.*, 2016). Além disso, o eDNA componente da matriz da maioria dos biofilmes, protege de tensões tais como farmacologia, dessecação, nutrientes e outros. Sendo o papel do eDNA na formação de biofilme um importante fator de integridade estrutural do biofilme. A presença de eDNA na matriz extracelular de *S. schenckii* é uma chave para estabelecimento de biofilme e resistência antifúngica, o que tem levado a dificuldade de tratamento da esporotricose nos últimos anos. (NOGUEIRA BRILHANTE *et al.*, 2017).

Os biofilmes de *S. schenckii* expressaram resistência quando comparado às

culturas planctônicas, sugerindo que a estrutura do biofilme confere essa capacidade (NOGUEIRA BRILHANTE *et al.*, 2017). A resistência à atividade antifúngica ocorre por bombas de efluxo dependentes de CDR1, CDR2 e MDR as quais são relatadas em outros fungos patogênicos, mas é desconhecido a presença dessas moléculas expressas em *S. schenckii*, sendo necessários estudo complementares acerca desse mecanismo (SÁNCHEZ-HERRERA *et al.*, 2020).

7. CONCLUSÃO

O conhecimento acerca da produção de biofilmes por fungos é de grande importância para saúde, indústria e meio ambiente. Neste sentido, a compreensão do conceito de biofilmes, aspectos estruturais e composição, bem como o processo de formação, são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de controle efetivas e entendimento do risco que estes representam nesses setores. Sobretudo em fungos que não apresentam o processo de produção de biofilme totalmente definido, como os fungos filamentosos. O debate sobre o que qualifica um biofilme, as estratégias de erradicação e impacto causado por essa associação certamente devem continuar, e são necessários para desenvolvimento de modelos biológicos que permitam a compreensão de crescimento, desenvolvimento e respostas aos antimicrobianos, favorecendo o estudo de novos alvos e opções terapêuticas.

REFERÊNCIAS

- AKAO, T.; GOMI, K.; GOTO, K. et al. Subtractive cloning of cDNA from *Aspergillus oryzae* differentially regulated between solid-state culture and liquid (submerged) culture. **Current Genetics**, v. 41, p. 275–281, 2002.
- AL-FATTANI, M.A.; DOUGLAS, L.J. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: Chemical composition and role in drug resistance. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 999–1008, 2006.
- ALIM, D.; SIRCAIK, S.; PANWAR, S.L. The significance of lipids to biofilm formation in *Candida albicans*: an emerging perspective. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 4, p. 2–18, 2018.
- BARROS, P.P.; ROSSONI, R.D.; SOUZA, C.M. et al. *Candida* Biofilms: An Update on Developmental Mechanisms and Therapeutic Challenges. **Mycopathologia**, v. 185, p. 415–424, 2020.
- BEAUVAIS, A.; LATGÉ, J-P. *Aspergillus* biofilm in vitro and in vivo. **Microbiology Spectrum**, v.3, n. 4, p. MB-0017-2015.
- CHAKRABARTI A, BONIFAZ, A.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C. et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**, v. 53, p. 3–14, 2015.
- DE CREMER, K.; STAES, I.; DELATTIN, N.; CAMMUE, B.P. et al. Combinatorial drug approaches to tackle *Candida albicans* biofilms. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 13, n. 8, p. 973–984, 2015.
- DOUGLAS, L.J. *Candida* biofilms and their role in infection. **Trends Microbiology**, v. 11, p. 30–36, 2003.
- FOX, E.P.; BUI, C.K.; NETT, J.E. et al. An expanded regulatory network temporally controls *Candida albicans* biofilm formation. **Molecular Microbiology**, v. 96, p. 1226–399, 2015.
- GULIS, V.; SUBERKROPP, K.; ROSEMON, A.D. Comparison of fungal activities on wood and leaf litter in unaltered and nutrient-enriched headwater streams. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 1094–1101, 2008.
- HÖFS, S.; MOGAVERO, S.; HUBE, B. Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. **Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 149–69, 2016.
- HUANG, M.C.; SHEN, M.; HUANG, Y.J. et al. Photodynamic inactivation potentiates the susceptibility of antifungal agents against the planktonic and biofilm cells of *Candida albicans*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 434, 2018.
- INÁCIO, C.P.; DE ARAÚJO, P.S.R.; BRAYNER, F. et al. Invasive *Candida tropicalis* Infection Caused by Catheter Biofilm in a Patient with Tongue Cancer. **Mycopathologia**, v. 184, n. 2, p. 345–346, 2019.
- JAIN, N.; KOHLI, R.; COOK, E. et al. Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 6, p. 1697–1703, 2007.
- KATHWATE, G.H.; SHINDE, R.B.; KARUPPAYIL, S.M. Antiepileptic drugs inhibit growth, dimorphism, and biofilm mode of growth in human pathogen *Candida albicans*. **Assay and**

Drug Development Technologies, v. 13, n. 6, p. 307–312, 2015.

KATRAGKOU, A.; ROILIDES, E.; WALSH, T.J. Can repurposing of existing drugs provide more effective therapies for invasive fungal infections? **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 17, n. 9, p. 1179–1182, 2016.

KAUR, S; SINGH, S. Biofilm formation by *Aspergillus fumigatus*. **Medical Mycology**, v.52, p. 2-9, 2014.

LARA, H.H.; ROMERO-URBINA, D.G.; PIERCE, C. et al. Effect of silver nanoparticles on *Candida albicans* biofilms: an ultrastructural study. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 13, n. 91, p.1-12, 2015.

LEITE-ANDRADE, M.C.; OLIVEIRA, M.A.S.; SANTOS, F.A.G. et al. A new approach by optical coherence tomography for elucidating biofilm formation by emergent *Candida* species. **PLoS One**, v. 12, n. 11, p. 1-12, 2017.

LIU, S.; YUE, L.; GU, W. et al. Synergistic effect of fluconazole and calcium channel blockers against resistant *Candida albicans*. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0150859, 2016.

LOHSE, M.B.; GULATI, M.; JOHNSON, A.D.; NOBILE, C.J. Development and regulation of single and multi-species *Candida albicans* biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 19–311, 2018.

LU, M.; YANG, X.; YU, C. et al. Linezolid in combination with azoles induced synergistic effects against *Candida albicans* and protected *Galleria mellonella* against experimental candidiasis. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 3142, 2018.

MANFIOLLI, A O; REIS, T.F.; LEANDRO JOSÉ DE ASSIS, L.J. et al. Mitogen activated kinases (MAPK) and protein phosphatases are involved in *Aspergillus fumigatus* adhesion and biofilm formation. **The Cell Surface**, v. 1, p. 43–56, 2018.

MANOHARAN, R.K.; LEE, J.H.; KIM, Y.G. et al. Inhibitory effects of the essential oils alpha-longipinene and linalool on biofilm formation and hyphal growth of *Candida albicans*. **Biofouling**, v. 33, n. 2, p. 143-155, 2017.

MARCOS-ZAMBRANO, L.J.; GOMEZ-PEROSANZ, M.; ESCRIBANO, P. et al. Biofilm production and antibiofilm activity of echinocandins and liposomal amphotericin B in echinocandin-resistant yeast species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 6, p. 3579–3586, 2016.

MATHE, L.; VAN DIJCK, P. Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms. **Current Genetics**, v. 59, n. 4, p. 251-264, 2013.

MITCHELL, K.F.; ZARNOWSKI, R.; ANDES, D.R. et al. The extracellular matrix of fungi biofilms. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 3, p. 21–36, 2016.

MOWAT, E.; LANG, S.; WILLIAMS, C. et al. Phase dependent antifungal activity against *Aspergillus fumigatus* developing multicellular filamentous biofilms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.62, p. 1281–1284, 2008.

MOWAT, E.; WILLIAMS, C.; JONES, B. et al. The characteristics of *Aspergillus fumigatus* mycetoma development: is this a biofilm? **Medical Mycology**, v. 47 (Suppl 1), S1–S7, 2008.

MOYES, D.L.; WILSON, D.; RICHARDSON, J.P. et al. Candidalysin is a fungal peptide toxin

- critical for mucosal infection. **Nature**, v. 532, p. 64–68, 2016.
- MUSZKIETA, L. et al. Investigation of *Aspergillus fumigatus* biofilm formation by various "omics" approaches. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. 12, p. 4-13, 2013.
- NETT, J.E.; CRAWFORD, K.; MARCHILLO, K.; ANDES, D.R. Role of Fks1p and matrix glucan in *Candida albicans* biofilm resistance to an echinocandin, pyrimidine, and polyene. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, p. 3505-3508, 2010.
- NOBILE, C.J.; JOHNSON, A.D. *Candida albicans* biofilms and human disease. **Annual Review and Microbiology**, v. 69, p. 71–92, 2015.
- NOBLE, S.M.; GIANETTI, B.A.; WITCHLEY, J.N. *Candida albicans* cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 96–108, 2017.
- NOGUEIRA BRILHANTE RS et al. Antifungal susceptibility of *Sporothrixschenckii* complex biofilms. **Medical Mycology**, v. 56, p. 297–306, 2017.
- OLIVEIRA, A.S.; MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J.; DONDEERS, G.G.G. et al. Anti-*Candida* activity of antidepressants sertraline and fluoxetine: effect upon pre-formed biofilms. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 207, n. 3-4, p.195-200, 2018.
- PEMMARAJU, S.C.; PRUTHI, P.A.; PRASAD, R.; PRUTHI, V. *Candida albicans* biofilm inhibition by synergistic action of terpenes and fluconazole. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 51, n. 11, p. 1032–1037, 2013.
- PINTO, A.P.; ROSSETI, I.B.; CARVALHO, M.L. et al. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT), using toluidine blue O inhibits the viability of biofilm produced by *Candida albicans* at different stages of development. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 21, p. 182–189, 2018.
- RAMAGE, G.; MOWAT, E.; JONES, B. et al. Our current understanding of fungal biofilms fungal biofilms. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 340–355, 2009.
- RAMAGE, G.; RAJENDRAN, R.; SHERRY, L. et al. Fungal Biofilm Resistance. **International Journal of Microbiology**, v. 2012, p. 14, 2011.
- RASMUSSEN, T. B.; GIVSKOV, M. Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. **Microbiology**, v. 152, n. 4, p. 895–904, 2006.
- REICHHARDT, C.; FERREIRA, J.A.G.; JOUBERT, L.M. et al. Analysis of the *Aspergillus fumigatus* biofilm extracellular matrix by solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Eukaryotic Cell**, v. 14, n. 11, p.1064–1072, 2015.
- ROBBINS, N.; UPPULURI, P.; NETT, J. et al. Hsp90 Governs dispersion and drug resistance of fungal biofilms. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 9, p. e1002257, 2011.
- RODRIGUES, C.F.; GONÇALVES, B.; RODRIGUES, M.E.; et al. The effectiveness of voriconazole in therapy of *Candida glabrata*'s biofilms oral infections and its influence on the matrix composition and gene expression. **Mycopathologia**, v. 182, n.7, p. 653–64, 2017.
- RODRIGUES, C.F.; SILVA, S.; AZEREDO, J. et al. *Candida glabrata*'s recurrent infections: biofilm formation during amphotericin B treatment. **Letters in Applied Microbiology**, v. 63, n. 2, p.77–81, 2016.
- ROJAS O.C.; BONIFAZ, A.; CAMPOS, C. et al. Molecular identification, antifungal

susceptibility, and geographic origin of clinical strains of *Sporothrixschenckii* complex in Mexico. **Journal of Fungi (Basel)**, v. 4, p. E86, 2018.

SÁNCHEZ-HERRERA, R.; FLORES-VILLAVICENCIO, L.L.; PICHARDO-MOLINA, J.L. et al. Analysis of biofilm formation by *Sporothrixschenckii*. **Medical Micology**, v. 0, p. 1–10, 2020.

SANDOVAL-BERNAL G.; BARBOSA-SABANERO, G.; SHIBAYAMA, M. et al. Cell wall glycoproteins participate in the adhesion of *Sporothrixschenckii* to epithelial cells. **Mycophatologia**, v.171, p. 251–259, 2011.

SANTOS, F.A.G.; LEITE-ANDRADE, M.C.; BRANDÃO, I.S. et al. Anti-biofilm effect by the combined action of fluconazole and acetylsalicylic acid against species of *Candida parapsilosis* complex. **Infection, Genetics and Evolution**, v.84, p. 104378, 2020.

SHERRY, L.; RAMAGE, G.; KEAN, R. et al. Biofilm-forming capability of highly virulent, multidrug-resistant *Candida auris*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 2, p. 328–331, 2017.

SHOPOVA, I.; SANDRA BRUNS, S.; THYWISSEN, A. et al. Extrinsic extracellular DNA leads to biofilm formation and colocalizes with matrix polysaccharides in the human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 141. 2013.

SOUZA, M.E.; LOPES, L.Q.; BONEZ, P.C. et al. Melaleuca alternifolia nanoparticles against *Candida* species biofilms. **Microbial Pathogenesis**, v. 104, p. 125–32, 2017.

TOBUDIC, S.; KRATZER, C.; LASSNIGG, A. et al. Antifungal susceptibility of *Candida albicans* in biofilms. **Mycoses**, v. 55, n. 3, p. 199–204, 2012.

UPPULURI, A.; CHATURVEDI, K.; SRINIVASAN, A. et al. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. **PLoS Pathogens**, v. 6, n. 3, p.e1000828 2010.

VEERDONK, F et al. In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, p. 251-260, 2017.

WALL, G.; MONTELONGO-JAUREGUI, D.; VIDAL BONIFACIO, B. et al. *Candida albicans* biofilm growth and dispersal: contributions to pathogenesis. **Current Opinion in Microbiology**, v. 52, p. 1-6, 2019.

WILLIAMS, D.W.; KURIYAMA, T.; SILVA, S. et al. *Candida* biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. **Periodontology**, v. 55, n. 1, p. 250–265, 2011.

WOSTEN, H.A.B. Hydrophobins: multipurpose proteins. **Annual Review and Microbiology**, v. 55, p. 625–646, 2001.

CAPÍTULO 02

FUNGOS LIQUENIZADOS

Mônica Cristina Barroso Martins

Dra. Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: monicabarmartins@hotmail.com

Maria de Lourdes Lacerda Buriel

Dra. Biologia Vegetal pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Geografia
Endereço: Avenida Acadêmico Hélio Ramos, s/n – Cidade Universitária, Recife – PE, Brasil.
E-mail: lou.lacerda@gmail.com

Beatriz Cristina da Rocha Silva

Acadêmico de Biomedicina pelo Centro Universitário São Miguel.
Instituição: Centro Universitário São Miguel- Unisãomiguel.
Endereço: R. João Fernandes Viêira, 110 - Boa Vista, Recife – PE, Brasil.
E-mail: bia.riso123@gmail.com

Nicácio Henrique da Silva

Professor adjunto Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: nicacio_hsilva@hotmail.com

Eugênia Cristina Pereira

Profa. Titular Geografia
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Geografia
Endereço: Avenida Acadêmico Hélio Ramos, s/n – Cidade Universitária, Recife – PE, Brasil.
E-mail: verticillaris@gmail.com

RESUMO: O fungo liquenizado ou líquen pode ser considerado um holobionte, em que o um fungo (geralmente um Ascomiceto) é o componente dominante e contém um microbioma. Neste microbioma existe um parceiro fotossintético que pode ser uma alga ou cianobactéria. Os líquens apresentam morfologia diversificada e são capazes de habitar ambientes com extremos de temperatura, diferentes pH e intensa radiação solar. As substâncias por eles produzidas, a partir do seu metabolismo secundário, tem papel ecológico muito importante facilitando sua permanência e desenvolvimento nos diversos ambientes. Eles funcionam como protetores do talo contra a radiação ultravioleta (UVA e UVB), aos extremos de temperatura (frio e calor) e a ataques de predadores como insetos, parasitas, invertebrados e microrganismos. Seus metabólitos secundários, também chamados de ácidos líquênicos, compreendem substâncias produzidas em três rotas

biogénicas: acetato polimalonato, ácido mevalônico e do ácido chiquímico, que, semelhante na natureza, apresentam atividade biológica sobre fungos patogênicos. Entretanto, ainda há muito a ser explorado quanto a este potencial e muitas substâncias liquênicas ainda não foram testadas.

ABSTRACT: The lichenized fungi or lichen can be considered a holobiont, where a fungus (usually an Ascomycete) is the dominant component and contains a microbiome. In this microbiome there is a photosynthetic partner that may be an algae or a cyanobacteria. Lichens have diverse morphology and are able to inhabit environments with temperature extremes, different pH and intense solar radiation. The substances produced by them, from their secondary metabolism, have a very important ecological role, facilitating their permanence and development in different environments. They act as protectors of the thallus against ultraviolet radiation (UVA and UVB), temperature extremes (cold and heat) and attacks by predators such as insects, parasites, invertebrates and microorganisms. Its secondary metabolites, also called lichen acids, comprise substances produced in three biogenetic pathways: polymalonate acetate, mevalonic acid and shikimic acid, which, similar in nature, have biological activity on pathogenic fungi. Furthermore, there is still much to be explored regarding this potential, and many lichen substances have not yet been tested.

1. INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS DO LIQUENS

Líquen é uma associação simbiótica estável e autossustentável entre um fungo – o micobionte – e um parceiro fotossintetizante – o fotobionte (KIRK *et al.*, 2008). Mais precisamente o líquen é uma associação ecológica obrigatória estável entre um ex-habitante fúngico e um in-habitante fotossintético composto de uma população de algas unicelulares ou filamentosas ou cianobactérias localizadas extracelularmente (HAWKSWORTH; HONNEGER, 1994). Líquens são um grupo biológico não taxonômico e são únicos no sentido de que em muitos casos a forma de vida e comportamento resultantes diferem significativamente daqueles dos componentes isolados. Na maioria dos líquens o micobionte – que geralmente não ocorre em vida livre - é responsável pela forma geral do talo (como é chamado o corpo do líquen) e seus esporomas (antigamente denominados corpos de frutificação), mas há uma interação entre ambos componentes (fungo e fotobionte) na produção da forma final, e uma ampla variedade de relações biológicas estão envolvidas (KIRK *et al.*, 2008). Apesar da visão geral de que o líquen é constituído por uma espécie fúngica e uma espécie de fotobionte, há também associações liquênicas formadas por 3, 4, 5 ou mais parceiros na simbiose.

Estudos novos propõem uma revisão na definição de líquen, baseando-se em descobertas recentes:

Spribile *et al.* (2016) visualizaram pela primeira vez a presença de basidiomicetos leveduriformes (*Cystobasidiomycetes*, *Pucciniomycotina*) no córtex de líquens pendentes, e detectaram a presença dessas linhagens de leveduras em várias espécies, concluindo que as mesmas representam um componente integral no córtex superior de líquens. Variedades de bactérias também vêm sendo isoladas desde a primeira metade do século 20 (Cardinale *et al.*, 2008), bem como, protistas e até vírus (PETRZIK *et al.*, 2019). Assim, os líquens parecem ter evoluído como sistemas abertos e podem ser interpretados com ecossistemas em miniatura, incluindo uma variedade de organismos operando em diferentes níveis tróficos. Desse modo, o líquen pode ser tratado como um exemplo de “holobionte”, com um fungo dominante contendo um microbioma (SIMON *et al.*, 2019); o fungo liquenizado define a morfologia geral do talo e o parceiro fotossintético imerso no talo provê a necessidade energética, com pouca variação na diversidade e biomassa mais controlada, enquanto as bactérias e leveduras das camadas mais externas do talo

são mais diversas e menos específicas.

Em consequência, Hawksworth e Grube (2020) redefinem a simbiose líquênica como: “O líquen é um ecossistema autossustentável formado pela interação de um ex-habitante fúngico e um arranjo extracelular de um ou mais parceiros fotossintéticos e um número indeterminado de outros microrganismos microscópicos”.

A liquenização é uma das principais estratégias nutricionais dentro de *Fungi*. Os fungos liquenizados podem ser, mais frequentemente, um ascomiceto ou ainda um basidiomiceto. Alguns fungos anamórficos também podem ser liquenizados, no entanto, conforme os estudos filogenéticos e do ciclo de vida avançam, esses têm sido alocados para os ascomicetos, ou, mais raramente, basidiomicetos (MARCELLI, 2006; NASH, 2008).

Somam cerca de 17% de todas espécies fúngicas (s.str.) e 27% de todos *Ascomycota*. O número atual de espécies aceitas é 19.387 espécies, distribuídas em 995 gêneros, 115 famílias, 39 ordens e oito classes. *Basidiomycotaliquenizados* somam 172 espécies (0,9% do total de fungos liquenizados) em 15 gêneros, cinco famílias, cinco ordens e uma classe (sendo assim 19.215 spp., 980 gêneros, 110 famílias, 34 ordens e sete classes pertencem aos ascomicetos). Os basidiolíquens são geralmente considerados pobres em números de espécies, mas estudos recentes têm mostrado que algumas linhagens são altamente diversas. (LUCKING *et al.* 2016).

A liquenização se mostra, assim, um processo bastante vantajoso para o fungo, e estudos filogenéticos apontam que esse fenômeno surgiu várias vezes durante a história evolutiva, tanto de *Ascomycota* quanto *Basidiomycota*, tendo ocorrido de 20 a 30 eventos de liquenização independentes durante a evolução do grupo (LUCKING *et al.*, 2016).

O número de parceiros fotossintetizantes que podem participar da associação líquênica é relativamente pequeno: apenas 40 gêneros são representados, sendo 25 algas e 15 cianobactérias. A maioria pertence a gêneros de vida livre (e.g. *Coccomyxa*, *Myremecia*, *Trentepohlia* para algas verdes e *Gloeocapsa*, *Nostoc*, *Scytonema*, *Stigonema* para cianobactérias), e em alguns casos populações em vida livre e em associação líquênica podem ser encontradas em um mesmo hábitat. Apenas o complexo *Trebouxia* (incluindo *Pseudotrebouxia*), que ocorre em 20% de todos os líquens, aparenta ser exclusivamente liquenizado, sendo rara e discutível

sua ocorrência em vida livre na natureza (AHMADJIAN, 1993, MUKHTAR *et al.*, 1994). Assim, uma mesma espécie de fotobionte pode ocorrer em uma grande diversidade de associações liquênicas.

Inicialmente, líquens foram tratados como um grupo de organismos à parte dentro das plantas, por sua cor esverdeada e sua capacidade fotossintetizante. Em sua obra *Species Plantarum* Linnaeus descreveu cerca de 80 espécies de líquens dentro do gênero *Lichen*. Foi seu aluno Erik Acharius que se dedicou mais ao estudo dos líquens e escreveu a primeira classificação propriamente dita dos mesmos, sendo considerado o ‘pai da liquenologia’ (NASH, 2008).

Com a descoberta de Schwendener (1867) de que os líquens eram na verdade dois organismos em associação, e não apenas um organismo como se pensava anteriormente, os líquens pararam de ser tratados como uma unidade taxonômica, *Lichenes*. Um dos primeiros pesquisadores a incorporar esse tratamento nos seus estudos taxonômicos foi Edvard August Vainio, que também produziu uma importante obra sobre líquens brasileiros, tendo sido por isso declarado ‘pai da liquenologia brasileira’ (MARCELLI, 2006).

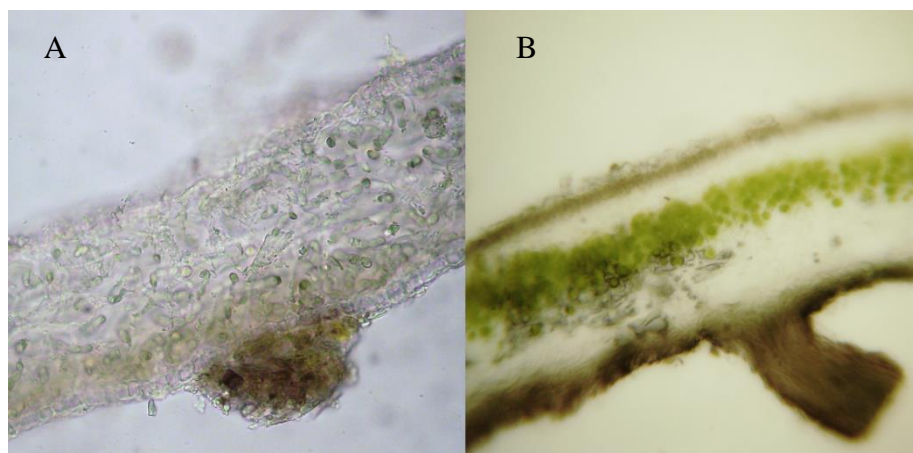
Assim, líquens deixaram de ser tratados como grupos exclusivos, e possuem nomes científicos próprios, apresentando na verdade uma nomenclatura específica quanto ao fungo, inserido no Reino *Fungi*, e uma nomenclatura específica para o fotobionte, dentro dos seus próprios reinos. O nome comumente dado ao líquen refere-se, na verdade, ao componente fúngico, visto que este é o parceiro dominante na associação, e o fotobionte apresenta sua classificação própria (TURLAND *et al.*, 2018).

O líquen é formado por uma matriz de hifas fúngicas na qual está imerso o fotobionte. Quando portador de algas verdes, o talo costuma apresentar coloração entre o branco e cinza, com tom esverdeado devido à clorofila; quando portador de cianobactérias, suas cores tendem ao marrom e cinza-chumbo. É comum que o líquen se torne um verde claro ou escuro mais vivo quando umedecido, pois as hifas fúngicas absorvem água e intumescem, se tornando transparentes. Em alguns casos, os líquens podem apresentar cores mais vivas, como amarelo, vermelho ou laranja; essas cores devem-se à presença de metabólitos secundários no talo (MARCELLI, 2006).

O fotobionte está ou distribuído aleatoriamente em uma matriz gelatinosa ao longo do talo liquênico (Figura 1), organização conhecida como talo **homômero**

(sem estratificação), ou em uma camada compacta abaixo do córtex superior ou externo do líquen, em uma organização denominada de talo **heterômero** (estratificado). No talo heterômero, as hifas fúngicas se adensam nas camadas mais externas, formando o córtex, e formam uma camada menos adensada internamente, que se divide em uma porção superior contendo o fotobionte, denominada camada de algas, e uma porção inferior ausente de fotobionte, chamada medula (HALE, 1983).

Figura 1. Corte transversal de talo liquênico. A: talo homômero; B: Talo heterômero.



Fonte: Buril, 2020

O talo liquênico pode apresentar diversas formas conforme sua organização e estruturação anatômica, indo desde formas mais simples, como o talo pulverulento, onde as hifas crescem por entre as colônias de algas de forma desorganizada, a formas mais complexas, como os talos fruticosos, com uma estruturação em camadas. Os principais tipos de talos são: crostoso, folioso, fruticoso (Figura 2); sendo menos frequentes os talos filamentosos, esquamuloso e o dimórfico. Adicionalmente ao talo, o mesmo pode apresentar diversas estruturas específicas, e sua presença ou ausência, forma, disposição, ontogenia e até abundância variam conforme o táxon. São algumas: máculas; pseudocifelas; cifelas; cílios; rizinas, tomento, fibrilas, protalo, (HALE, 1983; MARCELLI, 2006).

Figura 2. Tipos mais comuns de talos liquênicos. A: talo crostoso; B: talo folioso; C: talo fruticoso.



Fonte: Buriel, 2020.

O líquen pode produzir propágulos contendo o micobionte e fotobionte que formarão novos talos liquênicos, ou o fungo pode produzir esporos sexuados ou assexuadamente, que serão liberados no meio e precisam encontrar o fotobionte compatível para formação de novo talo liquênico. Assim, a simbiose liquênica pode reproduzir-se no meio pelo método direto, com formação de propágulos, ou indireto, com formação de esporos pelo fungo liquenizado (MARCELLI, 2006).

A reprodução direta pode ocorrer por fragmentação e morte de partes velhas do talo, formando talos liquênicos idênticos entre si, ou por **sorédios** ou por **isídios**, que são pequenos propágulos contendo fungo e fotobionte. A reprodução indireta pode ocorrer pela produção de **conídios**, esporos produzidos em conidiomas do fungo, que tanto podem atuar como gametas, na reprodução sexuada, como esporos, na reprodução assexuada, e pela produção de **ascósporos**, produzidos em ascomas (apotécio, peritécio, lirela ou mazéδιο) por reprodução sexuada, no caso de ascolíquens, ou **basidiósporos**, produzidos em basidiomas no caso de basidiolíquens. (MARCELLI, 2006).

Os propágulos, quando dispersos, podem gerar um novo talo ao cair em substrato adequado. Quando a dispersão é por meio de ascósporos, é necessário que o esporo, ao germinar, encontre o fotobionte compatível para realizar o processo de liquenização e gerar um novo talo. Caso isso não ocorra, o micobionte isolado possui baixas chances de sobrevivência devido à competição com outros organismos e tende a morrer. As principais estratégias do esporo fúngico para captura de células do fotobionte e subsequente liquenização são: o assentamento em uma colônia algal ou de cianobactérias de vida livre, capturando células conforme germina e cresce; a invasão de um líquen preestabelecido, matando o parceiro fúngico e capturando o fotobionte daquele talo; a aterrissagem próxima ou sobre um líquen, competindo com o mesmo e capturando células do fotobionte; ou

persistir em uma associação pouco estruturada com um parceiro fotossintético não específico até a captura de um parceiro algal verdadeiramente compatível (KIRK *et al.*, 2008).

O tipo de contato célula-a-célula do micobionte com o fotobionte varia em diferentes grupos; esse varia de justaposição parede-a-parede a uma variedade de haustórios intraparietais até haustórios intracelulares (GALUN *et al.*, 1970 a,b). É possível observar, em algumas associações, a presença de células algais mortas conectadas a haustórios, fortalecendo a teoria de que a associação liquênica pode se comportar mais como um parasitismo controlado do que como um mutualismo, como sugere Ahmadjian (1993): adicionalmente, o fotobionte tende a crescer mais lentamente em simbiose do que quando em vida livre.

De qualquer forma, sabe-se que os haustórios facilitam o transporte de carboidratos do fotobionte para o micobionte e questionamentos são feitos se os haustórios podem também facilitar a passagem de nutrientes do micobionte para o fotobionte (NASH, 2008). O fungo obtém do fotobionte substâncias de crescimento como tiamina e biotina e produtos da fotossíntese, como polióis, no caso de algas verdes, e glucose, bem como nitrogênio atmosférico, no caso de cianobactérias (KIRK *et al.*, 2008).

Sabe-se que o fungo liquenizado se beneficia enormemente ao obter sua nutrição do fotobionte, mas o benefício ao fotobionte com a associação é menos óbvio. O fotobionte principalmente ganha proteção contra a alta intensidade luminosa, temperaturas extremas e à dessecação, permitindo que ambos vivam juntos em áreas inóspitas, onde não poderiam fazê-lo independentemente (NASH, 2008).

1.2 VISÃO GERAL DO METABOLISMO PRIMÁRIO E SECUNDÁRIO EM FUNGOS LIQUENIZADOS OU LÍQUENS

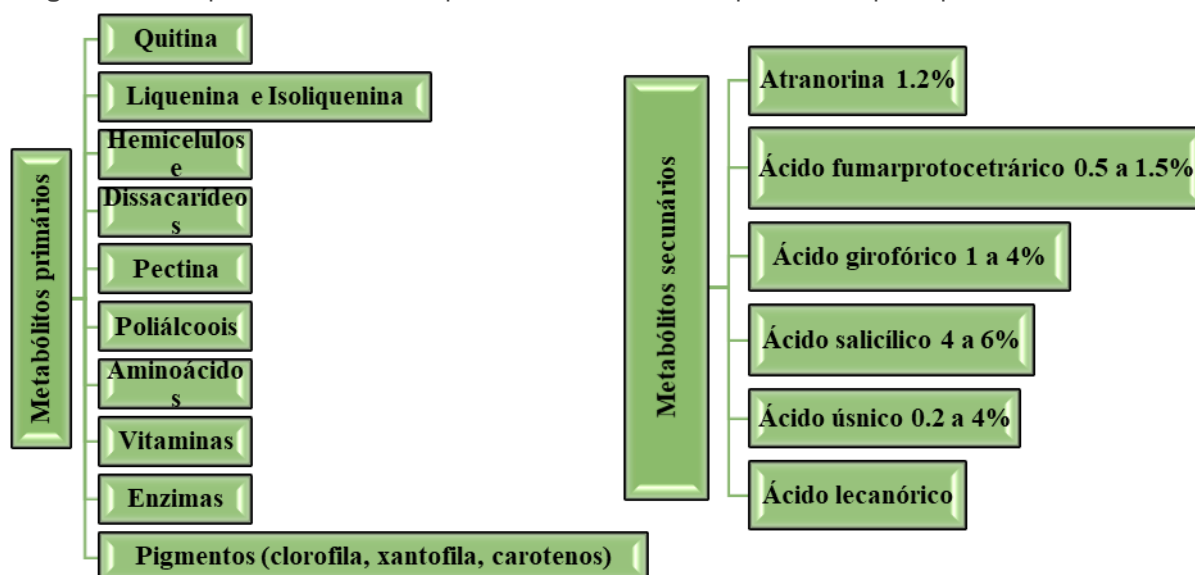
Semelhantes as plantas, os líquens produzem substâncias essenciais e não essenciais para o seu metabolismo a partir do que se convencionou denominar metabolismo primário (intracelular) e secundário (extracelular). Os produtos elaborados a partir do metabolismo primário (proteínas, polióis, polissacarídeos, vitaminas, aminoácidos e carotenoides) são aqueles fundamentais para sua sobrevivência. São encontrados nas paredes celulares e protoplastos e, por serem frequentemente solúveis em água, podem ser extraídos com água quente (FAHSELT, 1994b). Podem ser produzidos tanto pelo fungo, como também pela

alga.

Os aminoácidos são similares àqueles encontrados em plantas. A micosporina, serinol e ácido L-glutâmico 5-[(2,4-dimetoxifenil) hidrazina], por exemplo, foram descritos na literatura como sendo bons filtros solares (UVB) e apresentaram atividade antioxidante podendo ser isolados do líquen *Lichinapygmanea* (ROULLIER *et al.*, 2010). Os carotenoides, produzidos por ambos os simbiontes contribuem com 1,5-24 mg/g do peso seco do talo (RANKOVIĆ KOSANIĆ, 2019) e; os polissacarídeos com 3-5% (CULBERSON, 1970). De acordo com Hale (1983), foram identificados nos líquens os carotenoides: epóxido de β -caroteno, α -criptoxantina, luteína e astaxantina. As vitaminas, que são sintetizadas em sua maioria pelas algas, são: os ácidos ascórbico, nicotínico, pantatênico e fólico; biotina, α -tocoferol; riboflavina e tiamina.

O aporte de carbono necessário para abastecer as rotas biogénicas dos metabólitos secundários é fornecido pelas algas através da fotossíntese, e envolve o transporte de carboidrato para o fungo e subsequente biossíntese dos metabólitos secundários. Estas rotas de transporte são conhecidas desde 1969, quando Mosbach descreveu toda a rota do carbono metabólico para este fim. O tipo de carboidrato fornecido para o fungo é determinado pela alga e geralmente líquens que contêm algas verdes transferem ribitol, eritritol ou sorbitol. Por outro lado, líquens que contêm cianobactérias produzem glicose (Figura 3).

Figura 3. Exemplos de metabólitos primários e secundários produzidos por líquens



Fonte: Podterob, 2008.

Mesmo estando incluídos no Reino Fungi, os líquens são organismos únicos, pois apresentam características peculiares; entre elas a produção de substâncias (algumas exclusivas da classe), que são derivados fenólicos, produzidos pelo micobionte, através de um conjunto de genes na rota das policetídios sintases (PKSs) do tipo I e II, que levam à formação de quatro estruturas distintas bem diferenciadas quimicamente, conhecidas como depsídeos, depsidonas, dibenzofuranos, ácidos úsnicos e depsona. Estes compostos são denominados genericamente de substâncias liquênicas ou ácidos liquênicos (Tabela 1) (HOWELL *et al.*, 2003; EISENREICH *et al.*, 2011).

Tabela 1. Principais classes de compostos originados das três principais vias de produção de metabólitos secundários de líquens

Via do acetato-polimalonato	<ul style="list-style-type: none"> • Ácidos alifáticos secundários, ésteres e derivados relacionados; • Antraquinonas, xantonas, cromonas, naftoquinonas; • Compostos aromáticos derivados dos policetídios: a) compostos fenólicos mononucleares; b) derivados de unidades fenólicas, depsídeos, tridepsídeos e éteres benzílicos; depsidonas e éteres difenílicos, depsonas, dibenzofuranos, ácidos úsnicos e seus derivados.
Via do ácido mevalônico	Mono, di, sesqui e triterpenos, esteróides.
Via do ácido chiquímico	Terfenilquinonas e derivados do ácido pulvínico.

Fonte: Ivanova; Ivanov (2009).

As substâncias liquênicas são insolúveis em água, com peso molecular relativamente baixo que se acumulam no córtex (e.g. atranorina, parietina, ácido úsnico e as melaninas do fungo), ou na camada medular (e.g. ácidos fisódico, fisodálico e protocetrárico). Elas se depositam na porção extracelular em forma de cristais e/ou sobre a superfície das hifas, sendo restritas a áreas específicas do talo, estando relacionados a diferentes funções. O papel biológico das substâncias liquênicas pode ser resumido da seguinte forma: 1- eles podem ter papel antibiótico contra os microorganismos; 2- aumentam a permeabilidade da membrana do fotobionte; 3- inibem o crescimento ou germinação de planta com sementes e

musgos; 4- são capazes de absorver luz ultravioleta, protegendo o fotobionte do excesso de luminosidade; 5- são a base de defesa contra herbívoros e insetos; 6- previnem contra o excesso de água no talo, permitindo a contínua troca de gases (PÖYKKO *et al.*, 2010).

Algumas espécies de fungos não liquenizados do gênero *Aspergillus*, como por exemplo, *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. ochraceus* produzem os ácidos fumarprotocetrárico, lobárico, protocetrárico, salazínico, esquamático e estístico quando cultivados em meio de cultura contendo extrato de malte enriquecido com azeite de oliva (ZAIN, 2009). O micobionte isolado de *Parmelinella simplicor* produz a atranorina e o ácido salazínico cujo potencial antimicrobiano foi testado com sucesso contra o *Staphylococcus aureus* (DHARMADHIKARI *et al.*, 2010). Além da parietina (antraquinona), extraída de *Teloschistales*, e das plantas superiores do gênero *Rumex*, bem como, o ácido lecanórico obtido do fungo do gênero *Pyricularia* (BEDNAR; SMITH, 1965; ARMSTRONG; SMITH, 2009). Estes dados indicam que o micobionte sozinho é capaz de produzir estas substâncias acima citadas.

1. 3 ATIVIDADE BIOLÓGICA DE SUBSTÂNCIAS LIQUÊNICAS SOBRE FUNGOS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E MÉDICA

Na natureza existem milhares de espécies de fungos, porém a grande maioria é incapaz de causar infecções nos seres vivos, devido ao seu sistema de defesa, seja como fagocitose, sistema complemento, imunidade celular ou humoral, entre outros. No decorrer da evolução, algumas espécies foram capazes de se adaptarem a ambientes inóspitos e conseqüentemente sobrepujaram os diferentes mecanismos de defesa, podendo causar infecções de natureza cutânea ou respiratória em animais e humanos. As infecções podem ser leves ou intensas dependendo da susceptibilidade do indivíduo, envolvendo mucosas, órgãos e tecidos inteiros. São causadas por fungos patogênicos primários, que apresentam dimorfismo térmico, ou seja, na natureza se apresentam na forma de hifas, mas quando invadem o organismo humano adquirem a forma de levedura. Na maioria das vezes, são doenças pulmonares, com porta de entrada pelas vias aéreas (COELHO *et al.*, 2020).

É importante ressaltar que essas doenças apresentam distribuições geográficas características, sendo causas de endemias. Adicionalmente, devido ao uso irracional de antifúngicos, os fungos adquirem resistência aos medicamentos utilizados, tornando-se uma problemática no contexto de Saúde Pública, uma vez

que dificulta o tratamento de micoses produzidas pelos diferentes fungos (COELHO *et al.*, 2020). Por esta razão, novas moléculas estão sendo apresentadas e discutidas no meio científico quanto ao seu potencial antifúngico, no que concerne as linhagens resistentes. Moléculas promissoras surgem a partir de organismos naturais, sejam microrganismos, invertebrados, plantas e os líquens. Os metabólitos secundários dos líquens apresentam diversificadas atividades biológicas, importantes na área médica, entre elas a antifúngica, como descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Atividade biológica de substâncias liquênicas sobre fungos de importância médica

Extrato	Líquen	Metabólito secundário	Fungo	Referência
Etanol			<i>Candida</i>	Plaza et al., 2017
Diclorometano	<i>Cladonia aff. rappii</i>		<i>Cryptococcus</i>	
Água	<i>Alectoriasarmentosa</i>		<i>Absidiacorymbifera</i>	Ranković; Mišić, 2017
Álcool	<i>Usnea</i>		<i>Alternaria alternata</i>	
Acetato de etila	<i>C. rangiferina</i>		<i>Aspergillus flavus</i>	
			<i>A. fumigatus</i>	
			<i>A. niger</i>	
			<i>Botrytis cinerea</i>	
			<i>Cladosporium cladosporoides</i>	
			<i>Fusarium oxysporum</i>	
			<i>F. solani</i>	
			<i>Mucormucedo</i>	
			<i>Paecilomyces variotii</i>	
			<i>Penicillium funiculosum</i>	
			<i>P. raistrickii</i>	
			<i>Trichoderma harzianum</i>	
			<i>T. viride</i>	
Acetona	<i>C. amaurocraea</i> <i>C. rangiferina</i> <i>U. longissima</i>	Ácido úsnico	<i>Saprolegnia parasítica</i> <i>Achlyabisexualis</i> <i>Pythium</i> sp.	Guo et al., 2017
Metanol	<i>Ramalina</i>	Ácido úsnico Ácido salazínico Ácido sekikaico	<i>Alternaria</i> sp. <i>Fusarium</i> sp.	GN et al., 2017
Acetona	<i>Anaptychiaciliaris</i> <i>Cetraria islandica</i> <i>C. ramulosa</i> <i>C. uncialis</i> <i>Everniaprunastris</i> <i>P. hymenina</i> <i>P. rufescens</i> <i>R. fastigiata</i> <i>Xanthoparmelia conspersa</i> <i>X. tinctoria</i> <i>Xanthoria parietina</i>		<i>C. albicans</i>	Millot et al., 2017
Metanol	<i>Heterodermiadiademata</i>		<i>C. albicans</i>	Nath Jha et al., 2017
Diclorometano	<i>Parmotrema</i> sp.			
Hexano	<i>Heterodermia</i> <i>Cladonia</i>			

	<i>Lecanora</i> <i>Parmelia</i> <i>Streocaula</i>	Antronorina	<i>Cryptococcus</i> <i>A. flavus</i> <i>Penicillium purpurascens</i> <i>P. verrucosum</i> <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Microsporium audouinii</i> <i>M. canis</i> <i>M. gypseum</i> <i>M. nanum</i> ,	Studzińska-Sroka; Galanty; Bylka1, 2017
Acetona Etanol Metanol Água	<i>Caloplaca</i> <i>Everniastrum</i> <i>Heterodermia chyna</i> <i>Hypotrachyna</i> <i>Platismatia</i> <i>Ramalina</i>	Ácido úsnico	<i>Trichophyton longifusus</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. rubrum</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. violaceum</i> <i>T. rubrum</i> ,	Furmanek; Czarnota1; Seaward, 2018
		Xantonas	<i>M. canis</i> <i>E. floccosum</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>Botrytis cinérea</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>C. albicans</i> <i>Paecilomyces variotii</i>	Resende et al., 2018
Metanol	<i>P. ravum</i> <i>Parmelia</i>		<i>R. solani</i> <i>F. oxysporum</i> <i>S. rolfsi</i> ,	Padhi et al., 2018 González-Burgos; Fernández-Moriano; Gómez-Serranillos, 2019
Metanol	<i>Dirinaria agealita</i>	Carotenoides		Dawoud et al., 2020
Hexano Diclorometano Acetato de etila Acetona Hexano, Diclorometano, Acetato de etila Acetona Metanol	<i>Parmelia</i> <i>Parmelia</i> <i>Leconara</i>	Ácido orselínico	<i>Colletotrichum sp.</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Pyricularia oryzae</i> .	Tuan et al., 2020
			<i>Colletotrichum sp.</i> <i>F. oxysporum</i> <i>Fusarium. sp.</i> <i>Pyricularia oryzae</i> <i>Aspergillus spp.</i>	Tuan et al., 2020 Abdullah; Kolo; Sajadi, 2020

Fonte: Os autores.

2. CONCLUSÃO

Embora estejam sendo largamente estudados ao longo dos anos, ainda há muito a ser explorado a respeito dos metabólitos secundários produzidos pelos líquens. Muitas substâncias ainda não foram utilizadas em ensaios biológicos. Já se sabe, entretanto, que quando apresentam atividade biológica são em baixíssimas concentrações e suas moléculas podem servir de protótipos para a obtenção de novos fármacos.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, SHORISH M.; KOLO, KAMAL; SAJADI, S. Mohammad. Greener pathway toward the synthesis of lichen-based ZnO@ TiO₂@ SiO₂ and Fe₃O₄@ SiO₂ nanocomposites and investigation of their biological activities. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 8, p. 4044-4054, 2020.
- AHMADJIAN, V. **The Lichen Symbiosis**. New York: John Wiley, 1993.
- ANKITH, G. N. *et al.* Antibacterial and antifungal activity of three *Ramalina* species. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 7, n. 5, p. 27-32, 2017.
- ARMSTRONG, R. A.; SMITH, S. N. Carbohydrates in the hypothallus and areolae of the crustose lichen *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC. **Symbiosis**, v 49, p. 95–100. 2009.
- BEDNAR, T. W.; SMITH, D. C. VI. Preliminary Studies of Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism of the Lichen *Xanthoria Aureola*. **New Phytologist**, v. 65, n. 2, p. 211-220, 1966.
- BHATTACHARYYA, S *et al.* Lichen Secondary Metabolites and Its Biological Activity. **PharmTech Res**, v. 6, n. 6, p. 2249- 3387, 2016.
- CANDAN, M. *et al.* Antimicrobial activity of extract of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *Zeitschrift für Naturforschung*, v. 62, n. 7-8, p. 619-621, 2007.
- CARDINALE, M. *et al.* In situ analysis of the bacterial community associated with the reindeer lichen *Cladonia arbuscula* reveals predominance of *Alphaproteobacteria*. **FEMS Microbiology Ecology** 66: 63–71, 2008.
- CULBERSON, C. F.; KRISTINSSON, H.; J. A standardized method for the identification of lichen products. **Journal of Chromatography A**, v. 46, p. 85-93, 1970.
- D. FAHSELT, Secondary Biochemistry of Lichens, **Symbiosis**, Vol. 16, No. 2, 1994, pp. 117-165.
- DAWOUD, Turki M. *et al.* Characterization and antifungal activity of the yellow pigment produced by a *Bacillus* sp. DBS4 isolated from the lichen *Dirinaria agealita*. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, n. 5, p. 1403-1411, 2020.
- DHARMADHIKARI, M.; JITE, P. K.; CHATTIAR, S. Antimicrobial activity of extracts of the lichen and its isolated mycobiont. *Parmelinella simplicior*. **Asian Journal of Experimental Biological Science SPL**, p. 54-58, 2010.
- EISENREICH, W.; KNISPEL, N.; BECK, A. Advanced methods for the study of the chemistry and the metabolism of lichens. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 3, p. 445, 2011.
- FAHSELT, D. Carbon metabolism in lichens. *Symbiosis*, v. 17, p. 127–182, 1994b.
- FURMANEK, Ł.; CZARNOTA, P.; SEAWARD, M. R. D. Antifungal activity of lichen compounds against dermatophytes: a review. **Journal of applied microbiology**, v. 127, n. 2, p. 308-325, 2019.
- GALUN, M.; PARAN, N.; BEN-SHAUL, Y. An ultrastructural study of the fungus alga association in *Lecanora radiosia* growing under different environmental conditions. **J. Microscopie** 9, 801-806, 1970b.
- GALUN, M.; PARAN, N.; BEN-SHAUL, Y. The fungus-alga association in the Lecanoraceae:

an ultrastructural study. **The New Phytologist**, 69(3), 599-603, 1970a.

GONZÁLEZ-BURGOS, Elena; FERNÁNDEZ-MORIANO, Carlos; GÓMEZ-SERRANILLOS, M. Pilar. Current knowledge on Parmelia genus: Ecological interest, phytochemistry, biological activities and therapeutic potential. **Phytochemistry**, v. 165, p. 112051, 2019.

GUO, Shou-Yu et al. Antifungal activity of lichen extracts and usnic acid for controlling the saprolegniasis. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 3, n. 5, p. 43-47, 2017.

HALE, JR. M. E. **The biology of Lichens**. 3. ed. Baltimore: Edward Arnold, 1983.

HAWKSWORTH, D.L.; HONEGGER R. The lichen thallus: a symbiotic phenotype of nutritionally specialized fungi and its response to gall producers. In: Williams, M.A.J. (ed) **Plant galls: organisms, interactions, populations**. Clarendon Press, Oxford, pp 77–98, 1994.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

IVANOVA, D.; INVANOV, D. Ethnobotanical use of lichens: lichens for food review. **Scripta Scientifica Medica**, v. 41, p. 11-16. 2009.

JHA, Baidya Nath *et al.* Investigation of antioxidant, antimicrobial and toxicity activities of lichens from high altitude regions of Nepal. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, n. 1, p. 282, 2017.

KIRK, P. *et al.* Ainsworth & Bisby's. **Dictionary of the Fungi**. 10th ed. CABI Publishing. Great Britain, 2008.

MARCELLI, M. P. Fungos Liquenizados. In: XAVIER FILHO, L. et al. **Biologia de Liqueus**. 1. ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 2006.

MANOJLOVIC, N. T. *et al.* Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhammus frangula* and *Caloplaca certina*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 2, p. 244-246, 2005.

MILLOT, M *et al.* Antifungal and anti-biofilm activities of acetone lichen extracts against *Candida albicans*. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 651, 2017.

MOSBACH, K. Biosynthesis of lichen substances, products of a symbiotic association. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 8, n. 4, p. 240-250, 1969.

MUKHTAR, A.; GARTY, J.; GALUN, M. Does the lichen alga *Trebouxia* occur free-living in nature? – Further immunological evidence. **Symbiosis**, 17, 247–253, 1994.

PADHI, S *et al.* Antimicrobial secondary metabolites of an endolichenic *Aspergillus niger* isolated from lichen thallus of *Parmotrema ravum*. **Natural product research**, v. 34, n. 18, p. 2573-2580, 2020.

PETRZIK, K. *et al.* Chrysovirus inhabited symbiotic fungi of lichens. **Viruses** 11: 1120, 2019.

PLAZA, M. *et al.* Potential antifungal activity of *Cladonia aff. rappii* A. Evans. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 5, n. 5, p. 301-309, 2017.

- PODTEROB, A. P. Chemical composition of lichens and their medical applications. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 42, n. 10, p. 582-588, 2008.
- PÖYKKÖ, H. *et al.* Host use of a specialist lichen-feeder: dealing with lichen secondary metabolites. **Oecologia**, v. 164, n. 2, p. 423-430, 2010.
- RAJARAM, P *et al.* Extraction and purification of an antimicrobial bioactive element from lichen associated *Streptomyces olivaceus* LEP7 against wound inhabiting microbial pathogens. **Journal of King Saud University**, v. 32. n 3, p 2009-2015, 2020.
- RANKOVIC B.; KOSANIC, M. lichens as a potential source of bioactive secondary metabolites. In: Rankovic B. (eds) Lichen secondary metabolites. **Springer**, Cham. 2019.
- RANKOVIČ, B.; RANKOVIC, D.; MARIC, D. Antioxidant and antimicrobial activity of some lichen species. **Microbiology**, v. 79, n. 6, p. 809-815, 2010.
- RESENDE, D *et al.* Lichen xanthenes as models for new antifungal agents. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2617, 2018.
- ROULLIER, C. *et al.* A novel aryl-hydrazide from the marine lichen *Lichina pygmaea*: Isolation, synthesis of derivatives, and cytotoxicity assays. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 20, n. 15, p. 4582-4586, 2010.
- SCHEMEDA- HIRSCHMANN, G *et al.* A new antifungal and antiprotozoal depside from the Andean lichen *Protousnea poeppigii*. *Phytother*, v, 22, p. 349-355. 2008.
- SCHWENDENER, S. Über die wahre Natur der Flechtengonidien. **Verhandlungen der schweizerischen naturforschenden Gesellschaft**, 57, 9–11, 1867.
- SPRIBILLE, T. *et al.* Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. **Science** 353: 488–492, 2016.
- STOCKER-WÖRGÖTTER, E. (2002). Resynthesis of Photosymbiodemes. In: KRANNER, I.; BECKETT, R. P.; VARMA, A. K. **Protocols in Lichenology**: Culturing, Biochemistry, Ecophysiology and Use in Biomonitoring (Springer Lab Manual), pp. 47–60. Berlin: Springer, 2002.
- STUDZINSKA-SROKA, Elzbieta; GALANTY, Agnieszka; BYLKA, Wieslawa. Atranorin-an interesting lichen secondary metabolite. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 17, n. 17, p. 1633-1645, 2017.
- TUAN, Nguyen Trong *et al.* Chemical Constituents of the Lichen *Parmotrema tinctorum* and their Antifungal Activity. **Chemistry of Natural Compounds**, p. 1-3, 2020.
- TURLAND, N. J. *et al* (eds.). *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017*. Regnum Vegetabile 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books, 2018.
- WHITON, J. C.; LAWREY, J. D. Inhibition of *Cladonia cristatella* and *Ordaria fimicola* ascospore germination by lichen acids. *Bryologist*, v. 85, p. 222-226, 1982.
- WILKINSON, D.M. *et al.* Are heterotrophic and silica-rich eukaryotic microbes an important part of the lichen symbiosis? **Mycology** 6: 4–7, 2015.
- YAMAMOTO, Y. *et al.* Using Lichen Tissue Cultures in Modern Biology. **The Bryologist**,

96(3), 384-393, 1993.

ZAMBARE, P.; LEW P. CHRISTOPHER. Biopharmaceutical potential of lichens, Pharmaceutical Biology. **Pharm Biol**, v. 50, n. 6, p. 778-98, 2012.

CAPÍTULO 03

DERMATOFITOSSES: GÊNEROS DE RELEVÂNCIA CLÍNICA

Aparecido Jonathan Mandú de Araújo

Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail:jonathan.mandu@outlook.com

Roberto Carlos da Silva Bandeira

Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Ciências Farmacêuticas.
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail:roberto.bandeira@ufpe.br

Bárbara de Azevedo Ramos

Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco.
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Antibióticos.
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail:barbara.azevedo@ufpe.br

RESUMO: As dermatofitoses são infecções fúngicas ocasionadas por um grupo de fungos dermatófitos. Elas são mais prevalentes em países subtropicais e tropicais, embora se apresentem globalmente, e acometem tanto crianças quanto adultos. *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp. e *Epidermophyton* spp. são os três gêneros mais frequentemente associados a infecções em humanos e embora apresentem suas características individuais, eles não diferem na sua patogenia, uma vez que atuam, principalmente, no estrato córneo da epiderme. Entretanto, espécies destes gêneros podem variar quanto à capacidade de atuar nas unhas e cabelos. Essa variação ocorre quanto a sua forma de adesão e invasão ao tecido, fatores de virulência enzimáticos e não enzimáticos e resposta imune. O diagnóstico para essas infecções pode envolver exame direto, histológico, de cultura ou através de biologia molecular, além da análise do local afetado, pela extensão da lesão e pela espécie causadora. Os tratamentos atuais ainda se restringem aos antibióticos convencionais, uma vez que não há tanto investimento no tratamento de doenças fúngicas, por se tratar de uma doença negligenciada.

ABSTRACT: Dermatophytoses are fungal infections caused by a group of dermatophyte fungi. It is more prevalent in subtropical and tropical countries, although it is present themselves globally, and affect both children and adults. *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp. and *Epidermophyton* spp. it is the three genera most frequently associated with infections in humans and although it is present their individual characteristics, it is do not differ in their pathogenesis, since they act, mainly, in the stratum corneum of the epidermis. However, species of these genera may vary in terms of their ability to act on nails and hair. This variation occurs in terms of its form of adhesion and invasion to the tissue, enzymatic and non-

enzymatic virulence factors and immune response. The diagnosis for these infections can involve direct examination, histological, culture or through molecular biology, in addition to the analysis of the affected site, the extent of the lesion and the causative species. Current treatments are still restricted to conventional antibiotics, since there is not so much investment in the treatment of fungal diseases, as it is a neglected disease.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são seres eucarióticos, quimio-heterotróficos, sua reprodução se dá através de esporos reprodutivos sexuais e assexuais, e se alimentam absorvendo componentes orgânicos externos. São classificados estruturalmente em fungos filamentosos, leveduras e dimórficos (TORTORA, 2012). Eles vivem por meio de relações simbióticas, comensais ou patogênicas com plantas, humanos e animais podendo causar infecções nesses hospedeiros (HUBE, 2009).

O impacto desses patógenos vão muito além das infecções em humanos, uma vez que tem a capacidade de infectar animais e plantas e, nesse último, destruir inúmeras safras de alimentos causando perdas econômicas severas, que pode elevar o índice de pobreza em certas regiões. Porém, apesar da sua importância, doenças fúngicas são muitas vezes esquecidas, embora cumpram os requisitos para serem classificadas como doenças negligenciadas (ALMEIDA, 2019). O grau da infecção fúngica pode divergir de acordo com uma variedade de fatores que podem envolver o hospedeiro, os metabólitos do fungo, a virulência, as cepas, os fatores ambientais e a localização anatômica da infecção (POLURI, 2015).

Ao longo dos tempos, a incidência de infecções fúngicas tem aumentado. Essas infecções têm maior ocorrência em ambientes hospitalares e em pacientes com o sistema imune comprometido, como pacientes receptores de transplantes, com câncer, que fazem uso de imunomoduladores, neonatos e idosos. Quantificar doenças fúngicas é um desafio pois há falta de vigilância de rotina e muitas vezes são difíceis de diagnosticar uma vez que se manifestam com sintomas inespecíficos, levando a uma dificuldade no levantamento de dados epidemiológicos (TORTORA, 2012; VALLABHANENI, 2015).

Micoses superficiais são o tipo de micose mais frequente e apresentam como características gerais a transmissão por contato direto, inflamação local e ausência de anticorpo séricos. Dentre esse grande grupo, as dermatofitoses constituem um subgrupo de fungos que tem como característica a capacidade de invadir tecido queratinizados causando infecções (SIDRIM, 2004; ZAITZ, 2010).

As Dermatofitoses são infecções fúngicas ocasionadas por um grupo de fungos conhecidos como dermatófitos, e são conhecidos popularmente como “epinge” ou “frieira”. Elas são prevalentes em países subtropicais e tropicais e são, respectivamente, o terceiro e o segundo distúrbio dermatológico mais frequente em crianças menores de 12 anos e adultos. Estes fungos se alimentam de queratina e

se localizam na pele, no pelo e nas unhas. Os principais gêneros incluem *Trichophyton*, *Epidermophytone* e *Microsporum*, membros da família Arthrodermataceae (ANVISA, 2004; CORTEZ, *et al*, 2012; CHIMMAPUN, 2015).

Embora sejam as infecções fúngicas mais comuns em países subtropicais, as dermatofitoses se apresentam globalmente. Elas variam em sua distribuição, frequência e seus agentes etiológicos, segundo sua região geográfica, as características socioeconômicas da população e ao turismo, que proporciona uma maior migração dos microrganismos de sua região de origem para regiões onde antes essas espécies não eram relatadas como causadoras de dermatofitoses (MATTÊDE, *et al*. 1986; LANA, 2016).

2. AGENTES ETIOLÓGICOS

2.1 *Microsporum* spp.

Segundo Lana e colaboradores (2015), *Microsporum canis* é um dos principais agentes etiológicos de dermatofitoses, correspondendo a 15% de todas as infecções dermatofíticas, sendo o agente infeccioso mais isolado nos casos de infecções do couro cabeludo em casos de *Tinia capitis*. Sua transmissão inter-humano é rara porém pode ocorrer, como demonstrado no estudo de Gurtler (2005).

Um estudo realizado por Gurtler e colaboradores (2005), demonstrou que a micromorfologia de *M. canis* revelou a presença de filamentos hialinos, septados, ramificados e macroconídeos fusiformes, de extremidades afiladas, paredes grossas, espinescentes, com mais de seis células internas.

Coutiño e colaboradores (2009), evidenciaram em um estudo utilizando 45 cepas de *M. canis* que elas são caracterizadas por um crescimento rápido estimado entre 7 e 14 dias, se apresentam como fungos brancos filamentosos em colônias plana, com aspecto fofo e algodinoso. Tais aspectos podem estar relacionados com seus micélios. Sugerem também que as diferenças entre as espécies podem variar em cor da colônia, forma dos macroconídeos e presença ou ausência de equinulações.

2.2 *Trichophyton* spp.

Trichophyton rubrum é a espécie responsável pela maior causa de infecções por dermatófitos, sendo o a gente mais isolado, especialmente em onicomicoses, o que corrobora com os dados da literatura de vastas pesquisas realizadas em outras regiões e em diferentes épocas (LANA, 2016; SILVA, 2017). Já a espécie *T.*

mentagrophytes é a segunda espécie mais isolada nos casos de dermatofitoses.

Em relação as características fenotípicas, Gouling e seus colaboradores (2006), afirmaram que o *T. rubrum* possui alto grau de diversidade morfológica, incluindo a presença ou ausência de hifatura reflexiva, micro e macroconidia, pigmentação de colônia vermelha e atividade urease. Como discute Ates (2008), já foi demonstrado pela análise de microsátélites que não há nenhum grupo de genótipos que se correlacionam a um tipo morfológico especial em *T. rubrum*.

2.3 *Epidermophyton* spp.

Silva e colaboradores (2018), discutem que *Epidermophyton floccosum* é a espécie que tem índice de incidência próximo à espécie *M. canis*, e que as infecções tiveram maior incidência na região ingual e em indivíduos do sexo masculino. Porém, *E. floccosum* manteve uma relação parecida quando comparada com outros trabalhos, como o de Damázio e seus colaboradores (2007).

A presença de micronídeos distingue o gênero *Trichophyton* do *Epidermophyton*, e os conídeos de paredes lisa, em sua maioria sésseis, o separa do *Microsporum* (CHEN *et al.*, 2011). As colônias de *E. floccosum* geralmente apresentam uma cor que pode variar de amarelo até algumas tonalidades de verde. Observa-se hifas septadas e hialinas, macroconídios e células semelhantes a clamidósporos, não se observando nunca a presença de microconídios (LIU; COLE, 2011).

3. PATOGENIA

De forma geral, a patogenia dos gêneros *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp. e *Trichophyton* spp. não diferem entre si, uma vez que atuam, principalmente, no estrato córneo da epiderme. Entretanto, espécies destes gêneros podem variar quanto à capacidade de atuar nas unhas e cabelos (SIMPANYA, 2000). Assim, pode-se dividir o processo patogênico dos dermatófitos, na epiderme, em três etapas: adesão, invasão e resposta imune.

3.1 ADESÃO

Após a transmissão do microrganismo, que pode ser dada através do contato direto com animais e humanos contaminados ou indireto através de fômites contaminados; ele deve aderir à epiderme queratinizada, a partir da germinação do arthroconídio e rápida penetração da hifa no estrato córneo, para evitar que o fungo seja eliminado juntamente a descamação da pele, que é um dos mecanismos de

defesa (PERES *et al.*, 2010).

É relatado que o número de esporos aderentes é dependente do tempo. Em um experimento utilizando secções da pele, foi demonstrada que a espécie *Trichophyton mentagrophytes* leva 12 horas para aderir, 24 horas para germinar e até 3 dias para invadir o estrato córneo (DUEK *et al.*, 2004). Além disso, é demonstrada a existência de um material polimérico entre as células do estrato córneo e os artroconídios, que provavelmente desempenha um papel importante para a fixação dos esporos (DUEK *et al.*, 2004; KAUFMAN *et al.*, 2007).

Os fatores que permitem a etapa de adesão ainda não são muito elucidados, entretanto, sugere-se que os carboidratos manose e galactose, que estão presentes na camada externa da pele, são adesinas reconhecidas por espécies *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* (ESQUENAZI *et al.*, 2004; ESQUENAZI *et al.*, 2003). Além disso, é relatado que proteases secretadas pelos dermatófitos também possuem influência na aderência dos micro-organismos (BALDO *et al.*, 2008; BALDO *et al.*, 2010).

3.2 INVASÃO

Após o processo de adesão, as hifas passam a crescer e a se ancorarem no hospedeiro a partir da projeção transversal e longitudinal por toda a camada externa (URIBE; CARDONA-CASTRO, 2013). Durante esta etapa, vários fatores de virulência, sendo eles enzimáticos ou não, são produzidos.

3.2.1 FATORES DE VIRULÊNCIA ENZIMÁTICOS

As macromoléculas presentes na epiderme do hospedeiro são utilizadas, pelos dermatófitos, como fonte de nitrogênio, carbono, fósforo e enxofre. Então, para isso, os micro-organismos produzem diversas enzimas, como lipases, proteases e celulase. As enzimas proteolíticas são as mais estudadas, sendo as proteases queratolíticas mais relacionadas com a patogenicidade dos dermatófitos (PERES *et al.*, 2010).

No entanto, primeiramente, é necessário que as ligações dissulfeto, presentes na queratina dura garantindo sua estabilidade, sejam reduzidas, para permitir a ação das proteases (KUNERT, 1992). Sugere-se que essa redução é feita por uma bomba de efluxo de sulfito, pertencente à família de transportadores TDT (*tellurite-resistance/dicarboxylate*), que são codificadas pelo gene *Ssu1* (LECHENNE *et al.*, 2007).

O sulfito liberado por esse transportador permite a clivagem da cistina,

presente nas pontes dissulfeto, em S-sulfocisteína e cisteína, possibilitando a ação de exo e endoproteases (LECHENNE *et al.*, 2007); sendo as exoproteases as que clivam ligações peptídicas no N- ou C- terminal do polipeptídeo, e as endoproteases as que clivam ligações peptídicas ao longo do polipeptídeo (MONOD, 2008). Além das proteases, outras enzimas também desempenham um papel importante na virulência desses patógenos, como as fosfolipases e lipases (ELAVARASHI; KINDO; RANGARAJAN, 2017), que são relacionadas também com a capacidade de parasitar o hospedeiro.

3.2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA NÃO ENZIMÁTICOS

Além das enzimas, foram estudados outros fatores que poderiam contribuir para a patogenicidade dos dermatófitos e, para isso, utilizaram do conhecimento de mecanismos de outros fungos para inferir fatores de virulência nos dermatófitos (CHINNAPUN, 2015). Relata-se que a espécie *T. rubrum* produz xantomegnina, que é uma micotoxina conhecida por ser produzida por *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. *in vivo* e *in vitro* causando nefropatia e morte em animais. Esta micotoxina é o principal composto que causa a pigmentação avermelhada em culturas de *T. rubrum* e foi observada em amostra de pele e unha infectadas (GUPTA *et al.*, 2000). Outras poucas espécies de dermatófitos produzem melanina ou compostos semelhantes à melanina *in vivo* e *in vitro* que atuam de forma semelhante na patogênese de outras doenças dermatofíticas (YOUNGCHIM *et al.*, 2011).

3.3 RESPOSTA IMUNE

A partir da invasão do micro-organismo no tecido queratinizado, é desencadeada a resposta imune inata dos hospedeiros, sendo induzidas por antígenos, como peptídeos, glicopeptídeos e carboidratos, e metabólitos dos dermatófitos; e cada tipo de antígeno pode induzir diferentes respostas imunes. A principal resposta imune desencadeada é a adaptativa do tipo Th1 (linfócitos T auxiliares tipo 1), com a produção de citocinas pró-inflamatórias como o interferon- γ (IFN- γ) e interleucina-2 (IL-2) (WAGNER; SOHNLE, 1995).

4. DIAGNÓSTICO

Para o diagnóstico das dermatofitoses, assim como de outras micoses, a qualidade da amostra é muito importante e define o desempenho eficiente para análise micológica. A coleta deve ser adaptada ao local da lesão, podendo ser amostra de pele, cabelo e unhas, bem como uma quantidade suficiente de amostra

deve ser coletada da borda da área da lesão, que é a zona ativa da infecção. Também, é importante a ausência de tratamento farmacológico 15 dias antes da coleta, nos casos de apenas aplicação de creme antifúngico, e de 3 meses, nos casos de tratamento sistêmico (PIHET; GOVIC, 2017). Os exames realizados nas amostras coletadas estão descritos a seguir.

4.1 EXAME DIRETO

Consiste no exame microscópico direto, sendo considerada uma técnica de triagem eficiente, uma vez que permite uma resposta rápida para que seja possível prescrever um tratamento antifúngico (CHAUVIN, 2005), no entanto, requer uma boa qualidade do espécime coletado e experiência do examinador (PIHET; GOVIC, 2017). As amostras devem ser tratadas com hidróxido de potássio (KOH) para dissociar as hifas dos queratinócitos. Para aumentar a sensibilidade, pode ser adicionado o dimetilsulfóxido (DMSO) ou pode utilizar fluorocromos, que permitem melhor visualização das hifas ou conídios; entretanto, para este último, é necessário utilizar microscópio de fluorescência (CHAUVIN, 2005; PIHET *et al.*, 2015).

O exame pode ser realizado em amostras de escamas da pele, fragmentos de unha, cabelo e fluidos séricos das lesões inflamatórias e, por ser uma técnica simples, pode ser realizado na maioria dos laboratórios de micologia. A presença de hifas nas amostras confirma o diagnóstico de micose. Além disso, algumas características morfológicas podem ajudar a identificar o tipo de fungo (PIHET; GOVIC, 2017); distinguindo, por exemplo, hifas dermatófitas, hifas não dermatófitas e pseudomicélios de leveduras, entretanto, não garante informações das espécies. Sendo assim, o exame direto sempre deve ser acompanhado da cultura, para determinar a espécie em questão (CHAUVIN, 2005).

4.2 HISTOLOGIA

Para onicomicoses e micoses profundas, o teste histológico da biópsia segue sendo o “padrão ouro” para o diagnóstico (PIHET; GOVIC, 2017). Podem ser utilizadas técnicas histoquímicas, como o ácido periódico de Schiff (PAS), para corar e revelar elementos fúngicos (CHAUVIN, 2005). O resultado depende da quantidade de material coletado e na apresentação clínica, podendo causar falso-negativos; além de não permitir caracterizar a espécie do fungo. (PIHET; GOVIC, 2017).

No entanto, a biópsia é considerada um método relativamente invasivo; então, outros métodos foram propostos (PIHET; GOVIC, 2017), como a técnica de Hotchkiss-McManus, que utiliza recortes de unhas corados com PAS, apresentando

uma boa relação com exame direto e histologia clássica (LACHAUD *et al.*, 2014).

4.3 CULTURA

Como dito anteriormente, a cultura fúngica acompanha o exame direto para determinar definitivamente a espécie causadora da dermatofitose, sendo útil para escolher a terapia adequada, que podem variar a depender da espécie (PIHET; GOVIC, 2017). Além disso, as culturas muitas vezes carecem de sensibilidade, são demorados e requerem uma equipe habilidosa para identificar as características morfológicas; por isso, que alguns laboratórios passaram a utilizar espectrometria de massa para facilitar a identificação dos dermatófitos (L'OLLIVER *et al.*, 2013).

É necessário utilizar um meio de cultura seletivo para evitar contaminações por leveduras, fungos saprofíticos e leveduras presentes na superfície do cabelo e na epiderme (PIHET; GOVIC, 2017). É utilizado o meio ágar Sabouraud dextrose, sendo uma amostra semeada na presença da ciclohexemida, para isolar dermatófitos e *Candida albicans*; e outro, sem a ciclohexemida, para isolar outras leveduras e bolores não dermatofíticos (CHAUVIN, 2005).

Após inoculação, as culturas são geralmente incubadas entre 20-25 °C, mas em alguns casos é utilizada uma temperatura mais elevada. O atraso para o crescimento fúngico inicial varia de acordo com as espécies, sendo recomendado o período de 4 semanas, porém, em alguns casos, pode necessitar de um tempo maior para que a identificação seja mais precisa (PIHET; GOVIC, 2017).

4.4 BIOLOGIA MOLECULAR

Como relatado anteriormente, estes métodos apresentam algumas limitações, acarretando problemas no diagnóstico, como dificuldade de identificar o fungo corretamente, isolamento de outros fungos não dermatofíticos (VERRIER; MONOD, 2016), demandarem um longo tempo e causarem falsos negativos (PIHET; GOVIC, 2017). Assim, métodos moleculares, especialmente a PCR e RT-PCR, estão sendo utilizados (HAY; JONES, 2010). Alguns estudos relatam que este método apresenta taxas de positividade entre 74 a 100% (VERRIER *et al.*, 2013).

Já estão disponíveis vários kits, que realizam a detecção de DNA fúngico em menos de 48 horas (KONDORI *et al.*, 2013). Alguns desses kits realizam a identificação da maioria dos dermatófitos, leveduras ou bolores causadores de micoses cutânea, outros kits são focados nas principais espécies de dermatófitos; enquanto outros identificam apenas a espécie *T. rubrum* ou estão restritos a detecção de DNA pan-dermatófitos (PIHET; GOVIC, 2017), que são primers

específicos para detectar qualquer espécie de dermatófitos (VERRIER; MONOD, 2016).

A técnica de PCR, embora muito eficaz, também apresenta alguns pontos que precisam ser considerados, como heterogeneidade das amostras coletadas, quando é coletado pouco material, risco de contaminação, podendo gerar falsos positivos, e a interpretação de resultados, uma vez que é um método bastante sensível pode identificar um contaminante transitório ao invés de um agente infeccioso (VERRIER; MONOD, 2016).

5. TRATAMENTO

5.1 CONVENCIONAL

A escolha do tratamento mais apropriado é feita através da análise do local afetado, pela extensão da lesão e pela espécie causadora. Pode ser de aplicação tópica, geralmente servindo como terapia adjuvante à oral ou profilaxia, e de ação sistêmica, sendo indicada para lesões generalizadas de caráter crônico ou quando não há resposta à terapia tópica (PIRES *et al.*, 2014). A Tabela 1 apresenta os fármacos utilizados em cada uma das terapias.

Tabela 1. Fármacos utilizados nas terapias tópicas e sistêmicas

Terapia	Fármacos
Tópica	Cetoconazol, isoconazol, miconazol, clotrimazol, bifonazol, terbinafina, butenafina e ciclopirox olamina
Sistêmica	Terbinafina, griseofulvina, cetoconazol e fluconazol

Fonte: Pires *et al.*, 2014.

A combinação de antifúngicos tem causado avanços no tratamento das dermatofitoses, principalmente nos casos mais graves, como terbinafina e itraconazol oral administrados de forma consecutiva, terbinafina e ciclopiroxolamina, entre outras (SUBISSI *et al.*, 2010). Algumas dessas combinações apresentam evidências efetivas quanto à melhora do quadro clínico quando comparadas com a monoterapia, mesmo que não possuam atividade total contra os dermatófitos resistentes (HAVLICKOVA; CZAICA; FRIEDRICH, 2008).

5.2 NOVOS COMPOSTOS

Um estudo avaliou as atividades antifúngicas de naftoquinonas sintéticas contra dermatófitos, constatando que todas apresentaram atividade contra *M. canis*, *M. gypseum*, *T. rubrum* e *T. tonsurans*, sendo relacionado ao mecanismo de ação à

clivagem da membrana celular dermatofítica (FERREIRA *et al.*, 2014).

5.3 PROBLEMAS RELACIONADOS À TERAPÊUTICA

As falhas na terapêutica das dermatofitoses são causadas, principalmente, pela descontinuação da terapia, efeitos adversos dos medicamentos e resistência aos fármacos (REZENDE *et al.*, 2008). A descontinuação da terapia está relacionada à prolongada terapia antifúngica necessária e aos efeitos adversos inerentes aos fármacos (VENA *et al.*, 2012). Já o processo de resistência está ligado à utilização demasiada ou em doses inadequadas e abusivas, muitas vezes, automedicadas, fazendo com que os fungos desenvolvam resistência por evoluções epigenéticas e em resposta ao estresse, dificultando o tratamento (MARTINEZ-ROSSI; PERES; ROSSI, 2008).

REFERÊNCIAS

- ATES, A., OZCAN, K., ILKIT, M. Diagnostic value of morphological, physiological and biochemical tests in distinguishing *Trichophyton rubrum* from *Trichophyton mentagrophytes* complex. **Medical Mycology**. 2008.
- ALMEIDA, F., RODRIGUES, M. L., COELHO, C. The Still Underestimated Problem of Fungal Diseases Worldwide. **Frontiers in Microbiology**. 2019.
- ANVISA. **Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. Mod. VII. 2004. Disponível em: http://anvisa.gov.br/servicos/saude/microbiologia/mod_7_2004.pdf. Acesso em 21 de out. 2020.
- BALDO, A. *et al.* Secreted subtilisins of *Microsporum canis* are involved in adherence of arthroconidia to feline corneocytes. **Journal of medical microbiology**, v. 57, n. 9, p. 1152-1156, 2008.
- BALDO, A. *et al.* Secreted subtilisin Sub3 from *Microsporum canis* is required for adherence to but not for invasion of the epidermis. **British Journal of Dermatology**, v. 162, n. 5, p. 990-997, 2010.
- CHINNAPUN, D. Virulence factors involved in pathogenicity of dermatophytes. **Walailak Journal of Science and Technology (WJST)**, v. 12, n. 7, p. 573-580, 2015.
- COUTIÑO, G.M., *et al.* Características morfológicas de 45 cepas de *Microsporum canis*. **Rev. Mex. Mic.** 2009
- CHINNAPUN, D. Virulence Factors Involved in Pathogenicity of Dermatophytes. **Walailak J Sci & Tech**. 2015;
- CORTEZ A.C., *et al.* Frequency and etiology of dermatophytosis in children age 12 and under in the state of Amazonas. **Rev Iberoam Micol.** 2012.
- DUEK, L. *et al.* The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. **Journal of Infection**, v. 48, n. 2, p. 175-180, 2004.
- ELAVARASHI, E.; KINDO, A. J.; RANGARAJAN, S. Enzymatic and non-enzymatic virulence activities of dermatophytes on solid media. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 2, p. DC23, 2017.
- ESQUENAZI, D. *et al.* The role of surface carbohydrates on the interaction of microconidia of *Trichophyton mentagrophytes* with epithelial cells. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 35, n. 2, p. 113-123, 2003.
- ESQUENAZI, D. *et al.* The influence of surface carbohydrates during in vitro infection of mammalian cells by the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **Research in microbiology**, v. 155, n. 3, p. 144-153, 2004.
- FEUILHADE DE CHAUVIN, M. New diagnostic techniques. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 19, p. 20-24, 2005.
- FERREIRA, M. P. S. B. C. *et al.* Antifungal activity of synthetic naphthoquinones against dermatophytes and opportunistic fungi: preliminary mechanism-of-action tests. **Volume 13, Número 1**, 2014.

GUPTA, A. K. *et al.* Detection of xanthomegnin in epidermal materials infected with *Trichophyton rubrum*. **Journal of investigative dermatology**, v. 115, n. 5, p. 901-905, 2000.

ELAVARASHI, E.; KINDO, A. J.; RANGARAJAN, S. Enzymatic and non-enzymatic virulence activities of dermatophytes on solid media. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 2, p. DC23, 2017.

FEUILHADE DE CHAUVIN, M. New diagnostic techniques. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 19, p. 20-24, 2005.

FERREIRA, M. P. S. B. C. *et al.* Antifungal activity of synthetic naphthoquinones against dermatophytes and opportunistic fungi: preliminary mechanism-of-action tests. **Volume 13, Número 1**, 2014.

GUPTA, A. K. *et al.* Detection of xanthomegnin in epidermal materials infected with *Trichophyton rubrum*. **Journal of investigative dermatology**, v. 115, n. 5, p. 901-905, 2000.

HUBE, B. Fungal adaptation to the host environment. **Curr Opin Microbiol**, v. 12, n. 4. 2009.

GURTNER, T.G.R., DINIZ, L.M., NICCHIO, L. Microepidemia de tinea do couro cabeludo por *Microsporum canis* em creche de Vitória - Espírito Santo (Brasil). **An Bras Dermatol**. 2005.

GUOLING Y., *et al.* A study on stability of phenotype and genotype of *Trichophyton rubrum*. **Mycopathologia**, 2006.

HAVLICKOVA, B.; CZAİKA, V. A.; FRIEDRICH, M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. **Mycoses**, v. 51, p. 2-15, 2008.

HAY, R. J.; JONES, R. M. New molecular tools in the diagnosis of superficial fungal infections. **Clinics in dermatology**, v. 28, n. 2, p. 190-196, 2010.

KONDORI, N. *et al.* Comparison of dermatophyte PCR kit with conventional methods for detection of dermatophytes in skin specimens. **Mycopathologia**, v. 176, n. 3-4, p. 237-241, 2013.

KAUFMAN, G. *et al.* Infection stages of the dermatophyte pathogen *Trichophyton*: microscopic characterization and proteolytic enzymes. **Medical Mycology**, v. 45, n. 2, p. 149-155, 2007.

KUNERT, J. Effect of reducing agents on proteolytic and keratinolytic activity of enzymes of *Microsporum gypseum*: Die Wirkung von Reduktionsmitteln auf die proteolytische und keratinolytische Aktivität der Enzyme von *Microsporum gypseum*. **Mycoses**, v. 35, n. 11-12, p. 343-348, 1992.

LACHAUD, L. *et al.* Biological diagnosis of onychomycoses. Direct examination after simplified technique of PAS staining. **Journal de mycologie medicale**, v. 24, n. 4, p. 279, 2014.

LECHENNE, B. *et al.* Sulphite efflux pumps in *Aspergillus fumigatus* and dermatophytes. **Microbiology**, v. 153, n. 3, p. 905-913, 2007.

L'OLLIVIER, C. *et al.* A MALDI-TOF MS procedure for clinical dermatophyte species identification in the routine laboratory. **Medical mycology**, v. 51, n. 7, p. 713-720, 2013.

LANNA, D.F.D., *et al.* Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e

novas perspectivas de tratamento. **Clin. Biomed. Res.** 2016.

MATTÊDE M.G.S., *et al.* Etiologia das dermatofitoses em Vitória (ES). **Anais Brasileiros Dermatologia**, 1986.

MARTINEZ-ROSSI, N. M.; PERES, N. T. A.; ROSSI, A. Antifungal resistance mechanisms in dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 369, 2008.

MONOD, M. Secreted proteases from dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 285, 2008.

POLURI, L.V., INDUGULA, J. P., KONDAPANENI, S. Clinicomycological Study of Dermatophytosis in South India. **Journal of Laboratory Physicians**. 2015.

PERES, N. T. A. *et al.* Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657-667, 2010.

PIHET, M. *et al.* Diagnosis of dermatophytosis: an evaluation of direct examination using MycetColor® and MycetFluo®. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 83, n. 2, p. 170-174, 2015.

PIHET, M; LE GOVIC, Y. Reappraisal of conventional diagnosis for dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 169-180, 2017.

PIRES, C. A. A. *et al.* Clinical, epidemiological, and therapeutic profile of dermatophytosis. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 89, n. 2, p. 259-264, 2014.

REZENDE, C. *et al.* Estudo epidemiológico das dermatofitoses em instituições públicas da cidade de Barretos, São Paulo, Brasil. **Rev. bras. anal. clin**, v. 40, n. 1, p. 13-16, 2008.

SIMPANYA, M. F. *et al.* Dermatophytes: their taxonomy, ecology and pathogenicity. **Rev Iberoam Micol**, v. 17, p. 1-12, 2000.

SUBISSI, A. *et al.* Ciclopirox. **Drugs**, v. 70, n. 16, p. 2133-2152, 2010.

SILVA, K.A., *et al.* Diagnosed dermatophytosis etiology in patients at the Laboratory of Medical Mycology at the Center of Biosciences of the Federal University of Pernambuco, in 2014-2017. **RBAC**. 2018.

SIDRIM J.J.C., MOREIRA J.L.B. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. 10ed. Porto Alegre: Artmed. 2012.

URIBE, M. P.; CARDONA-CASTRO, N. Mecanismos de adherencia e invasión de dermatofitos a la piel. **CES Medicina**, v. 27, n. 1, p. 67-75, 2013.

VENA, G. A. *et al.* Epidemiology of dermatophytoses: retrospective analysis from 2005 to 2010 and comparison with previous data from 1975. **Microbiologica-Quarterly Journal of Microbiological Sciences**, v. 35, n. 2, p. 207, 2012.

VERRIER, J. *et al.* Dermatophyte identification in skin and hair samples using a simple and reliable nested polymerase chain reaction assay. **British Journal of Dermatology**, v. 168, n. 2, p. 295-301, 2013.

VERRIER, J.; MONOD, M. Diagnosis of dermatophytosis using molecular biology. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 193-202, 2017.

VALLABHANENI, S. *et al.* The Global Burden of Fungal Diseases. **Infect Dis Clin N Am.** 2015.

WAGNER, D. K.; SOHNLE, P. G. Cutaneous defenses against dermatophytes and yeasts. **Clinical microbiology reviews**, v. 8, n. 3, p. 317-335, 1995.

YOUNGCHIM, S. *et al.* Melanogenesis in dermatophyte species in vitro and during infection. **Microbiology**, v. 157, n. Pt 8, p. 2348, 2011.

ZAITZ C., *et al.* **Compêndio de Micologia Médica.** 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara – Koogan, 2010.

CAPÍTULO 04

EFEITO ANTIFÚNGICO DE PRODUTOS DE LIMPEZA USADOS EM AMBIENTES HOSPITALARES SOBRE FUNGOS ANEMÓFILOS

Katiucha Silva Rodrigues

Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas
Instituição: Escola Politécnica de Pernambuco- UPE
Endereço: R. Benfica, 455 - Madalena, Recife - PE, 50720-001
E-mail: rkatiucha@gmail.com

Phelipe Manoel Oller Costa

Professor da Universidade Estadual do Vale do Acaraú
Instituição: Universidade Estadual do Vale do Acaraú
Endereço: Av. Guararapes - Recife - PE, Brasil.
E-mail: phelipeoller@yahoo.com.br

Bruno Severo Gomes

Professor associado da Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Micologia
Endereço: Av. Ciências da Vida - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: bruno.severo@ufpe.br

RESUMO: Denomina-se infecção hospitalar ou nosocomial todo tipo de infecção adquirida em ambiente hospitalar. Sua causa é atribuída a quase todos os micro-organismos. A limpeza efetiva é uma das formas de preveni-la, todavia, nem sempre os produtos de limpeza são fungicidas. Este estudo teve como objetivo testar os produtos de limpeza utilizados em hospitais públicos de Pernambuco contra fungos anemófilos. Para tal, os fungos foram coletados em ambiente hospitalar e preservados na Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco. Os experimentos foram realizados utilizando-se três produtos de limpeza nas diluições 1/2 e 1/4: gelpinho, detergente neutro e cloro. Diluíram-se as colônias de leveduras em água destilada, semeou em placa contendo meio Ágar Malte, e adicionando discos de papel filtro contendo os produtos. Já com os filamentosos, acrescentou-se os produtos ao meio de cultura Ágar Malte fundido, adicionou-se um disco de 0,8 mm de cultura fúngica no centro da placa. As placas foram encubadas a temperatura ambiente por 72 horas. Os resultados constataram que o gel pinho e o detergente apresentaram uma resposta significativa frente a *Candida parapsilosis*, o gel pinho também apresentou resultado significativo na diluição 1/4 frente ao *Tripospermum myrti*, o cloro obteve melhor resposta na diluição 1/4 contra o *Penicillium waksmanii*, e o detergente nas diluições: 1/2 contra o *Penicillium waksmanii* e 1/4 contra o *Aspergillus terreus*. Com isso concluiu-se que os produtos não possuem a mesma eficácia para o tratamento com micro-organismos diferentes, enfatizando a importância da utilização de vários produtos na limpeza hospitalar.

PALAVRAS-CHAVES: Infecção, Fungos, Anemófilos, Limpeza.

ABSTRACT: Every type of infection acquired in a hospital environment is called

hospital infection or nosocomial infection. Its cause is attributed to almost all microorganisms. Effective cleaning is one of the ways to prevent it, however, cleaning products are not always fungicidal. This study aimed to test the cleaning products used in public hospitals in Pernambuco against anemophilic fungi. For this, the fungi were collected in a hospital environment and preserved in the Micoteca URM of the Federal University of Pernambuco. The experiments were performed using three cleaning products in 1/2 and 1/4 dilutions: gelpine, neutral detergent and chlorine. The yeast colonies were diluted in distilled water, sowed on a plate containing Malte Agar medium, and added filter paper discs containing the products. With the filaments, the products were added to the melted Ágar Malte culture medium, and a 0.8 mm fungal culture disc was added to the center of the plate. The plates were incubated at room temperature for 72 hours. The results showed that the pine gel and detergent showed a significant response to *Candida parapsilosis*, the pine gel also showed a significant result in the 1/4 dilution against *Tripaspermum myrti*, chlorine was better at dilution 1/4 against *Penicillium waksmanii*, and detergent at dilutions: 1/2 against *Penicillium waksmanii* and 1/4 against *Aspergillus terreus*. With this, it was concluded that the products do not have the same efficacy for treatment with different microorganisms, emphasizing the importance of the use of various products in hospital cleaning.

KEYWORDS: Infection, Fungi, Anemophiles, Cleansing.

1. INTRODUÇÃO

Infecção hospitalar é definida como todo tipo de infecção adquirida por um paciente dentro do hospital. Estas podem ser provenientes de fontes exógenas (adquiridas de outros paciente sou pelo ambiente) ou endógenas (auto-infecção) (LIU *et al.*, 2020). Segundo Mims *et al.* (2014), uma infecção que está incubada em um paciente antes de ser admitido no hospital não é considerada uma infecção hospitalar. Entretanto, infecções adquiridas na comunidade e levadas para o hospital através do paciente poderão causar infecções hospitalares em outros pacientes e funcionários do hospital.

Um fator importante para que um paciente adquira infecção hospitalar está associado a deficiências do sistema imunológico (DENSTAEDT *et al.*, 2018). Esse sistema é responsável por eliminar moléculas e partículas estranhas com intuito de manter a homeostasia do sistema, por isso sua resposta tem papel importante na defesa contra agentes infecciosos (JONES *et al.*, 2020). Pode-se atribuir as causas de infecção hospitalar a quase todos os micro-organismos, porém, as mais comum ente estudadas são as de origem bacteriana. No entanto, os fungos também podem ocasionar infecções hospitalares. Desta forma, as infecções causadas por fungos destacam-se nos últimos anos por seu aumento e pelas elevadas taxas de morbidade e mortalidade (SABINO, 2020).

Os fungos são seres eucarióticos amplamente distribuídos na natureza, apresentando-se sob forma de levedura ou filamentosa (KORNITZER; ROY, 2020). Seus propágulos dispersam-se no ambiente por meio do ar atmosférico ou por outras vias como água, insetos, homem e outros animais. Os fungos que são dispersos através do ar atmosférico são denominados fungos anemófilos. Sendo assim, a microbiota anemófila pode ser semelhante ou diferente em cada cidade ou região. Os elementos fúngicos que são encontrados no ar atmosférico são os esporos (estrutura esporulativa), e podem ser encontrados em altas concentrações nos mais variados locais, especialmente em ambientes úmidos (LIMA *et al.*, 2019).

Os fungos anemófilos são considerados um dos principais causadores de infecções hospitalares, pois se encontram dispersos no ambiente e, de forma oportunista, podem infectar pacientes imuno deprimidos, dificultando o seu tratamento e aumentando a sua permanência no hospital ou até levando-os à morte, principalmente quando essas infecções afetam pacientes encontrados em unidades de terapia intensiva (UTI) (CALUMBY *et al.*, 2019).

Infecções hospitalares são facilitadas por imunodeficiências e outros fatores predisponentes do paciente hospitalizado, os métodos diagnósticos e terapêutico invasivos utilizados e a falta de cuidados com padrões de assepsia e higiene do ambiente hospitalar (LIU *et al.*, 2020). Em ambientes climatizados o acúmulo de umidade e material orgânico em bandejas de condicionadores de ar podem torná-las ponderosas fontes dispersoras de propágulos fungicos. Por esse motivo a limpeza em UTI deve ser minuciosamente realizada (SOUZA *et al.*, 2019).

Nos hospitais existem basicamente dois tipos de limpeza o ambiente hospitalar biologicamente seguro: a limpeza concorrente e a limpeza terminal. A concorrente é feita diariamente em algumas partes da unidade de terapia intensiva e em objetos pessoais dos pacientes após o seu uso. A terminal é realizada em todo o ambiente da UTI e quando o paciente desocupa o leito (MEYER *et al.*, 2020). Os dois tipos de limpeza são importantes, pois buscam deixar o ambiente seguro para o paciente em tratamento, porém, muitos dos materiais de limpeza utilizados não são eficazes contra fungos, dificultando assim o seu controle e aumentando o risco de infecções por esses patógenos (HAN *et al.*, 2020).

Escolher adequadamente os produtos utilizados na limpeza hospitalar é importante para evitar que os pacientes adquiram algum tipo de infecção ocasionada por fungos. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia de produtos de limpeza utilizados por hospitais públicos de Pernambuco frente a fungos anemófilos isolados de ambiente hospitalar.

2. SISTEMA IMUNOLÓGICO

O sistema imunológico tem como função a eliminação de moléculas estranhas ao corpo, sendo elas patógenas ou não, para com isso manter a homeostasia do sistema. As células que constituem esse sistema originam-se de células hematopoéticas pluripotentes, que estão localizadas na medula óssea, e suas diferenciações acontecem não só aí como também em outros locais específicos do organismo. É constituído por granulócitos polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), os monócitos/macrófagos e os linfócitos (linfócitos T, B e células natural killer [NK]) (VILLANI *et al.* 2018). Vale ressaltar a existência do sistema de defesa primário que apresenta a pele como o principal constituinte primário de proteção (NICKOLOFF, 2020).

A resposta do sistema imunológico é importante na defesa do corpo humano,

contra agentes infecciosos, constituindo-se como o principal impedimento para a ocorrência de infecções muitas vezes relacionadas com um alto índice de mortalidade. Todavia, quando ocorre uma deficiência imunológica esta é associada a infecções. Isso vem sendo notado há muitos anos, pois mesmo sendo o sistema imunológico fundamental para a defesa contra agentes infectantes evidenciou-se que em muitas enfermidades infecciosas os principais aspectos patológicos não são relacionados com a ação direta do agente agressor e sim com a resposta imunológica anormal (VILLANI *et al.*, 2018).

3. INFECÇÃO HOSPITALAR

Infecção hospitalar (IH), também denominada nosocomial, são infecções adquiridas após a entrada do paciente na unidade hospitalar e manifestada durante a internação ou após a alta. Podem ser relacionadas com a estadia do paciente no hospital ou procedimentos hospitalares (MIMS *et al.*, 2014). Dentre os fatores de riscos existentes para que uma pessoa adquira infecção hospitalar (IH) destacam-se a permanência do enfermo no hospital por mais de 24 horas, a realização de procedimentos invasivos e a baixa taxa do número de profissionais de enfermagem por paciente/dia, o que pode propiciar quebra na assepsia dos procedimentos para assistência ao paciente ou diminuição da higiene manual (LIU *et al.*, 2020).

Os hospitais são divididos em setores com características e funções diferentes. Dentre os setores de alta complexidade, o centro de terapia intensiva (CTI) apresenta maior gravidade em relação às IHS, uma vez que neste setor estão internados pacientes em estado grave de saúde (AREA *et al.*, 2020). As infecções hospitalares em CTI estão relacionada, na maioria das vezes, com à gravidade clínica dos pacientes, ou ao uso de procedimentos invasivos, ao uso de imunossupressores, ao período de internação prolongado, à colonização por micro-organismos resistentes, à prescrição de antimicrobianos e ao próprio ambiente do CTI (SOUSA *et al.*, 2016)

A Associação Nacional de Biossegurança (Anbio), informou que cerca de 80% dos hospitais brasileiros não fazem a assepsia adequada do ambiente. Com isso, o índice de infecção hospitalar no Brasil varia entre 14% e 19%, podendo chegar a 88,3% em algumas unidades, levando ao número de cem mil mortos por ano devido às infecções. A Organização Mundial da Saúde (OMS) acredita que as infecções hospitalares atinjam 14% dos pacientes internados no país (DOURADOS, 2020).

De acordo com Abegg *et al.* (2011), a infecção é uma entidade clínica de múltiplos fatores envolvidos e a necessidade de reduzir e controlar sua incidência determina a aplicação de medidas preventivas, educacionais e de controle epidemiológico que visam, por meio de um processo de sensibilização coletiva, levar as taxas de infecção para limites aceitáveis para o tipo de clientela e de procedimentos realizados em cada hospital. As causas de IHS podem ser atribuídas a quase todos os microrganismos, porém, as mais comumente estudadas são as causadas por bactérias. Todavia, vale ressaltar, que as infecções hospitalares causadas por fungos destacaram-se nos últimos anos, visto que, o número de casos de IHS ocasionada por esses microrganismos vem apresentando um aumento progressivo e com isso elevado a taxa de morbidade e mortalidade (DENSTAEDT *et al.*, 2018).

4. FUNGOS ANEMÓFILOS

Os fungos são seres eucarióticos que possuem ampla distribuição na natureza, podendo ser encontrados em vários habitats (ar, água, terra, animais, alimentos), sob a forma de leveduras ou micelial (QUEIROZ; SOUSA, 2020). Os fungos encontrados no ar são chamados de anemófilos, sendo um dos principais causadores de IHS, fato que preocupa bastante os profissionais da saúde, pois esses microrganismos encontram-se dispersos no meio ambiente e, de forma oportunista podem infectar pacientes imunodeprimidos, dificultando o seu tratamento e aumentando a sua permanência no hospital ou até levando-os a morte (CALUMBY *et al.*, 2019).

Casos mais graves ocorrem quando essas infecções afetam pacientes encontrados em unidades de terapia intensiva (UTI), visto que estes pacientes apresentam o sistema imunológico debilitado ou fatores que pre dispõem á infecção fungica, o que facilita a atuação de fungos oportunistas (DENSTAEDT *et al.*, 2018). Venceslau *et al.* (2012), por exemplo, realizou um trabalho em que coletou e identificou fungos anemófilos encontrados nas áreas críticas do hospital de Urgência e Emergência de Sergipe. Dentre os fungos anemófilos causadores de infecção hospitalar destacam-se, *Candida parapsilosis*, *Rhodotorula minuta*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium wasmanii*, *Tripospermum myrtie*, *Cladosporium sphaerospermum*.

4.1 *Candida parapsilosis*

Candida é um gênero de levedura normalmente encontrada na microbiota normal humana, podendo ser localizada tanto nas mucosas da boca quanto na dos tratos digestivo, genital e urinário de indivíduos sadios sem ocasionar infecções. No entanto, em pessoas com fatores pré-disponentes como imunodeprimidos podem tornar-se patogênicas, com a capacidade de ocasionar infecções chamadas de candidíase (SANTOS *et al.*, 2020). Os fungos desse gênero são os mais comumente relacionados com manifestações clínicas sendo considerado como um dos principais responsáveis por infecções hospitalares associados à fungemia, principalmente em CTI. Tratando-se de em infecções fúngicas provocadas por *Candida*, é extremamente importante identificar a espécie, pois a patogenicidade e o perfil de sensibilidade a um antifúngico variam de acordo com a espécie (TÓTH *et al.*, 2019).

Apesar de *C.albicans* ser a espécie mais comumente isolada nas infecções superficiais ou invasivas, a incidência de infecções provocadas por *C. parapsilosis* é crescente, principalmente em pacientes com cateter venoso central e nutrição parental, e, em alguns casos, associada a altas taxas de mortalidade. Vale salientar, que a *C. parapsilosis* é considerada uma das principais causas de candidíase sistêmica (TÓTH *et al.*, 2019). Como essa espécie pode ser encontrada na pele sua transmissão torna-se predominantemente exógena. A mesma possui uma grande capacidade de produzir biofilmes e se prolifera com maior facilidade em soluções contendo glicose, além das crianças e recém-nascidos prematuros internados em unidades de cuidados intensivos serem destacados por apresentar uma elevadas taxas de ocorrência desse fungo (SANTOS *et al.*, 2020).

4.2 *Rhodotorula minuta*

Leveduras do gênero *Rhodotorula* estão associadas a processos patológicos, sendo encontradas como contaminantes da pele, unha, pulmão, urina, fezes, sistema nervoso central e sangue. Essas infecções podem ocorrer de origem endógena ou por origem exógena, bem como pelas mãos dos trabalhadores da área de saúde, infusos contaminados e fontes inanimadas ambientais (SETIAWAN *et al.*, 2020)

Rhodotorula minuta apresenta distribuição mundial e desenvolve-se em diversos tipos de substratos. Entre as doenças causadas por essa espécie incluem sepses de articulação do quadril, endoftalmite e sepses relacionadas a cateter de pacientes portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana Adquirida (SAMADLOUIE *et al.*, 2020).

4.3 *Aspergillus terreus*

Fungos do gênero *Aspergillus* são cosmopolitas, sendo a fonte de contágio mais comum à via inalatória, considerando-o como causa de infecção grave com risco de morte em pacientes imunodeprimidos. Dentre as diferentes espécies relacionadas a infecções em seres humanos as ocasionadas por *A. terreus* são mais raras e geralmente estão associadas à permanência de pacientes em UTI (POSCH *et al.*, 2018). Uma forma de tratamento para a aspergilose é a administração endovenosa da Anfotericina-B, que apesar de desenvolver efeitos colaterais muitas vezes frequentes apresenta uma eficácia significativa frente ao fungo, todavia, apresenta ação limitada no tratamento de aspergilose causada por *A. terreus* que apresenta uma resistência a esse antibiótico (KAUR; JAIN, 2017).

4.4 *Penicillium waksmanii*

Infecções hospitalares causadas por fungos do gênero *Penicillium* (peniciloses) são raras. As espécies encontram-se distribuídas amplamente pela natureza, sendo detectadas na matéria orgânica em decomposição e no solo, podendo também apresentar-se como contaminantes em cultivos rotineiros no laboratório (SCHOLTZ *et al.*, 2017).

4.5 *Tripospermum myrti*

Fungos do gênero *Tripospermum* apresentam espécies aquáticas e encontram-se dispersos na natureza. Dentre as diversas espécies pertencentes a esse gênero, *T. myrti* é capaz de crescer e esporular na superfície de folhas de árvores e em ambientes aquáticos (HONGSANAN *et al.*, 2016).

4.6 *Cladosporium sphaerospermum*

Cladosporium é um gênero composto por fungos saprofíticos e cosmopolitas. Seus esporos podem causar alergias respiratórias cujos sintomas incluem pneumonite por hipersensibilidade, asma e rinite alérgica, além de provocar infecções graves, quando em contato com pequenos cortes e arranhões na pele. A exposição prolongada aos esporos de *Cladosporium* pode conduzir a uma supressão do sistema imunológico, o que permite que vírus e bactérias oportunistas aproveitem para infectar o hospedeiro (ADORISIO *et al.*, 2019).

Esse gênero apresenta mais de 772 espécies, porém, apenas seis espécies são associadas a doenças de pele, olhos, unhas e infecções respiratórias no homem, sendo elas: *C. cladosporioides*, *C. oxysporum*, *C. sphaerospermum*, *C. elatum*, *C. herbarum* e *C. langeronii*. Dentre essas espécies, *C. sphaerospermum* é

um patógeno humano raro e tem sido relatado como indutor de lesões intra-brônquica e da córnea, além de ter sido isolado a partir de lesões cutâneas (HALLEN-ADAMS; SUHR, 2016).

5. LIMPEZA HOSPITALAR

Uma forma de evitar infecção hospitalar tornando o hospital biologicamente seguro é através da limpeza (LIU *et al.*, 2020). A literatura tradicional de enfermagem diferencia dois tipos de limpeza de unidade: (1) a concorrente, aquela que é realizada todos os dias só em alguns locais e em objetos pessoais e (2) a terminal, efetuada em todos os setores de uma unidade de saúde e também quando ocorre a desocupação de um leito (FROTA *et al.*, 2020).

Na escolha do produto mais adequado para que a limpeza seja eficaz deve-se considerar o amplo espectro de ação antimicrobiana, inativação rápida dos microrganismos, não ser corrosivo para metais, não danificar artigos ou acessórios de borracha, plásticos ou equipamento ótico, sofrer pouca interferência de matéria orgânica, não ser irritante para a pele e mucosas, possuir baixa toxicidade, tolerar pequenas variações de temperatura e de pH, ter ação residual sobre superfícies quando aplicado no ambiente, manter sua atividade mesmo sofrendo pequenas diluições, ser um bom agente umectante, ser de fácil uso, ser inodoro ou ter odor agradável, ter baixo custo, ser compatível com sabões e detergentes, ser estável quando concentrado ou diluído. Porém, nenhum desinfetante químico apresenta todas essas características, sendo necessário conhecer as características de cada produto para que se possa escolher corretamente o melhor, evitando o consumo excessivo e o uso inadequado (TEIXEIRA *et al.*, 2012).

6. METODOLOGIA

6.1 LOCAL

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico, do Departamento de Micologia, do Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no período de 26 de junho a 20 de dezembro de 2012.

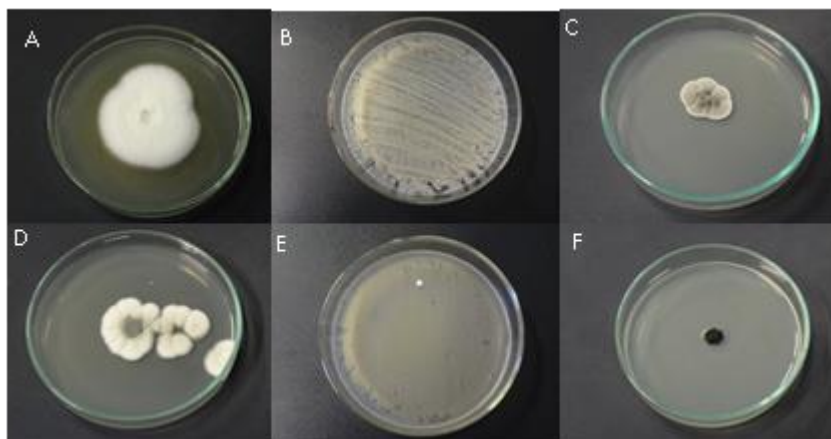
6.2 FUNGOS UTILIZADOS

As amostras fúngicas utilizadas para o desenvolvimento do trabalho foram cedidas pela Coleção de Culturas-Micoteca URM da UFPE.

As espécies de fungos utilizados foram: *Aspergillus terreus* URM6198;

Candida parapsilosis URM4869; *Cladosporium sphaerospermum* URM6120; *Penicillium waksmanii* URM6117; *Rhodotorula minuta* URM4844; *Tripospermum myrti* URM6121(Figura 1).

Figura 1. Espécies de fungos utilizados no experimento: (A) *Aspergillus terreus* URM6198; (B) *Candidaparapsilosis* URM4869; (C) *Cladosporium sphaerospermum* URM6120; (D) *Penicillium waksmanii* URM6117; (E) *Rhodotorula minuta* URM4844; (F) *Tripospermum myrti* URM6121.



Fonte: Os autores.

6.3 PRODUTOS DE LIMPEZA

Os produtos de limpeza utilizados para o desenvolvimento dos testes foram cedidos pelo Hospital das Clínicas de Pernambuco. Os produtos empregados foram cloro, detergente neutro (que é composto por espessante, agente formador de espuma, neutralizante, conservante e água, além de possuir como princípio ativo o Ácido Dodecil Benzeno Sulfônico) e o gelpinho (que é composto por alcalinizante, espessante, corante, fragrância, conservante, termoativo não ionizante e água, além de possui como princípio ativo o Ácido Dodecil Benzeno Sulfônico).

6.4 MEIO DE CULTURA

Para realização dos testes foi utilizado o meio de Cultura Extrato de Malte, cuja composição segue abaixo:

Ágar Extrato de Malte (MEA) (Food and drug administration, 1998; Pitt & Hocking, 1997 *apud* Gava, 2002).

Extrato de Malte em pó.....	20,0 g
Glicose.....	20,0 g
Peptona.....	1,0 g
Ágar.....	20,0 g
Água destilada.....	1 L

6.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PRODUTOS SOBRE LEVEDURAS.

Para realização dos testes de efeito antifúngico do cloro, do detergente neutro e do gelpinho frente às leveduras, foi utilizada a metodologia do teste de difusão em disco sugerido por Rabanal *et al.* (2002) e por Karaman *et al.* (2003) que consiste na aplicação de 10 µL da solução de agente antifúngico em discos de papel de filtro de 6 mm de diâmetro. Foram utilizadas duas diluições: uma solução de 1/4 (a cada três litros de água adiciona-se um litro do cloro) e uma solução 1/2 (a cada litro de água adiciona-se um litro de cloro). Realizaram-se três repetições para cada diluição, o grupo controle foi composto por uma placa contendo apenas fragmento da cultura fúngica e uma placa contendo apenas o meio de cultura Ágar Extrato de Malte. As culturas de leveduras foram diluídas em água destilada esterelizada até o líquido atingir a turbidez 0,5 da escala de McFarland. Após esse processo com o auxílio de um *swab* a solução foi semeada por toda a superfície de uma placa de Petri, contendo o meio de cultura Ágar Extrato de Malte, logo após adicionou-se os dois discos contendo as diluições. As placas foram incubadas em 25 ± 2 °C por 72 horas,. Após esse período observou-se o surgimento os halos de inibição foram medidos com o auxílio de um paquímetro de precisão. Os valores foram submetidos a análise de variância e os resultados submetidos ao teste de Tukey a 5%.

6.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PRODUTOS SOBRE FUNGOS FILAMENTOSOS

Inicialmente os produtos de limpeza em concentração pré-estabelecida, foram incorporados ao meio de cultura Ágar Extrato de Malte esterelizado ainda não solidificado, semelhante ao método descrito por Caldari Júnior (1998). Foram utilizadas as diluições 1/2 (A cada 1 litro de meio de cultura foi adicionado 1 litro do produto de limpeza) e 1/4 (a cada 1 litro de meio de cultura foram adicionado 3 litros do produto de limpeza). Após a solidificação do meio de cultura utilizando-se um furador de 8 mm de diâmetro, retirou-se um disco de meio do centro da placa substituindo o mesmo por um disco de mesmo tamanho retirado da cultura do fungo testado. As testemunhas consistiam nos fungos inoculados em meio de cultura sem o produto de limpeza, em seguida as placas foram incubadas em 25 ± 2 °C por 72 horas, realizaram-se três repetições para cada diluição. Após o período de incubação avaliou-se o percentual de inibição do crescimento medindo o diâmetro do crescimento micelial (CALDARI JÚNIOR, 1998), os valores foram submetidos a

análise de variância e os resultados ao teste de Tukey a 5%.

7. RESULTADOS

7.1 EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PRODUTOS DE LIMPEZA SOBRE LEVEDURAS E FUNGOS FILAMENTOSOS.

7.1.1 Produto x diluição

Dentre os produtos utilizados para os testes com as leveduras, o cloro foi o que apresentou melhor eficiência nas duas diluições, seguido pelo gelpinho que demonstrou melhor resultado do que o detergente, pois o mesmo não apresentou diferença estatística quando comparado as duas diluições (Tabela 1). Segundo Conte (2002), detergentes são mais solúveis em água, o que pode vir a facilitar a sua entrada na célula fúngica.

Tabela 1. Resultado da eficácia dos produtos, utilizados para o tratamento em leveduras, pelas suas diluições.

Produto	Diluição	
	Diluição 1/2	Diluição 1/4
Gelpinho	2.04 bA	1.30 bB
Cloro	3.71 aA	2.68 aB
Detergente	1.90 bA	1.64 bA

Fonte: Os autores.

As médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Já em relação aos fungos filamentosos, os melhores resultados obtidos foram para o cloro, o detergente não apresentou diferença estatística entre as diluições e o gel pinho também não apresentou diferença estatística entre as diluições como pode-se observar na Tabela 2.

Tabela 2. Eficácia dos produtos utilizados para o tratamento frente aos fungos filamentosos pelas suas diluições

Produto	Diluição	
	Diluição 1/2	Diluição 1/4
Gelpinho	73.65 aA	71.17 aA
Cloro	68.05 bA	43.57 bB
Detergente	69.43 abA	68.23 aA

Fonte: Os autores.

As médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados demonstram o quanto é importante a utilização do produto na diluição adequada para que a limpeza possa ser eficaz. Teixeira *et al.* (2012) afirma que uma das características a ser considerada ao se escolher um produto de limpeza é sua eficiência quando concentrado ou diluído.

7.1.2 PRODUTO X FUNGO X DILUIÇÃO

Com relação à eficácia dos produtos sobre as leveduras, após a realização dos testes constata-se que o Gelpinho e o detergente apresentaram melhores respostas nos tratamentos frente à levedura *Candida parapsilosis*, todavia com cloro, com relação a sua eficácia, não apresentou diferença estatística frente as duas leveduras (Tabela 3). No tratamento com os fungos filamentosos, pode-se observar que o gelpinho na diluição 1/2 obteve o pior resultado frente ao *Aspergillus terreus* não apresentando diferença estatística com relação aos outros fungos e na diluição 1/4 apresentou melhores resultados frente ao *Tripospermum myrti*, não obtendo diferença estatística com relação aos outros fungos, já o cloro na diluição 1/2 não apresentou diferença estatística, porém com relação a diluição 1/4 obteve melhor resultado contra o *Penicillium waksmanii*, entretanto o detergente na diluição 1/2 teve melhor resposta quando empregado no tratamento contra o *Penicillium waksmanii* e na diluição 1/4 a resposta foi significativa em relação ao *Aspergillus terreus* como pode-se observar na Tabela 4.

Tabela 3. Resposta do efeito dos produtos de limpeza em diferentes diluições frente às leveduras.

Fungos	Produtos					
	Gelpinho		Cloro		Detergente	
	Diluição 1/2	Diluição 1/4	Diluição 1/2	Diluição 1/4	Diluição 1/2	Diluição 1/4
<i>Candida parapsilosis</i>	1.08 bB	0.65 bB	3.83 aA	2.86 aA	1.20 bB	1.01 bB
<i>Rhodotorula minuta</i>	3.00 aAB	1.96 aB	3.60 aA	2.50 aB	2.60 AB	2.26 aB

As médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. **Fonte:** Os autores.

Tabela 4. Resposta do efeito dos produtos de limpeza em diferentes diluições frente aos fungos

Fungos	Produtos					
	Gelpinho		Cloro		Detergente	
	Diluição 1/2	Diluição 1/4	Diluição 1/2	Diluição 1/4	Diluição 1/2	Diluição 1/4
<i>Tripospermum myrti</i>	68.75 bA	64.58 bA	68.75 aA	68.75 aA	66.66 bc A	63.54 bA
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	71.43 bA	71.43 abA	64.76 aAB	60 aB	71.43 abA	64.76 bAB
<i>Penicillium waksmanii</i>	72.22 bA	70.37 abAB	64.81 aAB	16.68 cC	60.18 cB	65.74 bAB
<i>Aspergillus terreus</i>	82.22 aA	78.33 aA	73.88 aA	28.90 bB	79.44 aA	78.89 aA

As médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. **Fonte:** Os autores.

Os resultados mostram que o cloro foi mais eficiente na inibição dos fungos. Alves et al. (2010) afirma que, cloro por ser um agente oxidante atua sobre os constituintes da membrana celular, levando os microrganismos à morte.

A escolha do produto adequado para realização da assepsia hospitalar é de extrema importância, visto que a resposta de um produto a um microrganismo nem sempre será a mesma com relação a outro. Teixeira et al. (2012) corrobora com essa afirmação ao dizer que não existe um desinfetante químico que atenda a todas as especificações e necessidades encontradas, sendo preciso conhecer as características de cada um para se ter subsídios suficientes na escolha correta do produto, evitando custos excessivos e uso inadequado.

8. CONCLUSÕES

- A ação inibitória dos produtos de limpeza varia de acordo com a espécie fúngica;
- O cloro é mais eficiente na inibição dos fungos filamentos quando comparado aos outros produtos;
- O ambiente hospitalar, por ser um local em que normalmente habitam uma gama de microrganismos patógenos a saúde humana, requer uma maior atenção com relação a sua limpeza;
- A concentração do produto influencia na ação inibitória contra os fungos testados.

REFERÊNCIAS

- ABEGG, P. T. G. M. et al. Controle da infecção hospitalar em unidade de terapia intensiva: estudos retrospectivo. *Semina: Ciência Biológica e da Saúde*. Londrina, v. 32, n. 1, p. 47-58. 2011.
- ADORISIO, S. et al. Fusarubin and Anhydrofusarubin Isolated from A *Cladosporium* Species Inhibit Cell Growth in Human Cancer Cell Lines. *Toxins*, v. 11, p. 1-17, 2019.
- AREA, I. et al. Determination in Galicia of the required beds at Intensive Care Units. *Alexandria Engineering Journal*, v. 59, p. 1-6, 2020.
- CALUMBY, R. J. N. et al. Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila em Unidade de Terapia Intensiva. *Brazilian Journal of Development*, v. 5, n. 10, p. 19708-19722, 2019.
- CALUMBY, R. J. N. et al. Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila em Unidade de Terapia Intensiva. *Brazilian Journal of Development*, v. 5, n. 10, p. 19708-19722, 2019.
- DENSTAEDT, S. et al. Sepsis and nosocomial infection: patient characteristics, mechanisms, and modulation. *Frontiers in Immunology*, v. 9, p. 1 – 16, 2018.
- FROTA, O. P. et al. Eficiência da limpeza e desinfecção de superfícies clínicas: métodos de avaliação. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 73, n. 1, p. 1-6, 2020.
- HAN, et al. Environmental cleaning and disinfection of hospital rooms: A nationwidesurvey. *American Journal of Infection Control*, v. 48, n. 10, 2020.
- HALLEN-ADAMS, H. E.; SUHR, M. J. Fungi in the healthy human gastrointestinal tract. *Virulence*, v. 8, p. 352-358, 2016.
- HONGSANAN, S. et al. The asexual morph of *Trichomerium gloeosporum*. *Mycosphere*, v. 7, p. 1473–1479, 2016.
[https://www.douradosagora.com.br/noticias/ciencia-e-saude/ma-higiene-aumenta-casos-de-infeccao-hospitalar-no-brasil\(reportagem_publicada_no_dia_19_de_outubro_de_2020\)](https://www.douradosagora.com.br/noticias/ciencia-e-saude/ma-higiene-aumenta-casos-de-infeccao-hospitalar-no-brasil(reportagem_publicada_no_dia_19_de_outubro_de_2020)).
- JONES, E. et al. Aging-induced fragility of the immune system. *Journal of Theoretical Biology*, v. 509, 2020.
- KAUR, L.; JAIN, A. S. K. Safe and Effective Delivery of Amphotericin B: A Survey of Patents. *Recent Patents on Nanotechnology*, v. 11, p. 214-223, 2017.
- KORNITZER, D.; ROY, U. Pathways of heme utilization in fungi. *BBA - Molecular Cell Research*, v. 1.867, n. 11, p. 1 – 12, 2020.
- LIMA, M. L. F. et al. Fungos anemófilos: avaliação da microbiota do ar em ambientes interno e externo. *Essentia Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia*, v. 20, n. 1, p.
- LIU, J.; DICKER, J. K. Nosocomial infections: a history of hospital-acquired infections. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, v. 30, n. 4, p. 637-652, 2020.
- MEYER, et al. An evaluation of cleaning practices at a teaching hospital. *American Journal of Infection Control*, v. 48, n. 10, p. 1-4, 2020.

- MIMS, C. et al. *Microbiologia Médica*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2014.
- NICKOLOFF, B. J. *Dermal Immune System*. 1.ed. Estados Unidos: CRC Press, 2020.
- POSCH, W. et al. *Aspergillus terreus*: novel lessons learned on amphotericin B resistance. *Medical Mycology*, v. 56, p. 73–82, 2018.
- QUEIROZ, C.; SOUSA, A. C. B. Produção de enzimas hidrolíticas por fungos filamentosos em diferentes substratos sólidos. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 7, p. 51849-51860, 2020.
- SABINO, R. *Exposure to Fungi in Health Care Facilities*. Reference Module in Life Sciences, 2020.
- SAMADLOUIE, H. R. Production, medium optimization, and structural characterization of an extracellular polysaccharide produced by *Rhodotorulaminuta* ATCC 10658. *Food Science & Nutrition*, v. 8, p. 4957-4964, 2020.
- SANTOS, F. A. G. et al. Anti-biofilm effect by the combined action of fluconazole and acetylsalicylic acid against species of *Candida parapsilosis* complex. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 84, p. 1-6, 2020.
- SCHOLTZ, I. et al. *Penicillium* air mycoflora in postharvest fruit handling environments associated with the pear export chain. *Postharvest Biology and Technology*, v. 128, p. 153-160, 2017.
- SETIAWAN, W. et al. In vitro study of action mode of *rhodotorulaminuta* dmg 16 bep as biocontrol agents on *alternariasolani*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, v. 24, n. 1, p. 28-33, 2020.
- SOUSA, et al. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares causadas por procedimentos invasivos em unidade de terapia intensiva. *Revista Prevenção de Infecção e Saúde*, v.2, p. 11-17, 2016.
- SOUZA, M. E. et al. Disinfection conditions of inanimate surfaces in intensive therapy units. *Revista de Pesquisa: Cuidado e Fundamental*, v. 11, n. 4, p. 651-956, 2019.
- TEIXEIRA, K. S. S. et al. Avaliação da Ação Antimicrobiana de Desinfetantes Utilizados em uma Indústria Químico-Farmacêutica. *Revista Científica Faece Saúde*, v. 1, p. 1-9, 2012.
- TÓTH, R. et al. *Candida parapsilosis*: from Genes to the Bedside. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 33, n. 2, p. 111-118, 2019.
- VENCESLAU, E. M. et al. Frequência de fungos anemófilos em áreas críticas de unidade hospitalar de Aracaju, Sergipe, Brasil. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 44, p. 26-30, 2012.
- VILLANI, A. et al. *Systems Immunology: Learning the Rules of the Immune System*. *Annu Rev Immunol*. v. 36, p. 813-842, 2018.

CAPÍTULO 05

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A GÊNEROS DE *Candida* sp. DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Maria Carolina de Albuquerque Wanderley

Doutora em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos
Instituição: Universidade Federal Rural de Pernambuco
Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife - PE, Brasil
E-mail: mariacarolinawanderley@gmail.com

Roberta Luciana do Nascimento Godone

Doutora em Biologia Aplicada a Saúde – LIKA/UFPE
Instituição: Secretaria de Educação do Estado de Pernambuco
Endereço: Av. Afonso Olindense, 1513 - Várzea, Recife-PE, Brasil
E-mail: robertagodone@hotmail.com

José Manoel Duarte Wanderley

Doutor em Biologia Aplicada a Saúde – LIKA/UFPE
Instituição: Universidade Federal Rural de Pernambuco
Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife - PE, Brasil
E-mail: jse_90@hotmail.com

Thiago Pajeú Nascimento

Doutor em Biologia Aplicada a Saúde – LIKA/UFPE
Instituição: Universidade Federal Rural de Pernambuco
Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife - PE, Brasil
E-mail: thiago_pajeu@hotmail.com

Ana Lúcia Figueiredo Porto

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP
Instituição: Universidade Federal Rural de Pernambuco
Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife - PE, Brasil
E-mail: analuporto@yahoo.com.br

RESUMO: Denomina-se infecção hospitalar ou nosocomial todo tipo de infecção adquirida em ambiente hospitalar. Sua causa é atribuída a quase todos os micro-organismos. A limpeza efetiva é uma das formas de preveni-la, todavia, nem sempre os produtos de limpeza são fungicidas. Este estudo teve como objetivo testar os produtos de limpeza utilizados em hospitais públicos de Pernambuco contra fungos anemófilos. Para tal, os fungos foram coletados em ambiente hospitalar e preservados na Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco. Os experimentos foram realizados utilizando-se três produtos de limpeza nas diluições 1/2 e 1/4: gelpinho, detergente neutro e cloro. Diluíram-se as colônias de leveduras em água destilada, semeou em placa contendo meio Ágar Malte, e adicionando discos de papel filtro contendo os produtos. Já com os filamentosos, acrescentou-se os produtos ao meio de cultura Ágar Malte fundido, adicionou-se um disco de 0,8 mm de cultura fúngica no centro da placa. As placas foram encubadas a temperatura ambiente por 72 horas. Os resultados constataram que o gel pinho e o detergente

apresentaram uma resposta significativa frente a *Candida parapsilosis*, o gel

PALAVRAS-CHAVES: Infecção, Fungos, Anemófilos, Limpeza.

ABSTRACT: Every type of infection acquired in a hospital environment is called hospital infection or nosocomial infection. Its cause is attributed to almost all microorganisms. Effective cleaning is one of the ways to prevent it, however, cleaning products are not always fungicidal. This study aimed to test the cleaning products used in public hospitals in Pernambuco against anemophilic fungi. For this, the fungi were collected in a hospital environment and preserved in the Micoteca URM of the Federal University of Pernambuco. The experiments were performed using three cleaning products in 1/2 and 1/4 dilutions: gelpine, neutral detergent and chlorine. The yeast colonies were diluted in distilled water, sowed on a plate containing Malte Agar medium, and added filter paper discs containing the products. With the filaments, the products were added to the melted Ágar Malte culture medium, and a 0.8 mm fungal culture disc was added to the center of the plate. The plates were incubated at room temperature for 72 hours. The results showed that the pine gel and detergent showed a significant response to *Candida parapsilosis*, the pine gel also showed a significant result in the 1/4 dilution against *Tripospermum*, emphasizing the importance of the use of various products in hospital cleaning.

KEYWORDS: Infection, Fungi, Anemophiles, Cleansing.

1 INTRODUÇÃO

O tratamento de doenças infecciosas causadas por microrganismos tornou-se o mais desafiador problema de saúde da era moderna (GANJEWALA *et al.*, 2014). Em um cenário que a utilização de produtos químicos no combate a microrganismos se restringe devido aos efeitos carcinogênicos, de toxicidade aguda e riscos ambientais, (SWAMY; AKHTAR; SINNIHAH, 2016). Fatores como o aumento da resistência de fungos e bactérias patológicas conhecidas, em conjunto com o aparecimento de novos patógenos emergentes, demonstram a importância e o caráter de urgência do desenvolvimento de novos antimicrobianos (KHOSRAVI; SHOKRI; FAHIMIRAD, 2016). É crescente o interesse pela descoberta de novas fontes de antimicrobianos dando-se ênfase para as de origens vegetais, resultando na inserção de vários processos de triagens desses vegetais na busca por novos compostos com ação antimicrobiana (BADAWY; ABDELGALEIL, 2014). Durante o processo de obtenção de novos compostos com atividades terapêuticas, buscam-se atividades farmacológicas desejadas em humanos, animais e no controle de patógenos presentes nos alimentos, em especial nos setores de armazenamento (GEMEDA *et al.*, 2014).

Há uma constante busca por estratégias de controle da disseminação fúngicas e da formação dos seus metabolitos tóxicos, as micotoxinas fazendo-se uso constante de tratamentos sintéticos (BOMFIM *et al.*, 2015). Devido aos problemas inerentes do uso dos fungicidas sintéticos, como custo de produção e efeitos colaterais, alternativas terapêuticas vêm sendo desejadas e os produtos de origem vegetal para utilização no tratamento de patógenos (THOMIDIS; FILOTHEOU, 2016).

Dentre os microrganismos patológicos, os fungos se destacam por serem patógenos oportunistas com alta capacidade de resistência a antimicrobianos, a qual é agravada por fatores como a baixa oferta de antifúngicos, limitando-se a apenas três classes (REVIE *et al.*, 2018). Todavia, as infecções fúngicas que acometem humanos são em sua grande maioria relativas às dermatofitoses, que, embora mais comuns, não são associadas aos casos mais graves de micoses. Infecções oportunistas, subcutâneas e sistêmicas estão entre as mais invasivas, que podem ser letais (JAMALIAN *et al.*, 2012).

Os fungos são organismos eucariontes, unicelulares ou multicelulares, costumeiramente encontrados em materiais orgânicos em decomposição, se

fazendo presente em todos os ecossistemas nos mais diversos ambientes (CONTI *et al.*, 2018). O desenvolvimento desses microrganismos é muito mais grave entre pacientes que recebem tratamento com antibióticos de amplo espectro e quimioterápicos antineoplásicos, podendo ocasionar até o desenvolvimento de uma septicemia, trazendo riscos à vida do paciente (SHARIFZADEH *et al.*, 2018).

Os fungos também são responsáveis por ocasionar grande parte dos prejuízos gerados na colheita e produção de alimentos. As infestações fúngicas resultam em perdas exponenciais (XIE *et al.*, 2017). Grande parte do acometimento do setor agrícola por fungos se deve ao aumento da ineficácia dos fungicidas sintéticos atuais, motivados em suma pela aquisição de resistência dos fungos, devido ao uso prolongado dos antifúngicos (SOYLU; KURT; SOYLU, 2010). Apesar dos notórios avanços tecnológicos, estima-se que em esfera global cerca de um quarto dos alimentos tiveram que ser descartados nas commodities por contaminação fúngicas e/ou metabólitos fúngicos (GEMEDA *et al.*, 2014).

As patologias ocasionadas por fungos no setor alimentício em sua maioria advêm de micotoxinas do metabolismo fúngico, que podem causar processos infecciosos quando ingeridas (BOMFIM *et al.*, 2015). Estima-se que 250.000 mortes na África foram causadas por hepatocarcinoma associada à ingestão de aflatoxinas, expressando o potencial patogênico das micotoxinas (GEMEDA *et al.*, 2014). Isso resulta na necessidade de uma constante busca por estratégias de controle da disseminação fúngica e da formação dos seus metabólitos tóxicos, como alternativa aos tratamentos químicos (BOMFIM *et al.*, 2015).

As estruturas fúngicas que conferem resistência são, em sua maioria, advindas de fatores determinantes como a formação de biofilmes e a presença de dimorfismo, em alguns gêneros como a *Candida* sp. Estes traços são predominantes no surgimento das suas formas resistentes (BANU *et al.*, 2018). Atualmente, a patogenicidade da *Candida* sp. vem tendo destaque. Nota-se em esfera global o crescimento da sua incidência desde os anos 80, em especial em pacientes hospitalizados imunocomprometidos, onde a ocorrência de espécies mais resistentes é maior e mais grave (AGGARWAL; KASHYAP, 2018). Leveduras do gênero *Candida* têm como fator agravante a expressiva quantidade de espécies (existem cerca de 200 espécies conhecidas), sendo 10% dessas potencialmente patogênicas para humanos (GAUCH *et al.*, 2018). Espécies de *Candida* emergentes e multirresistentes, como a *C. auris* e a *C. haemulonii*, já foram descritas como

responsáveis por graves surtos em ambientes hospitalares (THEILL *et al.*, 2018).

A exposição prolongada das espécies de *Candida* às classes de medicamentos como os azóis acarreta uma grande probabilidade de aquisição de resistência a esses medicamentos, como já documentado pela literatura (SEGAL *et al.*, 2015; MORIO *et al.*, 2017). Drogas como o Fluconazol já não apresentam ação contra espécies resistentes como a *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. lipolytica* dentre outras espécies de *Candida* não albicans e algumas espécies emergentes como a *Candida auris* (MORIO *et al.*, 2017). Realidade essa, observada em isolados de *C. glabrata* recuperados de infecções onde foram documentadas resistência a Fluconazol em 33% dos isolados (POZZATTI *et al.*, 2008).

Os processos infecciosos causados por *Candida* tiveram uma extensão significativa nos últimos anos tornando-se uma das infecções de maior incidência em pacientes submetidos a tratamentos medicamentosos de amplo espectro e imunologicamente comprometidos (SOARES *et al.*, 2015). Tal fato se deve à capacidade mutagênica do gênero *Candida*, alterando a taxonomia do gênero, ocorrendo que onde outrora havia um predomínio da *Candida albicans* são observadas uma progressiva substituição por *Candida* “não albicans”: espécies resistentes (MUCCI *et al.*, 2017). Com o surgimento de *Candidas* “não albicans” como a *Candida glabrata* e *C. krusei*, o acometimento de graves infecções fúngicas está cada vez mais frequente em pacientes imunocomprometidos (SHARIFZADEH *et al.*, 2017).

A *Candida glabrata* já é a segunda maior responsável por infecção na América do Norte, e com esse parâmetro se equivalendo rapidamente em esfera global, traz o caráter de urgência na elaboração de novas terapias medicamentosas (CEN *et al.*, 2017). Essa realidade corresponde em grande parte pela eficácia decrescente dos fungicidas sintéticos, determinando desta maneira uma grande necessidade de elaboração de novos fármacos (SOYLU; KURT; SOYLU, 2010). Tais dados chamam atenção para as patologias causadas fungos, onde eles devem ser inseridos em um dos principais problemas de saúde pública (GEMEDA *et al.*, 2014).

Fatores que vão desde a baixa oferta de antifúngicos ao aumento da ineficácia dos fármacos existentes provoca a busca por soluções terapêuticas alternativas contra esses microrganismos patológicos, voltando-se os olhos para fitoterapia (KHOSRAVI *et al.*, 2013). A análise química de extratos vegetais fornece informações que podem explicar as atividades farmacológicas e os componentes

bioativos das ervas, assim como sua eficácia. Componentes como ácidos fenólicos e flavonoides encontrados em alguns extratos já são conhecidos por possuir atividades antimicrobianas (MÉABED *et al.*, 2018).

Tem-se uma tendência mundial de conscientização biomédica, ressaltando a importância e a aplicabilidade de compostos antifúngicos advindos de plantas (SHARIFZADEH *et al.*, 2017). Órgãos como a OMS (Organização Mundial de Saúde) vêm estimulando a busca pela cultura medicamentosa expressa por conhecimentos populares, que em sua maioria é advindo de plantas locais, para obtenção de dados, visando a elaboração de novos fármacos (RICARDO *et al.*, 2017). A disposição de plantas medicinais tradicionais representa um valiosíssimo reservatório de substâncias farmacologicamente ativas e possíveis drogas (KHOSRAVI; SHOKRI; FAHIMIRAD, 2016). As plantas têm despontado na última década como alternativa promissora no desenvolvimento de antimicrobianos, intensificando o interesse nos seus extratos (LEE *et al.*, 2007).

A medicina tradicional já possui plantas em um patamar de referência quanto a sua utilização com finalidades médicas (GUPTA; MUHURY; GANJEWALA, 2016). A aplicação da medicina herbal se tornou o foco na busca por uma abordagem que não tenha como consequência as atuais complicações advindas do uso dos atuais fármacos (ABDEL-WAHAB; ABDEL-RAZIK; AZIZ, 2017). Sabe-se que as plantas com potenciais farmacológicos comprovados se fazem presente em mais de 9000 exemplares, das quais aproximadamente 1500 espécies reconhecidas por sua representatividade de sabor e aroma (SWAMY; AKHTAR; SINNIHAH, 2016).

Plantas como a erva doce (*Foeniculum vulgare*), planta nativa do mediterrâneo pertencente à família dos umbíferos, está muito associada às práticas medicamentosa na cultura popular, onde são utilizados raízes, brotos jovens, folhas, sementes e vapores (BARROS *et al.*, 2009). A Erva doce é uma das plantas de maior utilidade na prática medicamentosa alternativa, devido seu amplo espectro de componentes bioativos, o que possibilita sua vasta aplicabilidade farmacológica (SYED *et al.*, 2018). A utilização medicamentosa da *F. vulgare* abrange problemas do sistema digestivo, litíase renal, bronquite, tosse crônica, além de ser altamente recomendada para diabetes, considerada também um excelente diurético (BARROS; CARVALHO; FERREIRA, 2010). Fatores como análises químicas de extratos de ervas expressam o potencial terapêutico de ervas como a Erva doce, tendo sido observados ácidos fenólicos e flavonoides, que são compostos reconhecidos pelo

seu potencial medicamentoso (MÉABED *et al.*, 2018).

O *F. vulgare* está entre as plantas mais utilizadas como fármaco alternativo no mundo, isso muito se deve ao seu amplo leque de bioatividade. No Equador é utilizada como tratamento alternativo de patologias como câncer (SYED *et al.*, 2018). A Erva-doce faz parte da medicina tradicional por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, suas características farmacológicas propiciaram estudos como seu auxílio na diminuição da foto envelhecimento causado pelos raios UVB (SUN *et al.*, 2016). Com a utilização da medicina herbal cada vez mais recorrente, as plantas aromáticas são uma alternativa as práticas medicamentosas, na busca de se evitar os efeitos colaterais dos medicamentos e de diminuir os gastos com fármacos. (ABDEL-WAHAB; ABDEL-RAZIK; AZIZ, 2017).

Outras plantas como a Canela (*Cinnamomum cassia*) têm suas atividades biológicas relacionadas ao tratamento de enfermidades como: cólicas, dispepsia, diarreia entre outros (SEO *et al.*, 2014). A Canela é uma planta nativa do Sri Lanka, que pode chegar a uma altura entre 10 e 20 metros, utilizada popularmente para finalidades medicamentosas. Sua administração consiste na retirada da casca do tronco das árvores, a qual é recolhida durante o ano todo (SEO *et al.*, 2014). Comum também no sul da China, onde seus galhos são usados no tratamento de processos inflamatórios, dor, distúrbios menstruais, hipertensão, febre, entre outros, a *C. cassia* já se faz presente há séculos em indústrias alimentícias e de cosméticos (SUN *et al.*, 2016).

Sendo também uma erva recorrente na dieta indiana, recentemente observou-se nela um potencial antidiabético em resultados de testagens preliminares, demonstrando mais uma vertente do seu potencial medicamentoso há dar-se sequência (KAUR *et al.*, 2018). Técnicas medicamentosas tradicionais como o *Ayurveda* (técnica medicamentosa tradicional predominante na Índia) também relatam a eficácia da canela no tratamento da disfunção sexual (GOSWAMI *et al.*, 2013).

Apelidada de erva da recordação, o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é descrito como um anti-aminésico, aplicação sugerida pela possível aplicação da nefelina encontrada no alecrim, inserindo esse vegetal entre as plantas com potencial farmacológico (KARIM *et al.*, 2017). O alecrim é uma erva nativa do mediterrâneo e da Ásia, notória por ser uma das ervas mais cultivadas no mundo, é muito utilizada na extração de óleos, manteigas e vinagres (PEREIRA *et al.*, 2017). Ela pertence à

família das Lamiaceae, com ampla utilização na medicina popular e na indústria farmacêutica. Descrita na literatura com potenciais: anti-inflamatório, hepatoprotetor, antibacteriano, antitrombótico, diurético, antidiabético, antinociceptivo, antineoplásica (ZORAL *et al.*, 2017). Além de possuir atividades antioxidantes, devido à presença de compostos como o ácido carnósico e seus derivados, carnosol, cosmadial, rosmanol, isômeros de rosmanol e carnosato de metilo (AMARAL *et al.*, 2018).

As aplicações fitoterápicas das ervas aromáticas advindas de biomoléculas secundárias a partir dos “óleos essenciais” é justificada pela variedade de atividades bioativas dos seus compostos (WEI, 2013). O conhecimento das diversas atividades terapêuticas das plantas aromáticas e seus óleos essenciais é sabido desde a antiguidade, onde os processos de extração dos óleos eram aplicados em várias partes das plantas incluindo caule, sementes entre outros (BADAWY; ABDELGALEIL, 2014).

Os óleos essenciais (OEs) são sintetizados nas plantas em várias estruturas, das quais posteriormente podem vir a ser extraídos. Podem ser citadas as folhas, flores, sementes, frutos e raízes, dispondo-os como subprodutos de obtenção variada (CASTRO *et al.*, 2017 apud BAKKALI *et al.* 2008; TEXEIRA *et al.* 2013). Sua composição contém substâncias como os terpenóides, resultantes da junção complexa de monoterpenos cíclicos e acíclicos. Os OEs compõem uma mistura de grande atividade biológica, a qual possibilita o desenvolvimento de atividades terapêuticas, como antimicrobianas (WEI, 2013).

Sabendo-se que atividades como as antimicrobianas advindas dos óleos essenciais se devem à diversidade de substâncias bioativas, os OEs podem ser utilizados como fonte de estudos na busca por novas alternativas medicamentosas (GANJEWALA *et al.*, 2014). Os OEs detêm potenciais também para atuação no combate às micotoxinas, além das outras tantas aplicações terapêuticas (SWAMY; AKHTAR; SINNI AH, 2016).

Detendo um amplo leque de atuação antifúngica, os OEs de plantas aromáticas mostram eficácia na sua utilização terapêutica frente a em gêneros como a *Candida* sp. (BANU *et al.*, 2018). Outros fatores inerentes aos OEs são seu alto valor de comércio no mercado global, sabor único e fragrância, utilização na aromaterapia, auxiliando no tratamento de patologias como doenças cardiovasculares, diabetes, Alzheimer e câncer (SWAMY; AKHTAR; SINNI AH, 2016). Há também as aplicações terapêuticas dos óleos essenciais no controle e

inibição de patógenos em alimentos onde é amplamente aceito como terapia segura, eficaz e sem efeitos colaterais (GANJEWALA *et al.*, 2014). Os OEs também possuem potencial antiparasitário, apresentando baixa citotoxicidade, o que contribui de maneira enfática para sua utilização com fins medicamentosos (PEREIRA *et al.*, 2017).

Os OEs detêm uma série de características que os colocam como potenciais terapêuticos contra diversas patologias. Em especial no tratamento de patologias fúngicas, as quais já foram descritos bons resultados em espécies do gênero *Candida* (BANU *et al.*, 2018). Dessa maneira, o presente trabalho se propôs a avaliar a atividade antimicrobiana de três extratos vegetais (erva doce, canela e alecrim) frente a isolados do gênero *Candida* que apresentam interesse clínico. Nesse sentido o objetivo deste capítulo foi avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva doce (*Foeniculum vulgare*), canela (*Cinnamomum cassia*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), frente a espécies de *Candida* sp. de importância clínica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais de erva doce (*Foeniculum vulgare*), canela (*Cinnamomum cassia*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) foram obtidos comercialmente, a partir das folhas desses vegetais, na concentração de 100%, em mercado público da cidade de Recife, Pernambuco, sendo estocados à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, até o momento do uso.

2.2 OBTENÇÃO DAS LINHAGENS DE *CANDIDA*

As linhagens de *Candida* utilizadas foram gentilmente cedidas pelo Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As espécies selecionadas foram as que apresentaram relevância clínica, como: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parakrusei*, *C. krusei*, *C. lipolyticae* e *C. lusitanea*. Todas as leveduras foram mantidas em Caldo Sabouraud-Dextrose (DIFICO®, Detroit, Michigan, EUA), a 4 °C.

2.3 PREPARO DO INÓCULO

As cepas foram reativadas em Caldo Sabouraud-Dextrose (DIFICO®, Detroit, Michigan, EUA), a 37°C por 24 horas. As suspensões fúngicas foram preparadas diluindo os inóculos em solução salina estéril (salina a 0,85%) e a suspensão

resultante foi homogeneizada em agitador de vórtex durante 15 segundos, até que fosse obtida turvação equivalente a uma solução padrão da escala de McFarland 0,5 onde a suspensão-padrão de leveduras continha aproximadamente $1,5 \times 10^6$ UFC/mL (NCCLS, 2002).

2.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada de acordo com as diretrizes do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI), utilizando o método de microdiluição em caldo (Cockerill *et al.*, 2012). Utilizando-se microplacas de 96 poços, foram adicionados 100 µL de meio de cultura a 100 µL dos óleos essenciais de erva doce (*Foeniculum vulgare*), canela (*Cinnamomum cassia*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) na concentração inicial de 100%. A concentração na primeira linha foi de 50%. Após a primeira diluição, 100 µL da primeira linha A da microplaca foram retirados e adicionados à linha seguinte B, e esse procedimento foi repetido até a última linha H, deixando as diluições seriadas nas concentrações de 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78% e 0,39%, respectivamente. Após as diluições, 40 µL da suspensão com as espécies de *Candida* (1×10^6 UFC/mL) foram adicionadas às placas. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Os controles de crescimento positivos foram inoculados da mesma forma, com o caldo sabouraud no local dos óleos essenciais. O meio estéril acrescido do antifúngico miconazol foi utilizado como controle de inibição do crescimento microbiano. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os três óleos essenciais testados, erva-doce (*Foeniculum vulgare*), canela (*Cinnamomum cassia*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), foi possível observar atividade antimicrobiana dentre algumas espécies de *Candida* testadas. A Tabela 1 descreve todos os resultados obtidos.

Tabela 1. Resumo dos dados obtidos dos percentuais das concentrações inibitórias mínimas dos óleos essenciais testados em espécies do gênero *Candida* de interesse clínico.

Microrganismo	Concentração inibitória mínima de cada óleo essencial (%)		
	Erva doce (<i>F. vulgare</i>)	Canela (<i>C. cassia</i>)	Alecrim (<i>R. officinalis</i>)
<i>C. albicans</i>	3,12	–	1,57
<i>C. glabrata</i>	–	–	–
<i>C. parakrusei</i>	3,12	–	1,57
<i>C. krusei</i>	–	–	–
<i>C. lipolytica</i>	50	–	50
<i>C. lusitanea</i>	1,57	–	1,57

Fonte: Os autores.

O óleo essencial de Erva doce (*F. vulgare*) obteve os respectivos resultados: *C. albicans* e *C. parakrusei* foram inibidas com uma concentração inibitória mínima (CIM) de 3,12% do óleo. Já a *C. lusitanea* apresentou um percentual mais baixo de inibição, igual a 1,57%. *C. lipolytica* apresentou o maior percentual de inibição (50%), enquanto nas espécies *C. glabrata* e *C. krusei* não houve inibição. O óleo essencial de Canela (*C. cassia*) não mostrou ação inibitória em nenhuma espécie de *Candida* testada nas concentrações apresentadas. O óleo essencial de Alecrim (*R. officinalis*) apresentou os melhores resultados, tendo inibido o crescimento das espécies *C. albicans*, *C. parakrusei* e *C. lusitanea* na concentração de 1,57%. Para a *C. lipolytica*, o resultado foi semelhante quando utilizado o óleo da erva doce, apresentando um percentual de inibição de 50%. As espécies *C. glabrata* e *C. krusei* também não conseguiram ser inibidas pelas concentrações do óleo de alecrim testadas no presente trabalho. Os resultados obtidos expressam em primeira instância a ação inibitória dos óleos essenciais em fungos do gênero *Candida*. Dos três óleos testados dois tiveram ação inibitória em 4 das 6 espécies de *Candida* testadas, embora o percentual de inibição da *C. lipolytica* tenha sido pouco expressivo nos óleos de Alecrim e Erva doce, eles tiveram um percentual inibitório significativo nas espécies: *C. albicans*, *C. parakrusei* e *C. lusitanea*.

O presente trabalho traz dados pertinentes onde foram possíveis observa uma concordância com outros estudos, quanto à ação antifúngica dos óleos essenciais em espécies de *Candida*. Elas foram relatadas em Gavanji *et al.* (2015), o qual relatou a ação inibitória dos óleos essenciais de *Z. multiflora* Boiss e *S. hortensis* expressando uma CIM de 34 mg/mL para *C. albicans*. Em 2008, Maksimovic *et al.* também relataram ação inibitória do óleo de *Thymus pannonicus* na espécie *C. albicans*, obtendo uma CIM de 50 mg/mL. Nossas aplicações dos

óleos essenciais de Erva doce (*Foeniculum vulgare*) e Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) também tiveram ação inibitória na espécie *Candida albicans* obtendo percentuais inibitórios de 3,125% e 1,563% respectivamente. Os outros resultados dos óleos essenciais de Erva doce e Alecrim fomentaram dados inéditos e muito positivos quanto à inibição das espécies: *Candida parakrusei* e *Candida lusitanea*, expressando sua eficácia perante espécies não *albicans*. Demonstrando assim potenciais opções terapêuticas. Dentro da necessidade de elaboração de novas alternativas que possam atuar de maneira mais eficaz no combate aos microrganismos que se disseminam por todo o mundo, realidade essa já exposta em 2014, por Ganjewala *et al.*, que afirmava que as doenças infecciosas já são responsáveis por metade de todas as mortes nos países tropicais.

O maior destaque e a ação inibitória dos óleos de Erva doce e Alecrim nas espécies “não *albicans*” com percentuais bem expressivos, obtendo, desta forma, valores interessantes para as espécies *C. lusitanea* e *C. parakrusei*, nos óleos de Erva doce e Alecrim. Dados esses que fomentam a ação e a relevância desses óleos em espécies de *Candida* “não *albicans*”, as quais ainda não há citação na literatura pesquisada. A Concentração Inibitória Mínima (CIM), o efeito inibitório sobre biofilmes, a biocompatibilidade, e a interação com outros microrganismos são aspectos que devem ser considerados quando da perspectiva de novos estudos e validação do uso clínico desses produtos naturais. Estudos futuros são necessários para melhor investigação da atividade antifúngica dos óleos de Erva doce e Alecrim, e assim comprovar sua eficácia.

4 CONCLUSÃO

Na busca por alternativas medicamentosas evidencia-se o potencial farmacológico das ervas aromáticas presentes nos seus metabólitos secundários, os óleos essenciais, reavivando assim, os estudos do seu potencial antifúngico pouco pesquisado e suas possíveis aplicações farmacológicas em diferentes gêneros e espécies fúngicas. O presente trabalho mostrou o potencial antimicrobiano dos óleos de Erva doce e Alecrim frente a espécies do gênero *Candida* de interesse clínico, em especial para os gêneros *C. albicans*, *C. parakrusei* e *C. lusitanea*. O óleo de Canela não demonstrou nenhuma atividade antifúngica nas concentrações testadas. Outros testes são necessários para confirmar a atividade contra gêneros de

Candida. Entretanto, o trabalho contribui com o desenvolvimento de novas alternativas medicamentosas em comparação às drogas sintéticas existentes.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, G. P. *et al.* Multiple mechanistic action of *Rosmarinus officinalis* L. extract against ethanol effects in an acute model of intestinal damage. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p.6-12, 2018.
- AMARAL-LOPES, S.; MOURA, A. Neonatal fungal sepsis by *Candida krusei*: A report of three cases and a literature review. **Medical Mycology Case Reports**, v. 1, n. 1, p.2-6, 2012.
- BADAWY, M. E.; ABDELGALEIL, S. A. M. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p.2-22, 2014.
- BANU, S. F. *et al.* Effects of patchouli and cinnamon essential oils on biofilm and hyphae formation by *Candida* species. **Journal de Mycologie Médicale**, p.2-10, 2018.
- BARROS, L. *et al.* Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 10, p.2-10, out. 2009.
- BARROS, L.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R. The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): Shoots, leaves, stems and inflorescences. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 43, n. 5, p.2-12, jun. 2010.
- BARROS, P. P. *et al.* Influence of *Candida krusei* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* gene expression in in vitro biofilms. **Archives of Oral Biology**, v. 64, p.2-10, abr. 2016.
- BOMFIM, N. S. *et al.* Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. **Food Chemistry**, v. 166, p.2-12, 2015.
- BRONDANI, L. P. *et al.* Evaluation of anti-enzyme properties of *Origanum vulgare* essential oil against oral *Candida albicans*. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 28, n. 1, p. 9-10, mar. 2018.
- CASTRO, J. C. *et al.* Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p.1-9, mar. 2017.
- CEN, Y. *et al.* Comparison of genome engineering using the CRISPR-Cas9 system in *C. glabrata* wild-type and lig4 strains. **Fungal Genetics and Biology**, v. 107, p.2-5, out. 2017.
- CONTI, P. *et al.* Impact of Fungi on Immune Responses. **Clinical Therapeutics**, p.4-5, 2018.
- COSTA, R. G. *et al.* Substituição parcial de farinha de soja por ureia sobre a produção e composição do leite em cabras Saanen físico-química. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 596-603, 2009.
- DANNAOUI, E. Antifungal resistance in mucorales. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 5, p.6-21, 2017.
- FAUCON, M. Principios de aromaterapia científica y aplicaciones prácticas en podología. **Emc - Podología**, v. 16, n. 1, p.2-4, 2014.

FEYZABADI, Z. *et al.* Efficacy of Violet oil, a traditional Iranian formula, in patients with chronic insomnia: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 214, p.2-5, 2018.

GANJEWALA, D. *et al.* Antibacterial Properties of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud) Wats Essential Oils in Single form and Combination of Honey Against Drug Resistant Pathogenic Bacteria. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 4, n. 4, p.10-15, 2014.

GAUCH, L. M. R. *et al.* Isolation of *Candida* spp. from denture-related stomatitis in Pará, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 1, p.3-6, 2018.

GAVANJI, S. *et al.* Comparative efficacy of herbal essences with amphotricin B and ketoconazole on *Candida albicans* in the *in vitro* condition. **Integrative Medicine Research**, v. 4, n. 2, p.1-18, 2015.

GEMEDA, N. *et al.* Effect of essential oils on *Aspergillus* spore germination, growth and mycotoxin production: a potential source of botanical food preservative. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, p.2-5, 2014.

GÖRANSSON, U. L. F.; MALIK, S.; SLAZAK, B. Cyclotides in the Violaceae. **Advances In Botanical Research**, p.1-4, 2015.

GUPTA, A. K.; MUHURY, R.; GANJEWALA, D. A Study on Antimicrobial Activities of Essential Oils of Different Cultivars of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*). **Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n. 3, p.5-10, 30 set. 2016.

IANNACCONE, M. *et al.* Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS) induced by *Candida krusei* in an *Aldabra giant tortoise* (*Aldabrachelys gigantea*) and confirmed by electron microscopy analysis. **Medical Mycology Case Reports**, v. 21, p.4-8, set. 2018.

IRELAND, D. C. *et al.* Discovery and Characterization of a Linear Cyclotide from *Viola odorata*: Implications for the Processing of Circular Proteins. **Journal of Molecular Biology**, v. 357, n. 5, p.3-7, abr. 2006.

JAMALIAN, A. *et al.* Chemical composition and antifungal activity of *Matricaria recutita* flower essential oil against medically important dermatophytes and soil-borne pathogens. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 22, n. 4, p.2-10, dez. 2012.

JUD, P. *et al.* Invasive *Candida krusei* infection and *Candida vasculitis* of a leg ulcer in an immunocompetent patient: A case report. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 55, p.2-5, 2017.

KAPLAN, Steven A. Re: A Two-Week, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of *Viola odorata*, *Echium amoenum* and *Physalis alkekengi* Mixture in Symptomatic Benign Prostate Hyperplasia (BPH) Men. **The Journal of Urology**, p.5-7, 2018.

KARIM, N. *et al.* Molecular docking and anti-amnesic effects of nepitrin isolated from *Rosmarinus officinalis* on scopolamine-induced memory impairment in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p.4-75, 2017.

KAUR, G. *et al.* A nutraceutical combination of *Cinnamomum cassia* & *Nigella sativa* for Type 1 diabetes mellitus. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 9, n. 1, p.2-3, 2018.

- KHOSRAVI, R. A. *et al.* Antimycotic efficacy of Iranian medicinal plants towards dermatophytes obtained from patients with dermatophytosis. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, n. 1, p.4-20, 2013.
- LEE, S. H. *et al.* Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. **Food Control**, v. 18, n. 12, p.4-20, 2007.
- LEITÃO, F. *et al.* Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: an overview on their botanical diversity and toxicological potential. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p.2-10, 2014.
- MAHBOUBI, M.; KASHANI, L. M. T. A Narrative study about the role of *Viola odorata* as traditional medicinal plant in management of respiratory problems. **Advances in Integrative Medicine**, p.3-5, 2017.
- MARTINS, Natália *et al.* Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p.6-7, 2015.
- MATUSINSKY, P. *et al.* Antifungal effect of five essential oils against important pathogenic fungi of cereals. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p.2-20, 2015.
- MÉABED, E. M.H. *et al.* Chemical analysis of aqueous extracts of *Origanum majorana* and *Foeniculum vulgare* and their efficacy on *Blastocystis* spp. cysts. **Phytomedicine**, v. 43, p.15-16, 2018.
- MOHAMED, A. A. *et al.* Chemical composition of essential oil and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of *Commiphora myrrha* resin. **Industrial Crops and Products**, v. 57, p.1-6, 2014.
- MORIO, F. *et al.* Molecular basis of antifungal drug resistance in yeasts. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 5, p.5-6, 2017.
- MUCCI, M. J. *et al.* Prevalence of *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida africana* in pregnant women suffering from vulvovaginal candidiasis in Argentina. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 34, n. 2, p.2-5, 2017.
- PAZOKI, H. *et al.* Comparing the effects of aerobic exercise and *Foeniculum vulgare* on premenstrual syndrome. **Middle East Fertility Society Journal**, v. 21, n. 1, p.6-7, 2016.
- PEREIRA, P. S. *et al.* Trypanocide, antileishmania and cytotoxic activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L in vitro. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p.5-10, 2017.
- POZZATTI, P. *et al.* In vitro activity of essential oils extracted from plants used as spices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida* spp. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 11, p.9-12, 2008.
- RACINE, P.; AUFRAY, B. Quenching of singlet molecular oxygen by *Commiphora myrrha* extracts and menthofuran. **Fitoterapia**, v. 76, n. 3-4, p.3-32, 2005.
- RATHER, M. A. *et al.* *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p.4-6, 2016.
- REVIE, N. M. *et al.* Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. **Current Opinion in Microbiology**, v. 45, p.1-6, 2018.

RICARDO, L. M. *et al.* Plants from the Brazilian Traditional Medicine: species from the books of the Polish physician Piotr Czerniewicz (Pedro Luiz Napoleão Chernoviz, 1812–1881). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 3, p.1-21, 2017.

SCHUSTER, M. G. *et al.* Risk factors and outcomes of *Candida krusei* bloodstream infection: A matched, case-control study. **Journal of Infection**, v. 66, n. 3, p.2-4, 2013.

SEGAL, H. D. *et al.* Trastornos por consumo de sustancias y fármacos. **Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 11, n. 86, p.5-51, 2015.

SHARIFZADEH, A. *et al.* Potential effect of 2-isopropyl-5-methylphenol (thymol) alone and in combination with fluconazole against clinical isolates of *Candida albicans*, *C. glabrata* and *C. krusei*. **Journal de Mycologie Médicale**, p.3-5, 2018.

SHARIFZADEH, A. *et al.* Synergistic anti Candidal activity of menthol in combination with itraconazole and nystatin against clinical *Candida glabrata* and *Candida krusei* isolates. **Microbial Pathogenesis**, v. 107, p.3-6, 2017.

SOARES, I.H. *et al.* In vitro activity of essential oils extracted from condiments against fluconazole-resistant and -sensitive *Candida glabrata*. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 25, n. 3, p.2-21, 2015.

SOYLU, E. M.; KURT, Ş.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3, p.1-9, 2010.

STUPAR, M. *et al.* Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. **South African Journal of Botany**, v. 93, p.2-23, 2014.

SU, S. *et al.* Anti-inflammatory and analgesic activity of different extracts of *Commiphora myrrha*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p.2-25, 2011.

SU, S. *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory and analgesic properties of individual and combined extracts from *Commiphora myrrha*, and *Boswellia carterii*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 2, p.6-9, 2012.

SVANGÅRD, E. *et al.* Primary and 3-D modelled structures of two cyclotides from *Viola odorata*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p.2-4, set. 2003.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIAH, U. R. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, p.11-21, 2016.

SYED, F. Q. *et al.* Chloroform fraction of *Foeniculum vulgare* induced ROS mediated, mitochondria-caspase-dependent apoptotic pathway in MCF-7, human breast cancer cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 218, p.1-26, 2018.

TERAI, H. *et al.* *Candida* is a protractive factor of chronic oral ulcers among usual outpatients. **Japanese Dental Science Review**, v. 54, n. 2, p.5-1, 2018.

THEILL, L. *et al.* Single-tube classical PCR for *Candida auris* and *Candida haemulonii* identification. **Revista Iberoamericana de Micología**, p.2-5, 2018.

THOUIDIS, T.; FILOTHEOU, A. Evaluation of five essential oils as bio-fungicides on the

control of *Pilidiellagranati* rot in pomegranate. **Crop Protection**, v. 89, p.6-7, 2016.

TOBYN, G.; DENHAM, A.; WHITELEGG, M. *Viola odorata*, sweet violet; *Viola tricolor*, heartsease. **Medical Herbs**, p.3-34, 2011.

TUDURÍ, Xavier Mundet. Una especia alimentaria como la canela china (*Cinnamomum cassia*) puede ser útil en el control glucémico y lipídico de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2. **Fmc - Formación Médica Continuada En Atención Primaria**, v. 11, n. 3, p.4-12, 2004.

WEI, L. S. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon nardus* citronella essential oil against systemic bacteria of aquatic animals. **Iranian Journal of Microbiology**. Iram, p. 2-10, 2013.

WOHLMEISTER, Denise *et al.* Differentiation of *Candida albicans*, *Candidaglabrata*, and *Candida krusei* by FT-IR and chemometrics by CHROMagar™ *Candida*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 141, p.2-5, 2017.

XIE, Y. *et al.* Structure-activity relationships of cinnamaldehyde and eugenol derivatives against plant pathogenic fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p.22-10, 2017.

YESHAK, M. Y. *et al.* Optimization of cyclotide extraction parameters. **Phytochemistry Letters**, v. 5, n. 4, p.7-8, 2012.

ZORAL, M.A. *et al.* Anthelmintic activity of *Rosmarinus officinalis* against *Dactylogyrus minutus* (Monogenea) infections in *Cyprinus carpio*. **Veterinary Parasitology**, v. 247, p.3-5, 2017.

CAPÍTULO 06

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE LECTINAS SOBRE LEVEDURAS PATOGENICAS: UMA REVISÃO

Leilane Marina Morais dos Santos

Doutoranda em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: leilanemarina1@gmail.com

Thiago Henrique Napoleão

Professor Associado da Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: thiago.napoleao@ufpe.br

RESUMO: Muitas espécies de leveduras são componentes normais da microbiota humana. Porém, em determinadas circunstâncias como enfraquecimento do sistema imunológico, algumas espécies de *Candida*, *Cryptococcus*, e *Trichosporon* podem causar doenças. A candidíase é a causa mais importante de micose oportunista em todo o mundo e a principal causa de infecção nosocomial na corrente sanguínea. A criptococose afeta humanos e diversos animais e, apesar do pulmão ser o local mais comum de entrada do patógeno no corpo, a meningoencefalite é a manifestação clínica mais comum dessa infecção. A tricosporonose é uma outra infecção oportunista, com taxas de mortalidade de 42% a 90%, sendo relatada como a segunda infecção mais comum por fungemia em pacientes com doenças hematológicas malignas. A resistência a antifúngicos comerciais tem sido uma das causas para o aumento da mortalidade causada por infecções fúngicas invasivas. Nesse cenário, é crescente a busca por novos agentes antimicrobianos que possam servir como alternativas. Lectinas (proteínas que se ligam a carboidratos) têm sido descritas como agentes antimicrobianos por inibirem crescimento e germinação e induzirem a morte de células fúngicas. Essas proteínas têm se mostrado como importante alternativas para o combate de infecções causadas por leveduras, sendo o maior número de estudos realizados frente a espécies do gênero *Candida*. Atualmente, constitui um desafio para os pesquisadores a realização de mais estudos visando a avaliação das atividades em modelos *in vivo*. A disseminação da resistência a antifúngicos torna urgente o desenvolvimento de alternativas para uso nas terapias contra infecções causadas por esses microrganismos.

ABSTRACT: Many yeast species are normal components of the human microbiota. However, in certain circumstances such as weakened immune systems, some species of *Candida*, *Cryptococcus*, and *Trichosporon* can cause diseases. Candidiasis is the most important cause of opportunistic ringworm worldwide and the main cause of nosocomial infection in the bloodstream. Cryptococcosis affects humans and several animals and, although the lung is the most common site of entry of the pathogen into the body, meningoencephalitis is the most common clinical manifestation of this infection. Trichosporonosis is another opportunistic infection,

with mortality rates from 42% to 90%, being reported as the second most common fungal infection in patients with malignant hematological diseases. Resistance to commercial antifungals has been one of the causes for the increase in mortality caused by invasive fungal infections. In this scenario, the search for new antimicrobial agents that can serve as alternatives is growing. Lectins (proteins that bind to carbohydrates) have been described as antimicrobial agents because they can inhibit growth and germination and induce the death of fungal cells. These proteins have been shown to be important alternatives to fight infections caused by yeasts, with the largest number of studies carried out against species of the genus *Candida*. Currently, it is a challenge for researchers to carry out more studies aimed at evaluating activities using *in vivo* models. The spread of antifungal resistance makes it urgent to develop alternatives for use in therapies against infections caused by these microorganisms.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos constituem um grupo de organismos que se caracterizam por serem eucarióticos, saprófitos ou parasitários. São produtores de esporos e podem se reproduzir de forma sexuada ou assexuada. A reprodução assexuada ocorre por brotamento, fragmentação ou produção de esporos, enquanto a reprodução sexuada ocorre através da meiose e da fusão, originando núcleos diploides e promovendo a variação genética na população dos fungos (TAN; HSU, 2018). Tanto a quitina quanto a quitosana são dois polissacarídeos que estão frequentemente incorporados na estrutura da parede celular, ancorando outros componentes na superfície da célula fúngica (BROWN *et al.*, 2020).

Há duas principais formas nas quais os fungos podem se apresentar: leveduras e bolores. Podem também se apresentar de forma dimórfica, ou seja, variarem sua morfologia de acordo com fatores ambientais (CARMONA; LIMPER, 2018). As leveduras são unicelulares e se reproduzem por brotamento, enquanto os bolores formam hifas multicelulares e podem crescer por extensão apical (TAN; HSU, 2018).

As leveduras podem pertencer aos grupos dos ascomicetos (*Saccharomyces* e *Candida*, por exemplo) ou basidiomicetos (por exemplo, *Cryptococcus*, *Malassezia* e *Trichosporon*). Dentre 150.000 espécies de fungos estimadas, aproximadamente 10% são leveduras (GUARRO, 2012). Muitas espécies de leveduras são componentes normais da microbiota humana. Algumas leveduras, porém, são consideradas patógenos oportunistas porque podem causar doenças em determinadas circunstâncias, como enfraquecimento do sistema imunológico.

Segundo Kameswaran e Raghunandhan (2009), de acordo com o local de infecção, as micoses podem ser superficiais, cutâneas, subcutâneas ou sistêmicas (profundas). O ônus causado pelas infecções invasivas por fungos em pacientes nos sistemas de saúde é difícil de mensurar; entretanto, é bem reconhecido que este tipo de infecção está associado a altas taxas de morbimortalidade e custos elevados de assistência médica. Nas últimas décadas, foi observada uma maior prevalência destas infecções devido ao crescente tamanho da população de indivíduos imunocomprometidos, que inclui pessoas vivendo com o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), receptores de transplante e pacientes com câncer (CASTANHEIRA *et al.*, 2017).

A resistência aos antifúngicos comerciais também tem sido uma das causas

para o aumento da mortalidade causada por infecções fúngicas invasivas. Essa resistência pode ser primária (intrínseca) ou secundária (adquirida). A resistência primária ocorre sem exposição prévia ao medicamento. A resistência secundária é gerada após a exposição a um antifúngico e pode estar associada a uma expressão gênica alterada (MAYR; LASS-FLÖRL, 2011).

Os fármacos utilizados atualmente também podem ter seu uso limitado devido a sua toxicidade, como é o caso por exemplo, dos polienos (as formulações de anfotericina B). Os polienos existentes estão disponíveis apenas por via intravenosa (GUBBINS; HELDENBRAND, 2009). Seus efeitos adversos estão relacionados à nefrotoxicidade, limitadora de dose, o que leva à busca contínua de alternativas igualmente eficazes, mas menos tóxicas que poderiam ser administrado tanto por via intravenosa quanto oral (LEWIS, 2011). Nesse cenário, é crescente a busca por novos agentes antimicrobianos que possam servir como alternativas aos antifúngicos atualmente disponíveis.

2. LEVEDURAS PATOGÊNICAS

Nesse tópico, apresentaremos informações sobre três gêneros de leveduras para os quais tem sido descrita atividade antifúngica de lectinas.

2.1. *Candida*

A candidíase é uma infecção causada por fungos do gênero *Candida*, a qual continua sendo a causa mais importante de micose oportunista em todo o mundo e a principal causa de infecção nosocomial na corrente sanguínea (NUCCI *et al.*, 2010). As candidemias são infecções sistêmicas causadas por diferentes espécies de *Candida*, que são responsáveis por 80% dos casos de infecções nosocomiais causadas por fungos. Entretanto, nem todas as espécies desse gênero são responsáveis por causar infecção em humanos. Leveduras do gênero *Candida* são comensais e naturalmente fazem parte da microbiota na mucosa oral, trato gastrointestinal e trato gênito-urinário. O gênero *Candida* inclui cerca de 150 espécies, sendo mais de 17 espécies conhecidas por serem agentes etiológicos de infecção humana; no entanto, mais de 90% das infecções invasivas são causadas por *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* (MORIS *et al.*, 2008; SARDI *et al.*, 2013).

A parede celular de *Candida* é composta em sua região externa por glicoproteínas altamente manosiladas (GOW *et al.*, 2017). *C. albicans* é um

comensal e um patógeno que pode exibir morfologia de leveduras, hifas ou pseudo-hifas. Estas transições morfológicas promovem colonização e invasão em diferentes locais anatômicos e também ocorrem em outras espécies de *Candida*. A forma de levedura está associada à disseminação e a forma hifal à adesão, invasão tecidual e atividade proteolítica (ACHKA; FRIES, 2010). A capacidade de produzir hifas verdadeiras é uma relevante característica em termos de epidemiologia e virulência, encontrada em *C. albicans*, *Candida dubliniensis* e *C. tropicalis* (ZUZA-ALVES, 2017).

Candida pode crescer associada a superfícies, incorporadas em uma matriz extracelular composta de carboidratos e proteínas, que se caracteriza como biofilme. Os biofilmes se formam rapidamente em superfícies, como cateteres e dispositivos intrauterinos, tornando-se resistentes a agentes antifúngicos, especialmente azóis. Biofilmes também podem se formar nas superfícies mucosas e promover a persistência de infecção por fungos (ACHKA; FRIES, 2010). *C. albicans* apresenta uma capacidade de infectar variados nichos no hospedeiro, característica que se deve a uma ampla gama de fatores de virulência. Dentre eles se inclui as transições morfológicas já mencionadas, a formação de biofilmes, a expressão de adesinas e invasinas, trigmotropismo, troca fenotípica e secreção de enzimas hidrolíticas (MAYER *et al.*, 2013).

Em uma pesquisa realizada em um hospital terciário brasileiro, foi avaliada a incidência de espécies de *Candida*, sendo observado que a espécie de *Candida* não-albicans mais incidente foi *C. glabrata* (37,62%), geralmente considerada uma espécie de baixa virulência, mas com uma taxa de mortalidade mais alta que *C. albicans*. *C. parapsilosis* (25,74%) e *C. tropicalis* (16,86%) foram a segunda e terceira espécies mais comumente isoladas (SAVASTANO *et al.*, 2016). *C. tropicalis* é particularmente relevante nas infecções do trato urinário, enquanto *C. parapsilosis* é frequentemente encontrada como agente causador de infecções relacionadas a cateteres (CAVALHEIRO, 2018).

Azóis e equinocandinas são drogas antifúngicas usadas globalmente para tratar infecções por *Candida* (PRISTOV; GHANNOUM, 2019). As equinocandinas têm seu sítio de ação na enzima glucana sintase, responsável pela biossíntese de polímeros da parede celular (PERLIN, 2015). Antifúngicos azólicos (como o fluconazol) atuam inibindo a síntese de ergosterol e são mais frequentemente utilizados para o tratamento, pois são baratos, exibem toxicidade limitada e

disponíveis para administração oral (WHALEY, 2017). A resistência de *Candida* a esses antifúngicos tem aumentado (PRISTOV; GHANNOUM, 2019) e será abordada em mais detalhes no tópico 3.

2.2 *Cryptococcus*

Cryptococcus é um gênero de fungos basidiomicetos com mais de 30 espécies amplamente distribuídas. São leveduras com cápsulas polissacarídicas, sapróbias no ambiente, sendo isoladas principalmente de excreta de aves e vegetais em decomposição (PESSOA *et al.*, 2012; MAZIARZ; PERFECT, 2016). São causadores da criptococose, uma importante infecção fúngica que afeta humanos e diversos animais, tais como mamíferos, pássaros, répteis e invertebrados. A meningite criptococócica causa 15% das mortes relacionadas à AIDS em todo mundo (RAJASINGHAM *et al.*, 2017).

Duas espécies são comumente conhecidas por causarem doenças em seres humanos: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. Historicamente, o gênero foi classificado em 3 variedades, 5 sorotipos (baseados em diferenças estruturais na cápsula de polissacarídeo) e 8 subtipos moleculares (MAZIARZ; PERFECT, 2016). *C. neoformans* dos sorotipos A e D infectam principalmente hospedeiros imunocomprometidos. Entretanto, *C. gattii* infecta tanto imunocomprometidos quanto imunocompetentes. Os sorotipos A, D e AD são geralmente encontrados em todo o mundo, enquanto o *C. gattii* é encontrado principalmente em regiões tropicais e subtropicais. As infecções do sorotipo tipo D são mais encontradas na Europa Ocidental (JONES *et al.*, 2017). Entretanto, há relatos de prevalência de *Cryptococcus* até mesmo em regiões subpolares (BUZZINI *et al.*, 2017).

A parede celular de patógenos do gênero *Cryptococcus* é composta por uma camada rica em quitina próxima à membrana, cercada por uma rede de polissacarídeos compostas por β -1,3- e β -1,6-glucanas, xilomananas e galactomananas (JONES *et al.*, 2017). A cápsula polissacarídica de *Cryptococcus* é um dos mais importantes fatores de virulência, sendo formada por repetições de dois polissacarídeos, glucuronoxilomanano e glucuronoxilomanogalactano e pode incluir manoproteínas, ácido hialurônico e ácido siálico (CASADEVALL *et al.*, 2019). Outros atributos de virulência bem caracterizados são a capacidade de crescer na temperatura corporal dos mamíferos e a produção de melanina, urease e fosfolipase B (ESHER *et al.*, 2018). A melanina desempenha um importante papel protetor papel contra o estresse ambiental (EISENMAN; CASADEVALL, 2011). Já a função da

urease, bem como da fosfolipase B, está associada à desestabilização de membranas, lise celular, liberação de segundos mensageiros lipídicos (COX *et al.*, 2001) e disseminação de fungos do pulmão para o cérebro (SHI *et al.*, 2010).

A infecção por *Cryptococcus* ocorre através da inalação da levedura, sendo o pulmão o principal local da infecção. Apesar do pulmão ser o local comum de entrada do patógeno no corpo, a meningoencefalite é a manifestação clínica mais comum de infecção. As características clínicas da meningite criptocócica geralmente se manifestam em 1 a 2 semanas e incluem febre, mal-estar, cefaleia, rigidez da nuca, fotofobia, náuseas e vômitos (MADA *et al.*, 2020). A anfotericina B tem sido a base do tratamento da meningite criptocócica. O uso de um regime à base de polieno foi associado à redução significativa da carga de levedura no sistema nervoso central e está correlacionado a uma melhor sobrevida (MOURAD; PERFECT, 2018). A flucitosina tem seu efeito apenas sobre as células fúngicas, não havendo ação nas células de mamíferos. Porém, seu uso não é recomendado como monoterapia sendo utilizado normalmente com outro antifúngico como a anfotericina B. Ainda, este medicamento depende fortemente da função renal de um indivíduo, pois não sofre metabolismo no corpo e, em 24 h, 85 a 95% da flucitosina é excretada na urina sem alterar sua forma original (PADDA; PARMAR, 2020). A resistência de *Cryptococcus* a antifúngicos será abordada no tópico 3.

2.3. *Trichosporon*

Trichosporon spp. são organismos anamórficos basidiomicetos semelhantes a leveduras, com capacidade de crescimento filamentosos, sendo, portanto, dimórficos (MARINÉ *et al.*, 2015). Sua distribuição geográfica é bem variada sendo encontrados tanto em áreas tropicais quanto em áreas temperadas. Podem colonizar seres humanos em diferentes regiões do corpo, incluindo o trato gastrointestinal, cavidade oral, trato respiratório, pele e vagina. Recentemente, baseado em múltiplas análises sequenciais de genes, a taxonomia de *Trichosporon* foi reavaliada e novos gêneros foram propostos para os clados monofiléticos, que incluem *Trichosporon*, *Cutaneotrichosporon* e *Apiotrichum* (ALMEIDA-JUNIOR *et al.*, 2017).

Cinquenta espécies de *Trichosporon* foram descritas em diferentes regiões do globo, incluindo 16 espécies com relevância clínica (COLOMBO *et al.*, 2011). *Trichosporon* é considerado uma importante causa de vários tipos de infecções incluindo piedra branca e onicomicose, podendo também causar infecções

profundas, associadas à mucosa (BENTUBO *et al.*, 2014). Tricosporonose é o nome atribuído à forma invasiva das doenças causadas por *Trichosporon*spp., sendo uma infecção oportunista e com taxas de mortalidade de 42% a 90%, apesar da terapia antifúngica. Foi relatada como a segunda infecção mais comum por fungemia, excetuando-se aquelas causadas por *Candida*, em pacientes com doenças hematológicas malignas (MICELI *et al.*, 2011). Micoses emergentes também podem ser causadas por *Trichosporon*, documentadas em pacientes com neoplasias hematológicas ou outras condições associadas à imunossupressão (TAVERNA *et al.*, 2014).

O perfil de susceptibilidade de *Trichosporon* spp. é capaz de variar de acordo com a espécie sendo importante para fins epidemiológicos, a fim de definir melhor a associação clínica de espécies melhorando o tratamento antifúngico (TAVERNA *et al.*, 2014). *Trichosporon asahii* possui uma capacidade de invadir a pele e outros tecidos que requer diversas características de virulência, que inclui a transição de levedura para hifa, formação de biofilme, atividade de lipases e proteases e a composição dinâmica da parede celular (DUARTE-OLIVEIRA *et al.*, 2017).

3. RESISTÊNCIA A ANTIFÚNGICOS

A terapia antifúngica é um componente central no tratamento de pacientes com micoses agudas e crônicas. Entretanto, devido ao número escasso de classes de medicamentos antifúngicos, as opções de tratamento são restritas (COWEN *et al.*, 2015). Além disso, a resistência antifúngica está se tornando uma grande preocupação, reduzindo as possibilidades de tratamento, principalmente no contexto da necessidade de assistência a pacientes de alto risco com micoses invasivas (WIEDERHOLD, 2017).

A resistência a medicamentos pode ser classificada como microbiológica ou clínica. A resistência microbiológica é identificada através da determinação de concentrações inibitórias mínimas (CIM) *in vitro* para um determinado antifúngico e interpretação desse valor de acordo com os pontos de corte clínicos (MORIO *et al.*, 2017). Já a resistência clínica refere-se à persistência de uma infecção fúngica, mesmo com o tratamento. Embora a resistência microbiológica possa contribuir para o desenvolvimento da resistência clínica, outros fatores também podem estar envolvidos, como função imunológica comprometida, doença subjacente, biodisponibilidade reduzida do medicamento e aumento do metabolismo do

medicamento (SANGUINETTI *et al.*, 2015). O aumento da resistência antifúngica pode ser devido ao uso de terapias seletivas com doses inadequadas ou ao uso frequente do mesmo medicamento na profilaxia de infecções fúngicas em humanos e animais (KONTOYIANNIS, 2017).

Vários são os mecanismos de resistência de *Candida* contra azóis e variam desde a ativação de bombas de efluxo capazes de promover a exocitose do fármaco, bem como alteração ou diminuição da expressão de proteínas-alvo. Em relação às equinocandinas, os mecanismos de resistência baseiam-se na ocorrência de mutações pontuais adquiridas nos genes que codificam as glucana sintases, levando a uma diminuição da sensibilidade ao fármaco (VIEIRA; NASCIMENTO, 2017).

Numa avaliação realizada por Bongomin *et al.* (2018) acerca da resistência de *Cryptococcus* spp. em estudos de 1988 a maio de 2017, foi observada uma prevalência média de resistência ao fluconazol de 12,1%. Também observou-se que cepas de *C. neoformans* e *C. gattii* que apresentaram resistência a antifúngicos apresentaram uma superexpressão de genes responsáveis pela bomba de efluxo. O mecanismo de resistência de *Cryptococcus* a fluconazol ainda não foi totalmente elucidado (ZAFAR *et al.*, 2019).

Estudos afirmam que o tratamento antifúngico das doenças de pele associadas a *Malassezia* não é clinicamente eficaz em até um terço dos pacientes (SAMAREI *et al.*, 2017). Leong *et al.* (2017) testaram a susceptibilidade de 52 cepas de 13 espécies de *Malassezia* a 11 antifúngicos comumente utilizados. Os menores valores de CIM foram encontrados para os azóis itraconazol, posaconazol e voriconazol e todas foram resistentes a equinocandinas e griseofulvina. Algumas espécies também apresentaram altos valores de CIM para cetoconazol, que é um antifúngico tópico amplamente recomendado para infecções cutâneas por *Malassezia*. O manejo terapêutico de infecções causadas por *Trichosporon* também é desafiador, uma vez que espécies desse gênero exibem uma resistência intrínseca às equinocandinas e uma baixa suscetibilidade aos polienos (ALMEIDA-JUNIOR; HENNEQUIN, 2016). Além disso, as espécies de *Trichosporon* podem mostrar suscetibilidade limitada à anfotericina B e fluconazol (SANTOS *et al.*, 2016).

4. ATIVIDADE DE LECTINAS CONTRA LEVEDURAS

As lectinas são proteínas amplamente distribuídas na natureza que

apresentam pelo menos um domínio capaz de reconhecer e se ligar a carboidratos ou glicoconjugados com alta especificidade e de forma reversível (DIAS *et al.*, 2015). Desempenham na natureza papéis nos fenômenos de reconhecimento biológico e podem proteger plantas e animais contra patógenos (BUUL; BROUNS, 2014). As lectinas estão envolvidas no reconhecimento entre células, proliferação celular, migração celular, adesão à matriz extracelular e interações parasita-hospedeiro. Têm sido relatadas diversas atividades biológicas das lectinas, tais como inseticida (NAPOLEÃO *et al.*, 2019), antimicrobiana (EL-ARABY *et al.*, 2020), antiviral (SUBRAMANIAM *et al.*, 2020) e antitumoral (RAMOS *et al.*, 2019).

A ação antimicrobiana das lectinas inclui bloqueio de invasão e infecção, inibição de crescimento e germinação, regulação de adesão e migração de células microbianas, e indução da morte da célula microbiana. A morte de células microbianas por lectinas pode envolver a formação de poros, seguida por alterações na permeabilidade celular, e também interações com os componentes da parede celular, tais como a quitina (COELHO *et al.*, 2018). A Tabela 1 apresenta lectinas que apresentaram atividade antifúngica contra leveduras.

Silva *et al.* (2018) relataram que a lectina da sarcotesta de *Punica granatum* (PgTeL) apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de *C. albicans* e *C. krusei*, com CIM de 25 e 12,5 µg/mL, respectivamente, e causou morte das células com concentração mínima fungicida (CMF) de 50 e 12,5 µg/mL, respectivamente. Além disso, o tratamento dessas leveduras com essa lectina resultou em diminuição do conteúdo intracelular de ATP e induziu a peroxidação lipídica. PgTeL também foi capaz de danificar a integridade da parede celular fúngica de ambas as espécies. Uma lectina oriunda de folíolos de *Calliandra surinamensis*, denominada CasuL, foi avaliada contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Essa lectina foi ativa apenas contra *C. krusei*, apresentando valores de CIM e CMF de 125 e 250 µg/mL, respectivamente. CasuL promoveu alterações drásticas na morfologia dessa levedura, com retração do conteúdo citoplasmático e ruptura celular (PROCÓPIO *et al.*, 2017). Silva *et al.* (2019) isolaram uma lectina de raízes de *Portulaca elatior* (PeRoL), que apresentou atividade antifúngica contra *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis* com CIM de 16 µg/mL. Recentemente, Santos *et al.* (2021) descreveram os efeitos da lectina solúvel em água de sementes de *Moringa oleifera* (WSMoL) no crescimento e sobrevivência de espécies de *Candida*. WSMoL inibiu o crescimento de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* com CMI de 20

µg/mL. Menor valor de CMF (20 µg/mL) foi detectado para *C. glabrata* e o mais alto (80 µg/mL) para *C. albicans* e *C. parapsilosis*. Essa lectina induziu apoptose e necrose nas células fúngicas e causou hiperpolarização da membrana mitocondrial.

Também foram avaliadas as atividades das lectinas DvioL, DRL e ConBr, obtidas das sementes das plantas leguminosas *Dioclea violacea*, *Dioclea rostrata* e *Canavalia brasiliensis*, frente a leveduras dos gêneros *Candida* e *Trichosporon* isoladas de secreções vaginais. A lectina DRL mostrou atividade antifúngica contra *Candida guilliermondii* (CIM: 128 µg/mL), *Candida shehatae* (CIM: 4 µg/mL) e *Candida membranaefaciens* (CIM: 64 µg/mL). DvioL mostrou atividade antifúngica em onze cepas do gênero *Candida*, com CMI variando de 8 a 256 µg/mL. A ConBr apresentou atividade antifúngica contra oito isolados do gênero *Candida*, e *Trichosporon cutaneum* CIM entre 2 e 256 µg/mL (GOMES *et al.*, 2012).

Tabela 1. Lectinas com ação antifúngica sobre espécies de três gêneros de leveduras.

Gênero	Lectinas	
	Nome	Fonte
<i>Candida</i>	ApuL	Inflorescência de <i>Alpinia purpurata</i>
	BVL	Semente de <i>Bauhinia variegata</i>
	C-25	Semente de <i>Cicer arietinum</i>
	CasuL	Folíolo de <i>Calliandra surinamensis</i>
	CFAL	Semente de <i>Clitoria fairchildiana</i>
	ConBr	Semente de <i>Canavalia brasiliensis</i>
	ConBr II	Semente de <i>Canavalia brasiliensis</i>
	DdeL	Semente de <i>Dypsis decaryi</i>
	DRL	Semente de <i>Dioclea rostrata</i>
	DvioL	Semente de <i>Dioclea violacea</i>
	DVL	Semente de <i>Dioclea virgata</i>
	Helja	Semente de <i>Helianthus annuus</i>
	PeRoL	Raiz de <i>Portulaca elatior</i>
	PgTeL	Sarcotesta de <i>Punica granatum</i>
	SteLL	Folha de <i>Schinus terebinthifolia</i>
	WSMoL	Semente de <i>Moringa oleifera</i>
----	Semente de <i>Archidendron jiringa</i>	
----	Hemolinfa de <i>Portunus pelagicus</i>	
<i>Cryptococcus</i>	Citovirina	Cianobactérias
	WGA	Gérmen de trigo
<i>Trichosporon</i>	ConBr	Semente de <i>Canavalia brasiliensis</i>

Klafke *et al.* (2013) estudaram a ação de seis diferentes lectinas oriundas de plantas sobre oito espécies de leveduras. Essas lectinas foram extraídas de folhas de *Abelmoschus esculentus*, sementes de *Canavalia brasiliensis*, *Mucuna pruriens*, *Clitoria fairchildiana*, *Dioclea virgata* e *Bauhinia variegata*. Atividade inibitória foi observada apenas para *C. parapsilosis* com CIM entre 0,97 a 125 µg/mL e CMF de 3,9 a 500 µg/mL.

Charungchitrak *et al.* (2010) avaliaram a atividade antimicrobiana da lectina de sementes de *Archidendron jiringa* contra *C. albicans* obtendo uma CIM de 0,0567 mg/mL. Del Rio *et al.* (2019) avaliaram a ação da lectina de *Helianthus annuus*, denominada Helja, contra *C. albicans*, explorando também sua capacidade de inibir a produção de biofilme. Foi detectada uma redução de 82% na viabilidade celular e de 80% na formação de biofilme. As inflorescências de *Alpinia purpurata* contêm uma lectina (ApuL) que foi avaliada contra *C. albicans* e *C. parapsilosis*, apresentando CIM de 200 e 400 µg/mL, respectivamente (FERREIRA *et al.*, 2018). Gomes *et al.* (2013) avaliaram a ação da lectina de folha de *Schinus terebinthifolia* (SteLL) contra *C. albicans* encontrando uma CIM de 6,5 µg/mL e uma CMF de 26 µg/mL. Lectinas de sementes de *Cicer arietinum* (C-25) foram avaliadas contra *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, apresentando valores de CIM entre 1,56 e 12,5 µg/mL. Após 30 min de incubação com C-25, foi observada a ruptura da parede celular e o vazamento citoplasmático (KUMAR *et al.*, 2014). Torres *et al.* (2019) avaliaram a atividade antimicrobiana de sementes de *Dyopsis decaryi*, denominada DdeL, contra *Candida albicans*, detectando uma CIM de 2,06 µg/mL.

Fonseca *et al.* (2013) avaliaram os efeitos do bloqueio do principal componente capsular do *Cryptococcus neoformans*, o quitooligômero glucuronoxilomanano, pela lectina de gérmen de trigo (WGA). O estudo sugeriu que as células de leveduras tratadas com WGA tiveram um atraso de 3 a 5 dias na promoção dos sintomas da criptococose, quando comparado ao controle. Também observou-se que o tratamento com WGA foi associado com uma deficiência severa na capacidade das células de levedura colonizarem o cérebro dos animais, sugerindo que as estruturas bloqueadas pela WGA possam estar envolvidas na disseminação desses fungos. Além disso, as determinações visuais e quantitativas demonstraram que WGA causou uma clara inibição na formação da cápsula.

Lectinas extraídas de outros organismos diferentes de plantas também apresentaram atividade antifúngica. Jayanthi *et al.* (2017) demonstraram a atividade

antibiofilme contra *C. albicans* de uma lectina purificada a partir da hemolinfa do caranguejo nadador (*Portunus pelagicus*) revestida com nanopartículas de prata metálica. Jones et al. (2017) avaliaram uma lectina extraída de cianobactérias denominada citovirina, a qual se mostrou eficaz contra *C. neoformans* sorotipos A e D (com valores de CMF de 1 mM para o sorotipo D e entre 50 e 20 mM para o sorotipo A) e *C. gattii* (CMF de 500 nM). Também observou-se que para o sorotipo D, a citovirina inibiu a liberação de polissacarídeos capsulares.

6. CONCLUSÃO

Lectinas têm se mostrado como importantes alternativas para o combate de infecções causadas por leveduras, sendo o maior número de estudos realizados frente a espécies do gênero *Candida*. Atualmente, constitui um desafio para os pesquisadores a realização de mais estudos visando a avaliação das atividades em modelos *in vivo*. A disseminação da resistência a antifúngicos tem aumentado nas últimas décadas o que torna mais urgente o desenvolvimento de alternativas para uso nas terapias contra infecções causadas por esses microrganismos.

AGRADECIMENTOS

Leilane Santos agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES - Código de Financiamento 001) pela concessão de bolsa de Doutorado. Thiago Napoleão agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de produtividade em pesquisa (309701/2019-8).

REFERÊNCIAS

- ACHKA, J. M., FRIES, B. C. *Candida* infections of the genitourinary tract. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 2, p. 253–273, 2010.
- ALMEIDA-JUNIOR, J. N. et al. Evaluating and improving Vitek MS for identification of clinically relevant species of *Trichosporon* and the closely related genera *Cutaneotrichosporon* and *Apiotrichum*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55 n. 8, p. 2439-2444, 2017.
- ALMEIDA-JUNIOR, J. N.; HENNEQUIN, C. Invasive *Trichosporon* infection: a systematic review on a re-emerging fungal pathogen. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, artigo 1629, 2016.
- BENTUBO, H. D. L.; GOMPERTZ, O. F. Effects of temperature and incubation time on the in vitro expression of proteases, phospholipases, lipases and DNases by different species of *Trichosporon*. **SpringerPlus**, v. 3, artigo 377, 2014.
- BONGOMIN, F. et al. A systematic review of fluconazole resistance in clinical isolates of *Cryptococcus* species. **Mycoses**, v. 61, n. 5, p. 290–297, 2018.
- BROWN H. E. ; ESHER, S. K. ; ALSPAUGH, J. A. Chitin: a “hidden figure” in the fungal cell wall. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 425, p. 83-111, 2020.
- BUUL, V. J.; BROUNS F. J. P. H.. Health effects of wheat lectins: a review. **Journal of Cereal Science**, v. 59, n. 2, p. 112-117, 2014.
- BUZZINI, P. et al. Yeasts in polar and subpolar habitats. In: BUZZINI, P.; LACHANCE, M. A.; YURKOV, A. **Yeasts in Natural Ecosystems: Diversity**. Springer International Publishing, 2017, p. 331–365.
- CARMONA, E. M.; LIMPER, A. H. Overview of treatment approaches for fungal infections **Clinics in Chest Medicine** v. 38, n. 3, p. 393-402, 2017.
- CASADEVALL, A. et al. The capsule of *Cryptococcus Neoformans*. **Virulence**, v. 10, n. 1, p. 822-831, 2019.
- CASTANHEIRA, M., et al. Monitoring antifungal resistance in a global collection of invasive yeasts and molds: Application of CLSI epidemiological cutoff values and whole-genome sequencing analysis for detection of azole resistance in *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, artigo e00906-17, 2017.
- CAVALHEIRO, M.; TEIXEIRA M. C. *Candida* biofilms: threats, challenges, and promising strategies. **Frontiers in Medicine**, v. 5, artigo 28, 2018.
- CHARUNGCHITRAK, S. et al. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendronjiringa* Nielsen. **Food Chemistry** v. 126, n. 3, p. 1025–1032, 2011.
- COELHO, L. C. B. B. et al. Lectins as antimicrobial agents. **Journal of Applied Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 524–535, 2018.
- COLOMBO, A. L.; PADOVAN, A. C. B.; CHAVES, G. M. Current knowledge of *Trichosporon* spp. and trichosporonosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 682–700, 2011.
- COWEN, L. E. et al. Mechanisms of antifungal drug resistance. **Cold Spring Harb Perspect**

Medicine, v. 5, artigo a019752, 2015.

COX, G. M. et al. Extracellular phospholipase activity is a virulence factor for *Cryptococcus neoformans*. **Molecular Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 166-175, 2001.

DEL-RIO, M. et al. Effects of the binding of a *Helianthus annuus* lectin to *Candida albicans* cell wall on biofilm development and adhesion to host cells. **Phytomedicine**, v. 58, artigo 152875, 2019.

DIAS, R. O. et al. Insights into animal and plant lectins with antimicrobial activities. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 519-541, 2015.

DUARTE-OLIVEIRA, C. et al. The cell biology of the *Trichosporon*-host interaction. **Frontiers in Cellular Infection Microbiology**, v. 7, artigo 118, 2017.

EISENMAN, H. C.; CASADEVALL, A. Synthesis and assembly of fungal melanin. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 93, n.3, p. 931–940, 2012.

EL-ARABY, M. M. et al. Characterization and antimicrobial activity of lectins purified from three Egyptian leguminous seeds. **AMB Express**, v. 10, artigo 90, 2020.

ESHER, S. K.; ZARAGOZA, O.; ALSPAUGH, J. A. Cryptococcal pathogenic mechanisms: a dangerous trip from the environment to the brain. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, artigo e180057, 2018.

FERREIRA, G. R. S. et al. Antimicrobial potential of *Alpinia purpurata* lectin (ApuL): Growth inhibitory action, synergistic effects in combination with antibiotics, and antibiofilm activity. **Microbial Pathogenesis**, v. 124, p. 152–162, 2018.

FONSECA, F. L. et al. Binding of the wheat germ lectin to *Cryptococcus neoformans* chitooligomers affects multiple mechanisms required for fungal pathogenesis. *Fungal Genetics and Biology*, v. 60, p. 64–73, 2013.

GOMES, B. S. et al. Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 770-778, 2012.

GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, p. 672-679, 2013.

GOW, N. A. R.; LATGE, J. P.; MUNRO, C. A. The fungal cell wall: structure, biosynthesis, and function. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 3, artigo FUNK-0035-2016, 2017.

GUARRO, J. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 30, n. 1, p. 33–39, 2012.

GUBBINS, P. O.; HELDENBRAND, S. Clinically relevant drug interactions of current antifungal agents. **Mycoses** v. 53, n. 2, p. 95–113, 2010.

JAYANTHI, S. et al. Growth inhibition and antibiofilm potential of Ag nanoparticles coated with lectin, an invertebrate immune molecule. **Journal of Photochemistry & Photobiology**, v. 170, p. 208-216, 2017.

JONES, T. H. et al. Novel antifungal activity for the lectin scytovirin: inhibition of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, artigo 755, 2017.

KAMESWARAN, M., RAGHUNANDHAN, S. Saprophytic mycotic infections of the nose and paranasal sinuses. **Otorhinolaryngology Clinics: An International Journal**, v. 1, n. 1, p. 25-31, 2009.

KLAFKE, G. B. et al. Assessment of plant lectin antifungal potential against yeasts of major importance in Medical Mycology. **Mycopathologia**, v. 175, p. 147-151, 2013.

KONTOYIANNIS, D. P. Antifungal resistance: an emerging reality and a global challenge. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 216 n. 3, p. 431–435, 2017.

KUMAR, S. et al. Antifungal and antiproliferative protein from *Cicer arietinum*: a bioactive compound against emerging pathogens. **BioMed Research International**, v. 2014, artigo 387203, 2014.

LEONG, C. et al. Antifungal susceptibility testing of *Malassezia* spp. with an optimized colorimetric broth microdilution method. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 1883-1893, 2017.

LEWIS, R. E. Current concepts in antifungal pharmacology. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 86 n. 8, p. 805-817, 2011.

MADA P. K.; JAMIL, R. T.; ALAM, M. U. **Cryptococcus (Cryptococcosis)**. In: StatPearls, StatPearls Publishing, Treasure Island, 2020.

MARINÉ M. et al. On and under the skin: emerging basidiomycetous yeast infections caused by *Trichosporon* species. **PLoS Pathogens**, v. 11, e1004982, 2015.

MAYER, F. L., DUNCAN W.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119–128, 2013.

MAYR, A.; LASS-FLÖRL, C. Epidemiology and antifungal resistance in invasive aspergillosis according to primary disease - review of the literature. **European Journal of Medical Research**, v. 16, n. 4, p. 153-157, 2011.

MAZIARZ, E. K.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 179–206, 2016.

MICELI, M. H.; DÍAZ, J. A.; LEE, S. A. Emerging opportunistic yeast infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 142–151, 2011.

MORIO, F. et al. Molecular basis of antifungal drug resistance in yeasts. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 5, p. 599-606, 2017.

MORIS, D. V. et al. Oral *Candida* spp. Colonization in human immunodeficiency virus-infected individuals. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 14, n. 2, p. 224-257, 2008.

MOURAD, A.; PERFECT, J. R. The war on cryptococcosis: a review of the antifungal arsenal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 7, artigo e170391, 2018.

NAPOLEÃO, T.H. et al. Insect midgut structures and molecules as targets of plant-derived protease inhibitors and lectins **Pest Management Science**, v. 75, p. 1212-1222, 2019.

NUCCI, M. et al. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. **Clinical**

Infectious Diseases, v. 51. n. 5, p. 561-570, 2010.

PADDA I. S.; PARMAR, M. **Flucytosine**. In: StatPearls, StatPearls Publishing, Treasure Island, 2020.

PERLIN, D. S.. Echinocandin resistance in *Candida*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 616, n. 6, p. 612–617, 2015.

PESSOA, C. C. B.; GOMES, F. S.; SILVA, S. H. M. Produção de fatores de virulência in vitro por isolados de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* de origem clínica em Belém, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 59-65, 2012.

PRISTOV, K E., GHANNOUM, M. A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 7 p. 792-798, 2019.

PROCÓPIO, T. F. et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandrasurinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 98, p. 419–429, 2017.

RAJASINGHAM, R. et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 8, p. 873-881, 2017.

RAMOS, D. B. M. et al. Evaluation of antitumor activity and toxicity of *Schinusterebinthifolia* leaf extract and lectin (StELL) in sarcoma 180-bearing mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, n. 6, p. 148-157, 2019.

SADAMOTO, S. et al. Histopathological study on the prevalence of trichosporonosis in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue autopsy sections by in situ hybridization with peptide nucleic acid probe. **Medical Mycology**, v. 58, n. 4, p. 460–468, 2020.

SAMAREI, R.; GHAREBAGHI, N.; ZAYER, S. Evaluation of 30 cases of mucormycosis at a university hospital in Iran. **Mycoses**, v. 60, n. 7, p. 426-432, 2017.

SANGUINETTI, M.; POSTERARO, B.; LASS-FLORL, B. C. Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. **Mycoses**, v. 58, n. 2, p. 2–13, 2015.

SANTOS, C. O. et al. Emerging pan-resistance in *Trichosporon* species: a case report. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, artigo 148, 2016.

SANTOS, L. M. M. et al. Anti-*Candida* activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). **Journal de Mycologie Médicale**, artigo 101074, doi: 10.1016/j.mycmed.2020.101074, 2021.

SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10–24, 2013.

SAVASTANO, C. et al. *Candida glabrata* among *Candida* spp. from environmental health practitioners of a Brazilian Hospital. Savastano. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 367–372, 2016.

SHI, M. et al. Real-time imaging of trapping and urease-dependent transmigration of *Cryptococcus neoformans* in mouse brain. **Journal Clinical Investigation**, v. 120, n. 5, p.

1683–1693, 2010.

SILVA, J. D. F. et al. *Portulaca elatior* root contains a trehalose-binding lectin with antibacterial and antifungal activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 291-297, 2019.

SILVA, P. M. et al. PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.108 p. 391–400, 2018.

SUBRAMANIAM, G.; BATCHA A. T. M.; WADHWANI, A. In vitro antiviral activity of BanLec against herpes simplex viruses type 1 and 2. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 15, p. 11-18, 2020.

TAN, G. S. E.; HSU, L. Y. Overview of fungal infections. In: **Reference Module in Biomedical Sciences**, Elsevier, 2018, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.98320-X>

TAVERNA, C. G. et al. Molecular identification, genotyping, and antifungal susceptibility testing of clinically relevant *Trichosporon* species from Argentina. **Medical Mycology**, v. 52, n. 4, p. 356–366, 2014.

TORRES, M. E. L. M. et al. DdeL, a novel thermostable lectin from *Dypsisdecaryi* seeds: Biological properties. **Process Biochemistry**, v. 86, p. 169–176, 2019.

VIEIRA, F; NASCIMENTO, T. Resistência a fármacos antifúngicos por *Candida* e abordagem terapêutica. **Revista Portuguesa de Farmacoterapia**, v. 9, p. 161-168, 2017.

WHALEY, S. G. et al. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-albicans *Candida* species. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, artigo 2173, 2017.

WIEDERHOLD, N. P. Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. **Infection and Drug Resistance**, v. 29, n. 10, p. 249–259, 2017.

ZAFAR, H. et al. A titanic drug resistance threat in *Cryptococcus neoformans*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 52, p. 158–164, 2019.

ZUZA-ALVES D. L, SILVA-ROCHA, W. P.; CHAVES, G. M.. An update on *Candida tropicalis* based on basic and clinical approaches. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, artigo 1927, 2017.

CAPÍTULO 07

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *in vitro* DE EXTRATOS E INFUSÕES DE PLANTAS MEDICINAIS FRENTE À DERMATÓFITOS

Marília Cleide Tenório Gomes

Bióloga pela Universidade de Pernambuco

Cirurgiã-Dentista pela Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade de Pernambuco – Instituto de Ciências Biológicas (ICB)

Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Odontologia

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: eumariliatenorio@gmail.com

Bruno Severo Gomes

Professor associado da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Micologia

Endereço: Av. Ciências da Vida - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: bruno.severo@ufpe.br

RESUMO: Os fungos queratinofílicos denominados dermatófitos são responsáveis por promover infecções superficiais cutâneas. Os dermatófitos são agrupados em três gêneros, *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. As espécies antropofílicas, costumam causar infecções brandas e crônicas. A maioria dos fungos é resistente aos diversos agentes antibacterianos conhecidos e existem poucos antifúngicos específicos. O emprego desses antimicrobianos ainda é restrita pela toxicidade. Esse problema clínico estimulou intensas pesquisas voltadas para o desenvolvimento de agentes antimicrobianos alternativos. Assim, o uso de extratos vegetais de relevante resposta antimicrobiana pode adquirir significado nos tratamentos. O emprego das plantas pela medicina tem chamado a atenção de pesquisadores, no sentido de ser um campo promissor para o tratamento alternativo para fungos. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos e infusões das plantas medicinais, Camomila (*Matricaria recutita* L.), Erva-Doce (*Pimpinella anisum* L.), Hortelã (*Mentha piperita* L.) e Boldo-do-Chile (*Peumusboldus molina*) frente aos dermatófitos dos gêneros *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*. A pesquisa foi realizada através da infusão aquosa e as extrações alcoólicas etílicas e alcoólicas cereais dessas plantas. Os fungos utilizados foram repicados em meios testes contendo os extratos onde foram avaliados os crescimentos durante dez dias. Ao fim das análises foi comprovado o potencial antimicrobiano de todas as espécies sendo destacada a *Mentha piperita* L. e o *Peumusboldus molina* como os mais eficientes para a função fungistática frente a dermatófitos.

PALAVRAS-CHAVE: dermatófitos, antimicrobiano, plantas medicinais.

ABSTRACT: The keratinophilic fungi called dermatophytes are responsible for promoting superficial skin infections. Dermatophytes are classified into three genera, *Trichophyton*, *Microsporum* and *Epidermophyton*. Anthropophilic species usually cause mild and chronic infections. Most fungi are resistant to several known

antibacterial agents and there are few specific antifungals. The use of these antimicrobials is still restricted by toxicity. This clinical problem has stimulated intense research aimed at the development of alternative antimicrobial agents. Thus, the use of plant extracts with a relevant antimicrobial response can acquire significance in treatments. The use of plants by medicine has attracted the attention of researchers, in the sense of being a promising field for the alternative treatment for fungi. This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of extracts and infusions of medicinal plants, Chamomile (*Matricaria recutita* L.), Fennel (*Pimpinella anisum* L.), Mint (*Mentha piperita* L.) and Boldo-do-Chile (*Peumusboldus molina*) against dermatophytes of the genera *Epidermophyton*, *Microsporum* and *Trichophyton*. The research was carried out through the aqueous infusion and the alcoholic and alcoholic cereals extractions of these plants. The fungi used were grown in test media containing the extracts where growth was evaluated for ten days. At the end of the analyzes, the antimicrobial potential of all species was proven, with *Mentha piperita* L. and *Peumusboldus molina* being highlighted as the most efficient for fungistatic function against dermatophytes.

KEYWORDS: dermatophytes, antimicrobial, medicinal plants.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos que possuem grande capacidade de adaptação ao meio ambiente, sendo encontrados em vários ambientes. Alguns fazem parte da microbiota do homem e de outros animais, mantendo o equilíbrio da mesma, quando este equilíbrio é alterado, podem desencadear o surgimento de sintomas (CONANT *et al.*, 1971; RIPPON, 1990; LACAZ *et al.*, 2002; DEVI; KAUL, 2015; TAKAHASHI *et al.*, 2017).

As dermatofitoses são infecções fúngicas superficiais de tecidos queratinizados, causados por um grupo de fungos que recebem a denominação de dermatófitos. São representantes desse grupo os gêneros *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*. Os dermatófitos tem distribuição universal, entretanto a incidência das diferentes espécies e locais anatômicos da infecção pode ser influenciada por fatores geográficos, socioeconômicos e ambientais (PERREIRO *et al.*, 1996; GUPTA *et al.*, 1998; RUBIO *et al.*, 1999; SILVA *et al.*, 2018).

As plantas têm sido utilizadas há muito tempo para a manutenção da saúde, a qual constitui uma importante fonte de informação para a obtenção de uma variedade de drogas. O potencial das plantas como fonte de novas drogas ainda oferece grande campo de investigação, uma pequena porcentagem já foram analisadas e uma pequena fração avaliada quanto a sua atividade farmacológica o que ainda necessitam da comprovação de sua eficácia e segurança (RATES, 2001; COLVARD, 2005; LIMA *et al.*, 2006; JAMES *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Os extratos vegetais representam uma nova oportunidade para o desenvolvimento de novas medicações com espectro antimicrobiano, tendo em vista o grande aumento da resistência destes às drogas comumente utilizadas, onde por muitas vezes são administradas indiscriminadamente, o que reforça a necessidade da procura de novas alternativas terapêuticas.

Poucas são as pesquisas relacionadas à atividade antimicrobiana de capítulos florais de camomila (*Matricari arcutita* L.), frutos de erva-doce (*Pimpinella anisum*), folhas e ramos de hortelã (*Mentha piperita* L.) e folhas de boldo do Chile (*Peumusboldus molina*) frente aos dermatófitos. Tendo em vista a importância em saúde pública que as infecções causadas por dermatófitos vem assumindo, torna-se valioso o encontro de novas alternativas para seu tratamento.

2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS DERMATÓFITOS

Dermatófitos são agentes infecciosos que frequentemente acometem o ser humano e alguns animais não humanos e são fungos capazes de determinar infecções de pele, pelos e unhas conhecidas popularmente como tinhas. Esses fungos, em vida parasitária, utilizam a queratina da pele, dos pelos e das unhas como substrato (PEIXOTO *et al.*, 2010; BRONDANI *et al.*, 2016; SAHHO; MAHAJAN, 2016). Segundo Dalla Lana (2016), As dermatofitoses se encontra em terceiro lugar na lista doenças dermatológicas mais frequentes em crianças e o segundo mais frequentes em adultos. Em 1934, Emmons, baseado nos padrões morfológicos dos esporos e estruturas especiais, simplificou o trabalho iniciado por Sabouraud e dividiu os dermatófitos em três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporume* *Epidermophyton*, como atualmente é aceito (WEITZMAN; SUMMERBELL, 1995; TAKAHASHI *et al.*, 2011; VIDAL *et al.*, 2017)

Os dermatófitos são facilmente cultivados em meios artificiais contendo fontes de carbono e nitrogênio. A identificação pode ser feita por critérios morfológicos, provas fisiológicas, bioquímicas, imunológicas e moleculares (SOUZA, 1998; LACAZ *et al.*, 2002; ZAITZ, 2004; SIQUEIRA; FERREIRA; MAFFEI, 2006). O gênero *Trichophyton* é composto por diversas espécies, dentre as quais destaca-se pela frequência de isolamento *Trichophyton rubrum*, que pode produzir praticamente todos os quadros clínicos de dermatofitose, tendo como características principais à tendência para cronicidade e a resistência aos tratamentos convencionais (LACAZ *et al.*, 2002; SEEBACHER; BOUCHARA; MIGNON, 2008;).

Existem muitas espécies de *Microsporume* envolvidas em processos infecciosos em seres humano e animais não humanos na dependência de características geográficas e do hospedeiro. Assim, encontramos: *Microsporume canis*, *M. gypseum*, *M. audouinii*, *M. ferrugineume* *M. nanum*, como as espécies mais frequentemente isoladas (FERNÁNDEZ-TORRES *et al.*, 2005; GUPTA *et al.*, 2005). Prevalendo as espécies, *M. canis* e *M. gypseum* (CARVALHÃES, 1999; SIDRIN; ROCHA, 2004; GARCÍA - AGUDO; ESPINOSA - RUIZ, 2018).

Quanto ao gênero *Epidermophyton*, a única espécie patogênica para seres humanos é o *Epidermophyton floccosum* (SIDRIN; MOREIRA, 2004; SIQUEIRA *et al.*, 2006). Nos últimos anos, a literatura vem divulgando amplamente o aumento das infecções fúngicas, sendo as dermatofitoses uma das principais infecções

responsáveis por esse aumento (CARVALHAES, 1999; GUPTA *et al.*, 2006; MERCER; STEWART, 2019). Estudos de dermatófitos no Brasil têm apontado as espécies *T. rubrum*, *M. gypseum* e *T. mentagrophytes*, respectivamente como as espécies mais prevalentes de dermatófitos isolados. O *M. gypseum* contribui com uma percentagem que varia de aproximadamente com 1-2% nas Regiões Sudeste e Nordeste (SIDRIN; ROCHA, 2004; MORAIS *et al.*, 2006). Existem poucos agentes antifúngicos específicos e o emprego de muitos deles ainda é restrito pela relativa toxicidade. As drogas antifúngicas exercem ações fungistáticas ou fungicidas, direta ou indiretamente (COLOMBO *et al.*, 1995; LACAZ; NEGRO, 1991; SEEBACHER; BOUCHARA; MIGNON, 2008).

3. PLANTAS MEDICINAIS

O uso das plantas e preparações feitas a partir delas para tratar infecções é uma prática antiga, utilizada por uma boa parte da população mundial, principalmente em países em desenvolvimento, onde o alto custo dos medicamentos industrializados, dificuldade na assistência médica e farmacêutica e a preferência popular cada vez maior de produtos naturais, tem levado ao acréscimo na utilização das plantas medicinais na terapêutica e na cosmetologia (PARENTE *et al.*, 2009; SOARES; FREIRE; SOUZA, 2015).

O emprego de plantas medicinais para recuperação e tratamento da saúde vem evoluindo ao longo dos tempos. As plantas também produzem moléculas orgânicas que estão envolvidas na proteção contra bactérias, vírus, fungos, insetos e animais. Muitos desses compostos químicos são biologicamente ativos quando isolados. Portanto, as plantas são fontes muito ricas de agentes químicos com atividades farmacológicas e podem ser considerados medicamentos em potencial (PAGE *et al.*, 2004).

Testes antimicrobianos *in vitro* permitem a seleção de extratos brutos de plantas com propriedades potenciais de uso em estudos químicos e farmacológicos (PINTO *et al.*, 2000). O uso de extratos vegetais e fitoquímicos de conhecida atividade antimicrobiana podem adquirir significado nos tratamentos terapêuticos (LOGUERCIO *et al.*, 2005; GONÇALVES, 2017). A fitoterapia tem ressurgido como uma opção medicamentosa bem aceita e acessível aos povos do Mundo, e no caso do Brasil é adequada para as necessidades locais de centenas de municípios

brasileiros no atendimento primário à saúde (ELDIN; DUNFORD 2001; Rosa *et al.*, 2011).

3.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS PLANTAS MEDICINAIS

Diversos autores demonstraram atividades antimicrobianas encontradas nas folhas de hortelã de *Mentha piperita* L., família Lamiaceae, (JANSSEN *et al.*, 1987; HAMMER *et al.*, 1999; DORMAN *et al.*, 2000; BENITEZ; SILVA; ALVARES, 2016; GONÇALVES, 2017).

A *Matricaria recutita* L. (Camomila), tem sido usada há séculos, internamente e externamente, mais notavelmente em sintomas gastrointestinais, inflamações orais e de pele, dermatites, propriedades sedativas, antibacterianas e antifúngicas (ALBUQUERQUE *et al.*, 2010; KOTOWY *et al.*, 2020).

A *Pimpinella anisum* L. conhecida como erva-doce ou anis, é popularmente utilizada no combate a diversas enfermidades gastrointestinais, embora careçam de amplos estudos, foram relatados a forte atividade antioxidante e notável ação antibacteriana para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (GULÇIN *et al.*, 2003).

O óleo essencial de *Peumusboldus molina* apresentou atividade antibacteriana sobre *Escherichia coli*, *Neiseria gonorrhoea*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e atividade antifúngica sobre *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton mentagrophytes*. Estas atividades podem estar relacionadas aos ésteres boldino, ascaridol presentes na sua composição química (GUERIN; REVEILLERE, 1984; Lima *et al.*, 2006).

Diante do aumento de micro-organismos resistentes a antimicrobianos, torna-se limitado o uso de muitos medicamentos no combate às infecções provocadas. Observado esses agravantes, torna-se útil comprovar o emprego das plantas medicinais com base nas experimentações científicas para promover com segurança a utilização da grande reserva de princípios ativos que possuímos em nossa flora, bem como o sucesso dos usos de fitoterápicos nas indústrias farmacológicas.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Avaliar a atividade antifúngica de infusões e extratos alcoólicos de plantas medicinais na inibição do crescimento das espécies de dermatófitos.

4.2 ESPECÍFICOS

- Reativar as culturas de dermatófitos a serem testadas;
- Autenticar taxonomicamente as espécies de dermatófitos a serem testadas;
- Produzir as infusões e extratos vegetais das espécies de Camomila (*Matricaria recutita* L.), Erva-Doce (*Pimpinella anisum* L.), Hortelã (*Mentha piperita* L.) e Boldo-do-Chile (*Peumusboldus molina*).
- Analisar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos vegetais utilizando álcool de cereais e álcool etílico de Camomila (*Matricaria recutita* L.), Erva-Doce (*Pimpinella anisum* L.), Hortelã (*Mentha piperita* L.) e Boldo-do-Chile (*Peumusboldus molina*) frente aos dermatófitos *Epidermophyton floccosum* (URM3182, URM3345, URM6209); *Microsporium amazonicum* URM2732, *Microsporium gypseum* URM4964, *Microsporium fulvum* URM2740, *Trichophyton tonsurans* URM4743, *Trichophyton mentagrophytes* URM5540, *Trichophyton rubrum* URM5908.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 CARACTERIZAÇÕES DAS AMOSTRAS DE DERMATÓFITOS

Foram testadas nove culturas dos fungos, sendo um total de três culturas do gênero *Trichophyton*, três culturas do gênero *Microsporium* e três culturas do gênero *Epidermophyton* preservadas sob o óleo mineral (SHERF, 1943) estocadas na Coleção de Culturas URM do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco.

Destacam-se as espécies: *Epidermophyton floccosum* (URM3182; URM3345, URM6209); *Microsporium amazonicum* (URM2732); *Microsporium gypseum*, (URM4964); *Microsporium fulvum*, (URM2740); *Trichophyton tonsurans*, (URM4743); *Trichophyton mentagrophytes*, (URM5540); *Trichophyton rubrum* (URM5908), como os organismos testes do experimento *in vitro* como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Gêneros e espécies de dermatófitos utilizados no experimento

ORIGEM	GÊNERO	ESPÉCIE	Nº DA AMOSTRA	ANO DE ESTOCAGEM
Micoteca - URM da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)	<i>Trichophyton</i>	<i>T. tonsurans</i>	URM-4743	2004
		<i>T. mentagrophytes</i>	URM-5540	2007
		<i>T. rubrun</i>	URM-5908	2009
	<i>Mycrosporium</i>	<i>M. amazonicum</i>	URM-2732	1983
		<i>M. gypseum</i>	URM-4964	2005
		<i>M. fulvum</i>	URM-2740	1983
	<i>Epidermophyton</i>	<i>T. floccosum</i>	URM-3182	1990
		<i>T. floccosum</i>	URM-3345	1993
		<i>T. floccosum</i>	URM-6209	2010

Fonte: Os autores

5.2. REATIVAÇÃO DOS DERMATÓFITOS

Os fragmentos das culturas utilizadas foram reativados quando transferidos para caldo glicosado e mantidos a 28°C ± 2°C por 72 horas. Após crescimento, os fungos foram inoculados em tubos de ensaio contendo o meio de ágar Sabouraud onde foram verificadas sua viabilidade e pureza bem como realizada sua confirmação taxonômica. Depois de purificados, os dermatófitos foram repicados em placas de Petri contendo o meio ágar Sabouraud para facilitar os cortes para os testes.

5.3 COMPOSIÇÃO E MODO DE PREPARO DO CALDO GLICOSADO

Glicose.....	20,0 g
Peptona de carne	10,0 g
Extrato de carne.....	3,0 g
Água de destilada.....	1,0 L

Tendo todos os componentes dissolvidos em 1 litro de água destilada, foi distribuído 8 ml em cada tubo de ensaio para ser esterilizado a 120 °C por 15 minutos em pH de 6,8 – 7,0.

5.4 CONFIRMAÇÃO TAXONÔMICA DOS DERMATÓFITOS

Para a confirmação taxonômica, foram observadas características macroscópicas como coloração do anverso e reverso, morfologia (plana, elevada, crateriforme, cerebriforme) e textura, características microscópicas e características fisiológicas das colônias, segundo; ELEWSKI *et al.* (1992); FERREIRA (1996); FISHER; COOK (2001); LACAZ *et al.* (2002); MIDGLEY *et al.* (1998); RIPPON *et al.* (1990); ZAITZ *et al.* (1998).

5.5 PREPARAÇÃO DE INFUSÕES E EXTRATOS ALCOÓLICOS DE *Peumusboldus molina* (Boldo-do-chile), *Matricaria recutita* L. (Camomila), *Pimpinella anisum* L. (Erva-doce) e *Mentha piperita* L. (Hortelã).

Quatro plantas de espécies diferentes foram testadas quanto a atividade antifúngica. As plantas utilizadas foram adquiridas em embalagens comerciais e processadas industrialmente. Foram utilizados os capítulos florais de camomila (*Matricaria recutita* L.), frutos de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), folhas e ramos de hortelã (*Mentha piperita* L.) e folhas de boldo-do-Chile (*Peumusboldus molina*) como mostra a Tabela 2.

Tabela 2. Plantas medicinais utilizadas para testar as atividades antifúngica

ORIGEM	NOME CIENTÍFICO	NOME POPULAR	PARTES UTILIZADAS
	<i>Peumusboldus</i> Molina	Boldo-do-Chile	Folhas
Comércio local	<i>Matricaria recutita</i> L.	Camomila	Capítulos florais
	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Erva-doce	Frutos
	<i>Mentha piperita</i> L.	Hortelã	Folhas e ramos

Fonte: Os autores

O extrato aquoso a quente (infuso) foi obtido com 180mL de água destilada em 25g da planta sob controle de temperatura a 50°C, para que não perdesse nenhum princípio ativo da planta (SILVA *et al.*, 1988). O infuso foi preparado vertendo-se água fervente sobre o material botânico e fechando o recipiente em seguida. Este ficou em repouso por quinze minutos, com posterior filtração (SCHUCK *et al.*, 2001).

Os extratos alcoólicos foram preparados pelo método de maceração. Foram utilizados álcool de cereal e etílico, como soluções extratoras. Os extratos foram preparados, individualmente, utilizando-se 200 mL das soluções extratoras em 25g do pó da planta. A maceração ocorreu durante oito dias, sob agitação esporádica, e armazenados em frasco de vidro de cor âmbar para evitar uma possível interferência da luz, os frascos foram mantidos em temperatura ambiente aproximada de 25°C (SIMÕES *et al.*, 2001). As ervas foram esterilizadas inicialmente por raios UV, seguindo para o preparo das infusões e extratos. Após o preparo, os conteúdos foram filtrados em papel filtro Whatman nº1 e posteriormente foram esterilizados por filtração em membrana de acetato de 0,45 µm de porosidade. Os extratos etanólicos

foram utilizados imediatamente após a preparação (SANTOS *et al.*, 2010). Os extratos foram adicionados ao meio de ágar Sabouraud fundente (aproximadamente 45°C), numa proporção de 1/5. Logo após foram distribuídas nas placas de Petri.

5.6 PREPARAÇÃO DO INÓCULO

Das culturas de dermatófitos purificadas, mantidas em tubos de ensaio contendo meio ágar Sabouraud, adicionado de 50mg/L de cloranfenicol, foram retirados fragmentos que foram inoculados no centro das placas de Petri contendo meio ágar Sabouraud, adicionado de 50mg/L de cloranfenicol. As mesmas foram mantidas à temperatura ambiente (28°C ± 2°C), por 15 dias.

Na repicagem foram utilizados discos com tamanho de 0,8 mm das culturas de *Trichophyton*, *Mycrosporume epidermophyton*, que foram transferidos para o centro de cada uma das placas componentes de cada tratamento, onde foram observados por 10 dias. Placas com meio ágar Sabouraud tradicional e contendo as soluções extratoras com os discos de culturas de dermatófitos foram utilizadas como testemunhas (SANTOS *et al.*, 2010). Os extratos que apresentaram boa atividade antimicrobiana foram re-testados em tetraplicata e os diâmetros dos halos foram expressos pela média dos resultados obtidos nas três repetições.

5.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE INFUSÕES E EXTRATOS ALCOÓLICOS DE *Peumusboldus molina* (BOLDO-DO-CHILE), *Matricaria recutita* L. (CAMOMILA), *Pimpinella anisum* L. (ERVA DOCE) e *Mentha piperita* L (HORTELÃ).

As infusões e os extratos alcoólicos foram testados individualmente. Cada placa, contendo o meio de cultura, a infusão ou o extrato alcoólico recebeu um disco de 0,8 cm de diâmetro de ágar colonizado pelo fungo, que foi colocado no centro da placa. As placas foram mantidas em temperatura ambiente, por 15 dias. Cada teste foi realizado em triplicata. A avaliação consistiu de medições do diâmetro da colônia, com auxílio de um paquímetro após o 15º dia. O efeito das infusões e dos extratos alcoólicos sobre o crescimento dos fungos foi expresso, calculando-se o percentual de inibição do crescimento radial da colônia, comparando com o controle (placa contendo apenas o meio de cultura e o disco com micélio).

6 RESULTADOS

6.1 EFEITO “*IN VITRO*” DAS INFUSÕES DE *Peumusboldus molina* (BOLDO-DO-CHILE), *Matricaria recutita* L. (Camomila), *Pimpinella anisum* L. (Erva doce) e *Mentha piperita* (Hortelã) SOBRE DERMATÓFITOS (TABELAS 3 E 4).

6.2 EFEITO *in vitro* DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS DE *Peumusboldus molina* (BOLDO-DO-CHILE), *Matricaria recutita* L. (CAMOMILA), *Pimpinella anisum* L. (ERVA DOCE) e *Mentha piperita* L. (HORTELÃ) SOBRE DERMATÓFITOS (TABELAS 3 E 4).

Tabela 3. Avaliação do crescimento *in vitro* de dermatófitos submetidos a infusões e extratos alcoólicos de *Peumusboldus molina* (Boldo-do-Chile) e *Matricaria recutita* (Camomila)

PLANTA MEDICINAL	DERMATÓFITO	C (Cm)	EXTRATO AQUOSO	EXTRATO ALCOÓLICO	
				ÁLCOOL DE CEREAL (95%)	ÁLCOOL ETÍLICO (95%)
BOLDO-DO- CHILE	<i>T. rubrum</i> (URM-5908)	2,1	1,3	0,8	0,9
	<i>T. tonsurans</i> (URM-4743)	2,2	1,4	0,9	0,9
	<i>T. mentagrophytes</i> (URM-5540)	1,7	1,0	0,9	0,8
	<i>E. floccosum</i> (URM-3182)	1,9	1,3	0,8	0,8
	<i>E. floccosum</i> (URM-3335)	2,1	1,1	0,9	0,9
	<i>E. floccosum</i> (URM-6209)	1,4	1,4	0,9	0,8
	<i>M. amazonicum</i> (URM-2732)	3,3	3,1	3,0	2,9
	<i>M. gypseum</i> (URM-4964)	4,5	1,8	0,9	0,8
	<i>M. fulvum</i> (URM-2740)	3,4	1,2	0,9	0,8
	<i>T. rubrum</i> (URM-5908)	2,1	1,7	0,8	0,8
CAMOMILA	<i>T. tonsurans</i> (URM-4743)	2,2	1,5	0,8	0,8
	<i>T. mentagrophytes</i> (URM-5540)	1,7	1,7	1,2	0,9
	<i>E. floccosum</i> (URM-3182)	1,9	1,1	0,8	0,8
	<i>E. floccosum</i> (URM-3335)	2,1	1,6	0,9	0,9
	<i>E. floccosum</i> (URM-6209)	1,4	1,2	0,8	0,8
	<i>M. amazonicum</i> (URM-2732)	3,3	3,0	2,7	2,5
	<i>M. gypseum</i> (URM-4964)	4,5	2,4	0,9	0,8
	<i>M. fulvum</i> (URM-2740)	3,4	1,6	0,8	0,8

Obs.: Tamanho dos discos de cultura = 0,8 cm; C = Controle; Crescimento= 0,8(tamanho do disco) + x (valor do crescimento). **Fonte:** Os autores.

Tabela 4. Avaliação do crescimento *in vitro* de dermatófitos submetidos a infusões e extratos alcoólicos de *Pimpinella anisum* L. (Erva doce) e *Mentha piperita* (Hortelã)

PLANTA MEDICINAL	DERMATÓFITO	C (Cm)	EXTRATO AQUOSO (Cm)	EXTRATO ALCOÓLICO (Cm)	
				ÁLCOOL DE CEREAL (95%)	ÁLCOOL ETÍLICO (95%)
ERVA-DOCE	<i>T. rubrum</i> (URM-5908)	2,1	1,5	0,8	0,8
	<i>T. tonsurans</i> (URM-4743)	2,2	1,0	0,8	0,9
	<i>T. mentagrophytes</i> (URM-5540)	1,7	1,7	1,0	0,9
	<i>E. floccosum</i> (URM-3182)	1,9	1,2	0,8	0,8
	<i>E. floccosum</i> (URM-3335)	2,1	1,3	0,9	0,9
	<i>E. floccosum</i> (URM-6209)	1,4	1,2	0,9	0,8
	<i>M. amazonicum</i> (URM-2732)	3,3	2,9	0,8	0,9
	<i>M. gypseum</i> (URM-4964)	4,5	1,4	0,9	0,9
	<i>M. fulvum</i> (URM-2740)	3,4	1,3	0,9	0,8
HORTELÃ	<i>T. rubrum</i> (URM-5908)	2,1	1,1	0,8	0,8
	<i>T. tonsurans</i> (URM-4743)	2,2	1,0	0,9	0,8
	<i>T. mentagrophytes</i> (URM-5540)	1,7	1,0	1,0	0,9
	<i>E. floccosum</i> (URM-3182)	1,9	1,0	0,8	0,8
	<i>E. floccosum</i> (URM-3335)	2,1	0,9	0,8	0,8
	<i>E. floccosum</i> (URM-6209)	1,4	0,9	0,8	0,8
	<i>M. amazonicum</i> (URM-2732)	3,3	1,2	0,9	0,9
	<i>M. gypseum</i> (URM-4964)	4,5	1,0	0,8	0,8
	<i>M. fulvum</i> (URM-2740)	3,4	1,1	0,8	0,8

Obs.: Tamanho dos discos de cultura = 0,8 cm; C = Controle

Fonte: Os autores.

Os dermatófitos foram os organismos testes da pesquisa, sendo comprovada a sua vitalidade através dos testes controles, visto que em alguns testes não ocorreu crescimento no tempo estabelecido.

7 DISCUSSÃO

O aumento prevalente de microrganismos super-resistentes e os diversos efeitos colaterais de algumas drogas fortalece a necessidade de recorrermos a terapias alternativas para o tratamento de infecções fúngicas (PEREIRA *et al.*, 2006;

PHONGPAICHIT *et al.*, 2005). As plantas têm demonstrado possuir um efeito antimicrobiano potencial contra esses microrganismos, justificando o aparecimento de inúmeras pesquisas, voltadas para o desenvolvimento de agentes microbianos alternativos. Assim, a ampliação do conhecimento desse efeito antimicrobiano como tratamento alternativo sobre esses organismos, poderá demonstrar ou ter, num curto espaço de tempo, um importante significado clínico, justificando as pesquisas nessa área (ANIBAL, 2007)

O trabalho proposto teve por objetivo a pesquisa de atividade antimicrobiana de plantas medicinais populares. Ao analisar os dados, percebe-se que as infusões dos extratos vegetais utilizando álcool etílico apresentaram o maior espectro de ação inibitória contra micro-organismos no geral, mostrando assim a sua eficácia como solução extratora de compostos antibacterianos produzidos por estes vegetais, Deve-se destacar a eficiência dos extratos de Hortelã (*Menthapiperita*L.), que apresentaram sobre todos os gêneros de dermatófitos, a inibição de crescimento satisfatória, como comprovada em outras pesquisas relacionadas, feitas o óleo essencial da *Menta piperita*

Os meios de cultura contendo o extrato alcoólico de hortelã inibiu com eficácia o maior número de espécies testadas. Os extratos de Boldo-do-Chile apresentaram resultados positivos na inibição, confirmando os testes realizados por SOUSA *et al.* (1991) e SILVA (1997).

Os meios de crescimento contendo a infusão de Camomila apresentaram resultados menos inibitórios frente aos dermatófitos, mas, ainda sim, com uma margem inibitória pequena. Como um resultado inovador, observou-se a função inibitória, porém, não tão satisfatória da Erva-doce, sendo necessária a realização de estudos futuros com outros micro-organismos.

De um modo geral os dados obtidos nessa pesquisa demonstraram que todos os extratos tiveram efeitos sobre as culturas dos gêneros de dermatófitos, inibindo o desenvolvimento dos fungos, não apresentando propriedades fungicidas nessas concentrações, mas sendo considerados com propriedades fungistáticas. Desta forma, fica evidente o potencial do uso destas plantas na pesquisa de novos agentes antimicrobianos, e a sua utilização em medidas de controle de dermatofitoses, como a inclusão desses extratos em sabonetes e outros produtos de higiene pessoal, para aspersão em outros animais, pura ou em associação a outros antifúngicos e

antibacterianos. As futuras investigações com a utilização da metodologia aprimorada nessa pesquisa pioneira, possibilitará novas pesquisas de interesse para indústria farmacêutica.

O isolamento dos compostos bioativos, sua ação antimicrobiana, o conhecimento de seu mecanismo de ação e dados futuros sobre a regulação dos genes de resistência desses micro-organismos com relação a esses extratos, poderão ampliar consideravelmente as informações sobre o real potencial microbida dos extratos vegetais (ANIBAL, 2007; MORAIS *et al*, 2016; TAKAHASHI *et al*. 2017).

Assim, em um futuro breve a utilização dos extratos de plantas com propriedades antimicrobianas conhecidas, poderão ter grande significado nos tratamentos terapêuticos, tendo em vista a adesão massiva pela população menos favorecida economicamente, redução dos gastos na saúde pública relacionada aos possíveis efeitos colaterais desenvolvidos pelos compostos fungicidas comumente utilizados e redução dos coeficientes de morbidade relacionada às dermatofitoses.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os dados obtidos nessa pesquisa mostraram o potencial antimicrobiano dos extratos vegetais, apresentando atividade fungistática dos extratos frente a esses dermatófitos.

- Foram observadas, atividades fungistáticas *in vitro* dos extratos vegetais utilizando água, álcool de cereais e álcool etílico de Camomila (*Matricariarecutita* L.), Erva-Doce (*Pimpinellaanisum* L.), Hortelã (*Menthapiperita* L.) e Boldo-do-Chile (*Peumusboldus*Molina) frente aos dermatófitos *Epidermophytonfloccosum*URM3182; URM3345; URM6209, *Microsporumamazonicum*URM2732, *Microsporumgypseum*URM4964, *Microsporumfulvum*URM2740, *Trichophyton tonsurans*URM4743, *Trichophytonmentagrophytes*URM5540, *Trichophytonrubrum*URM5908,

- Os extratos que apresentaram maior efeito fungistático foram a *Menthapiperita* L. e *Peumusboldus*Molina.

- A infusão de água da *Matricariarecutita* L., apresentou o menor poder inibitório frente às espécies do gênero *Microsporum* e *Trichophyton*.

- Quanto ao gênero *Trichophyton* as espécies utilizadas no teste apresentaram resistência à infusão de água de *Matricariarecutita* L. e *Pimpinellaanisum* L. Quanto

aos extratos alcoólicos, os de *PeumusboldusMolinae* o de *Menthapiperita*L. produziram maior inibição frente a esse gênero.

- Quanto a espécie *Epidermophytonfloccosum*, os extratos alcoólicos apresentaram efeitos fungistáticos. Quanto às infusões em água a mais eficiente foi a da *Menthapiperita*.

- Quanto ao gênero *Microsporum*, os representantes tiveram menor inibição pelos extratos, dentre todas as espécies do gênero, a espécie *M. amazonicum*URM2732, respondeu a inibição do extrato alcoólico da *Matricariaecutita* L. e diferente dos outros gêneros, apresentou resistência ao extrato de *Peumusboldus*Molina.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A.C.L. et al. Antimicrobial Effect of Matricaria recutita Linn. (Chamomile) Extract against Dental Biofilm Microorganisms. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**. V. 10, n. 3, p.451-455, 2010.
- ANIBAL, P.C.; Potencial de ação antimicrobiana in vitro de extratos de plantas na inibição de Candidaspp, Streptococcus mutans e Staphylococcus aureus. São Paulo. [s.n.]. **Dissertação [Mestrado]**. Universidade Estadual de Campinas, 2007.
- BENITEZ, L.B.; SILVA, C. M.; ALVARES, L. C.; Utilização da hortelã-pimenta como agente no controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). **Scientia Plena**, v. 12, n. 12, 2016.
- BRONDANI, L; BATISTA, L. D. R.; Pesquisa de fungos dermatófitos queratinofílicos em amostras de areia de praças públicas do município de Porto Velho RO. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 137-150, 2016.
- CANDIDO, RC; Ocorrência de dermatófitos em amostras de unhas, pés e mãos coletadas de estudantes universitários. **RevSocBras Med Trop**. V. 39, n. 3, p. 269-71, 2006
- CARVALHAES, J.; **Micologia Médica**, 1.ed., Rio de Janeiro (R.J), Controllab, 1999.
- COLOMBO, A. L.; Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for azole antifungal susceptibility testing. **J Clin Microbiol**. v. 33, p. 535-540, 1995.
- CONANT, N.F. et al. **Micologia**, 3 ed. México: interamericana, 1971. 592p.
- DALLA LANA, D. F. et al. Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento. **Clinical and biomedical research**. V. 36, n. 4, p. 230-241, 2016
- DEVI, A.; KAUL, S. Opportunistic fungal complex as causal organism for sk in mycoses in humans. **International journal of innovative research & development**, v. 4, n. 10, p.226-230, 2015.
- DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G.; Antimicrobial agents from Plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. **J Appl Microbiol**. v. 88, p. 308-316, 2000.
- DWIVEDY, A. K. et al. Nanoencapsulated Illicium verum Hook.f. essential oil as an effective novel plant-based preservative against aflatoxin B 1 production and free radical generation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 102 – 113, Jan 2018.
- ELDIN, S.; DUNFORD, A.; Fitoterapia na atenção primária à saúde. São Paulo: **Manole**, 2001.
- ELEWISKI, B.E.; Topics in clinical Dermatology cutaneous fungi Infection. New York: **Igaku-Shoin**, 1992. 225p.
- FERREIRA, A.W.; ÁVILA, S.L.M.; Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 302p.
- FISCHER, F.; COOK, N. B.; Micologia. Fundamentos e diagnóstico. Rio de Janeiro: **Reviter**, 2001. 337p.

GARCÍA-AGUDO, L.; ESPINOSA-RUIZ, J. J. Tiña capitis por *Microsporumgypseum*, una especie infrecuente. **Archivos Argentinos de Pediatría**, v. 116, n. 2, p. 296-299, 2018.

GONÇALVES, F. C. M.; Menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada com aplicação de ácido salicílico: avaliações fotossintéticas e bioquímicas. 2017. 129p. **Dissertação [Mestrado]**. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2017.

GUERIN, J.; REVEIL-LERE, H.; Antifungal activity of plant extracts used in therapy. I. Study of 41 plants extracts against 9 fungus species. **The Annals of Pharmacotherapy Française**, v.42, n.6, p. 553-9, 1984.

GULÇIN, I. OKTAY, M.; KUFREVIOGLU, O.I.; Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed evaluation of certain plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of respiratory diseases, **J. of Ethnopharmacol.** v. 74, n. 1, p. 97-101.

GUPTA, A.K et al. An overview of topical antifungal therapy in dermatomycoses. A North American perspective. **Drugs** v. 55, p. 645-674, 1998.

HAMMER, K.A.; CARSON, J.F.; RILEY, T.V.; Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **J Appli Microbiol.** v. 86, p. 985-990, 1999.

JAMES, D. B. et al. Phytochemical and antimicrobial investigations of the aqueous and methanolic extracts of *Ximenia americana*. **J. Med. Sci.**, v.7, n. 2, p. 284-288, 2007.

JANSEN, A.M; SCHEFFER, J.J.C; BAERHEIM, S. A; Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species, **Pharmazie**, v. 45, p. 70, 1987.

KOTOWY, J.; MARCONDES, F. B.; SILVA, T. F. B. X.; LUBI, N. C.; Avaliação da estabilidade de emulsão desenvolvida com extratos de Aloe vera (*Aloe vera* L.), Calêndula (*Calendula officinalis* L.), Camomila (*Matricaria chamomilla* L.) e Centella asiática (*Centella asiática* L.) **Scientific Electronic Archives Issue ID: Sci. Elec. Arch.** V. 13, n. 10, 2020.

LACAZ, C. S; NEGRO, G. Drogas antifúngicas Terapêutica das micoses. In: LACAZ, C.S; PORTO, E; MARTINS, J. E.C; **Micologia médica fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. São Paulo: Savier. 1991.

LACAZ, C.S; PORTO, E; MARTINS, J.E.C; HEIS-VACCARI, E.M; MELO, N.T; **Tratado de micologia médica**. São Paulo: Sarvier; 2002.

LIMA, I. O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev Bras Farmacogn** v. 16, p. 197-201. 2006.

LIMA, M. R. F. et al. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Rev Bras Farmacogn**, v.16, p.300-306, 2006.

LOGUERCIO, A.P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* L. Skells). **Ciência Rural**. v. 35, n.2, p. 371-376, 2005.

MERCER, D.K.; STEWART, C. S.; Keratin hydrolysis by dermatophytes. **Medical Mycology**. V. 57, p. 13 – 22, 2019.

MIDGLEY, G; CLAYTON, Y.M; HAY, R.J; **Diagnóstico em cores: Micologia Médica**. 1ª ed. São Paulo, Manole, 1998, 155p.

MORAIS, C. G. et al. Spencermartinsiellasilvicola sp. nov., a yeast species isolated from rotting wood. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. V. 66, p. 604, 2016

MORAIS, M.S. ; GODOY-MARTINEZ, P ; ALCHORNE, M.M.A. et al. Incidence of tinea capitis in São Paulo, Brazil. *Mycopathologia*, v. 162, p. 91-95, 2006.

OLIVEIRA, R. A. G. et al. Interference of *Plectranthusamboinicus* (Lour.) Spreng essential oil on the anti-Candida activity of some clinically used antifungals. *Rev Bras Farmacogn*, v.17: p.186-190, 2007.

PAGE, C.; CURTIS, M.; SUTTER, M.; WALKER, M.; HOFFMAN, B.; **Farmacologia integrada**. 2ª ed. Barueri: Manole, 2004.

PARENTE, L. M. L. et al; Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 11, n. 4, p. 383–391, 2009.

PEIXOTO, I. et al. Dermatofitose por *Tricophyton rubrum* como infecção oportunista em pacientes com doença de Cushing. *Anais Brasileiro de Dermatologia*, v. 85, n. 1, p. 888-890, 2010.

PEREIRA, E.M. et al. *Tabebuia avellanedae* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and in vivo dermal irritability analysis. *Annals Clin Microbiol Antimicrobial*. v. 5, n.5, p. 1-7, 2006.

PEREIRO, M. et al. Incidencia de los dermatofitos em España desde 1926 a 1994. *Actas Dermo- Sifiliogr* v. 87, p. 77-84, 1996.

PHONGPAICHIT, S.; SUBHADHIRASAKUL, S.; WATTANAPIROMSAKUL, C.; Antifungal activities of extracts from Thai medicinal plants against opportunistic fungal pathogens associated with AIDS patients. *Mycoses*. v. 48, p.333-338., 2005.

PINTO, C.N. et al. Chemical reactivity studies with naphthoquinones from *Tabebuia* with anti-trypanosomal efficacy. *Arzneim- Forsch/ Drug Res*. v. 50, p. 1120-1128, 2000.

RATES, S.M.K; Plants as source of drugs. *Toxicon*. v. 39, p. 603-613, 2001.

RIPPON, J.W; **Tratado de Micologia Médica: hongos e actinomicetos patógenos**. 3 ed. México: Interamericana, 1990. 885p.

ROSA, C.; C MARA, S.G.; BÉRIA, J.U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. *Ciências & Saúde Coletiva*, v, 16, n. 1, p. 311 - 318, 2011.

RUBIO, M.C. et al. Perspectiva micológica de los dermatofitos en el ser humano. *Revista Iberoamericana de Micologia* v. 16, p. 16-22, 1999.

SAHOO, A. K.; MAHAJAN, R; Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. *Indian dermatology online journal*, v. 7, n. 2, p. 77-89, 2016.

SANTOS, M. B. et al. Efeito inibitório in vitro de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Aspergillus niger* Tiegh. *Rev. Bras. Pl. Med.* v.12, n.1, p.13-17, 2010.

- SCHUCK, VIRNA J. A; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* / Evaluation of the antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus*. RBCF, **Rev. bras. ciênc. farm. (Impr.)**; v. 37, n. 1, p. 45-49, 2001.
- SEEBACHER, C; BOUCHARA, J. P; MIGNON, B. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. **Mycopathologia**. V. 166, p. 335-52, 2008.
- SHERF, A.F; A method for maintaining *Phytomonas sepedonica* in culture for long periods without transfer. **Phytopatology**, v. 33, p. 330-332, 1943.
- SIDRIN, J.J.C; MEIRELES, T.E.F; OLIVEIRA, L.M.P; DIÓGENES, M.J.N; Aspectos clínicos laboratoriais das dermatofitoses. In: **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. editors. Sidrin J.J.C. and Rocha M.F.G. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004,135-161.
- SILVA, E.B; Uso das plantas medicinais pelos moradores do Engenho Uchoa. **Monografia**. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 1997.
- SILVA, F. A.; et al; Estudos farmacológicos preliminares dos extratos de *Casearia sylvestris*. **Revista Vittale**, Rio Grande, v. 2, p. 57-66, 1988.
- SILVA, K. A. et al. Etiologia das dermatofitoses diagnosticadas em pacientes atendidos no Laboratório de Micologia Médica no Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, entre 2014 - 2017. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 50, n. 1, p. 33-37, 2018.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- SIQUEIRA, E. R.; FERREIRA, J. C.; MAFFEI. C. M. L.; CANDIDO, R. C.; Ocorrência de dermatófitos em amostras de unhas, pés e mãos coletadas de estudantes universitários. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V. 39, n. 3, p. 269-271, 2006
- SOARES, F.; FREIRE, N.; SOUZA, T.; Avaliação farmacognóstica e da rotulagem das drogas vegetais Boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) e camomila (*Matricaria recutita* L.) comercializadas em Fortaleza, CE. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 468-472, 2015.
- SOUSA, M.P; MATOS, M.E.O; MATOS, F.J.A; Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras. **Imprensa Universitaria/ UFC**, Fortaleza, 1991.
- SOUZA. V.M; Técnicas laboratoriais utilizadas em micologia médica. In: Zaitz C, Campbell I, Marques AS, Ruiz, LRB, Souza VM. **Compêndio de micologia médica**. Rio de Janeiro: Medsi; 1998. p. 51-63.
- TAKAHASHI, J. A. et al. Fungos Filamentosos e Química: Velhos Conhecidos, Novos Aliados. **Rev. Virtual Quim**. V. 19.n. 6. 2017.
- TAKAHASHI, J. P. et al. Levantamento de fungos queratinofílicos em solo de parques e praças públicas no município de São Bernardo do Campo. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, n. 1, p. 47 - 53, 2011.
- VIDAL, V. V.; et al. Ocorrência de fungos queratinofílicos em solo de áreas recreacionais de Santarém - PA, Brasil. *Revista Cereus*, v. 9, n. 2, p. 03-15, 2017.
- WEITZMAN, I; SUMMERBELL, R.C; The dermatophytes. **Clin Microbiol Rev**. v. 8, n. 2, p. 240-259, 1995.

ZAITZ, C; PROENÇA, N. G; Estado atual da taxonomia dos dermatófitos. **AnBras Dermatol**; v. 63, n. 5, p. 403-6. 1998.

ZAITZ, C; Provas biológicas, nutricionais e bioquímicas mais utilizadas para identificação de dermatófitos e leveduras. In: **Atlas de micologia**. Diagnóstico laboratorial das micoses superficiais e profundas. Rio de Janeiro: Medsi; 2004. p. 135-7.

CAPÍTULO 08

RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE DE ANTIFÚNGICOS UTILIZADOS NA PRÁTICA CLÍNICA E INOVAÇÕES TERAPÊUTICAS

Mylena Félix de Lira

Acadêmica de Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil
E-mail: mylenalira.ml@gmail.com

Bruna Maria Tavares de Melo

Acadêmica de Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil
E-mail: bruna.mariamelo@ufpe.br

Lucas Lima de Oliveira

Acadêmico de Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil
E-mail: lucas.limaoliveira@ufpe.br

Cleriston de Oliveira Bezerra

Acadêmico de Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil
E-mail: cleriston.bezerra@ufpe.br

Felipe Neves Coutinho

Doutorando em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil
E-mail: felipe.nevesc@ufpe.br

Marlene Saraiva de Araújo Neta

Doutora em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Doutora em Farmácia pela Université de Nantes (França)
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil

E-mail: saraiva.marleneneta@gmail.com

Antônio Rodolfo de Faria

Professor Associado

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas

Endereço: Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil

E-mail: antonio.faria@ufpe.br

RESUMO: Fungos são seres eucariontes que podem ser nocivos ou não para a espécie humana. Milhares de espécies de fungos estão identificadas na pesquisa científica. O conhecimento a respeito destes seres é de extrema importância para a busca do tratamento ideal. A célula do fungo possui uma parede celular composta principalmente de quitina e uma membrana celular que possui ergosterol, e são responsáveis por infecções difíceis de serem tratadas. Os fármacos utilizados atualmente para o tratamento das doenças causadas por fungos podem agir em diferentes mecanismos na célula fúngica. Os antifúngicos são classificados em grupos segundo sua estrutura química ou local de ação. A presença de cepas resistentes às terapias correntes traz à tona a extrema importância ao uso racional destes medicamentos bem como a descoberta de novas moléculas antifúngicas otimizadas, ou seja, mais potentes e menos tóxicas às células humanas. A química medicinal, fazendo uso do estudo da Relação Estrutura-Atividade (REA) de fármacos existentes na terapêutica, possibilita a obtenção de novas moléculas potencialmente antifúngicas. O objetivo deste capítulo é a discussão da Relação Estrutura-Atividade (REA) das principais classes de antifúngicos utilizados na terapêutica (análogos pirimidínicos, azóis, equinocandinas e polienos), enfatizando suas estruturas químicas e modificações estruturais na atividade antifúngica.

PALAVRAS-CHAVE: Fungos, Antifúngicos, Relação estrutura / atividade

ABSTRACT: Fungi are eukaryotic beings that can be harmful or not to the human. Thousands of species of fungi are identified in scientific research. Knowledge about them is extremely important for the search for the ideal treatment. The fungal cell has a cell wall composed mainly of kitine and a cell membrane that contains ergosterol, and are responsible for infections that are difficult to treat. The drugs currently used to treat diseases caused by fungi can act in different mechanisms in the fungal cell. Antifungals are classified into groups according to their chemical structure or site of action. The presence of resistant strains to current therapies brings up the extreme importance of the rational use of these drugs as well as the discovery of new optimized antifungal molecules, that is, more potent and less toxic to human cells. Medicinal chemistry, through the Structure-Activity Relationship (SAR) of existing drugs in therapy, makes it possible to obtain new antifungal molecules. The purpose of this chapter is to discuss the Structure-Activity Relationship (SAR) of the main classes of antifungals used in therapy (pyrimidine analogs, azoles, echinocandins and polyenes), emphasizing their chemical structures and structural changes in antifungal activity

KEYWORDS: Fungi, Antifungals, Structure / activity relationship

1. INTRODUÇÃO

Existem 1,5 a 5 milhões de espécies de fungos no planeta Terra, destas, aproximadamente 400 espécies são capazes de causar doenças em animais e um número ainda menor traz prejuízo à saúde humana (KOHLENER *et al.*, 2014; BENNETT, 2012). Apesar de esses números em princípio trazerem um certo alívio, uma vez que o número de patógenos não é tão grande quanto o número de espécies, precisamos ter ciência da gravidade que as infecções fúngicas podem acarretar, especialmente para pacientes cujo sistema imune está comprometido, quer por alguma doença como a AIDS, quer pelo uso de medicamentos imunossupressores (BENNETT, 2012).

Nos últimos cinco anos, as micoses representaram 23.842 internações hospitalares e causaram 1.651 óbitos em território brasileiro até setembro de 2020 (DATASUS, 2020). Esses dados apontam a dificuldade de tratamento e, também, de diagnóstico das micoses, evidenciando a alta morbidade e a mortalidade causada por fungos, principalmente em pacientes enfermos e imunossuprimidos. Resistência a medicamentos antifúngicos e diagnóstico tardio são fatores que dificultam o tratamento de micoses (MATHEW; NATH, 2009).

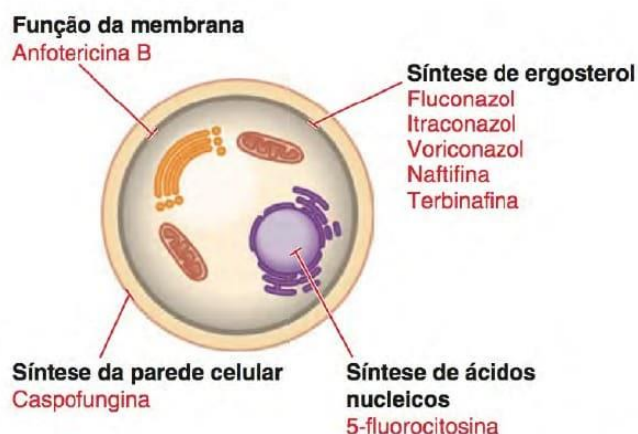
Os fungos são organismos eucarióticos, diferente das bactérias, alvo de estudo do primeiro volume do livro *Fatores de virulência microbianos e terapias emergentes*, que são procarióticas. A parede celular dos fungos é composta principalmente de quitina, um polissacarídeo, enquanto que nas bactérias é o peptidoglicano, que compõe majoritariamente a parede celular. Outro polissacarídeo importante de se destacar que também está presente na parede celular fúngica é o β -glicano. Outra comparação importante de realizar, desta vez em relação às células humanas, é a presença de ergosterol na membrana celular dos fungos, enquanto na das células humanas está presente o colesterol (LEVINSON, 2014).

As características dos fungos apresentadas anteriormente são importantes para compreensão da necessidade de antifúngicos: em geral, diante da diferença entre os seres, os fungos são resistentes ao tratamento com antibacterianos, bem como as bactérias são normalmente resistentes aos antifúngicos (KISGEN, 2016); além disso, foi ressaltada a presença do ergosterol devido a seletividade dos fármacos que atuam sobre os esteróides da membrana, de modo que as células fúngicas são afetadas majoritariamente frente às humanas (LEVINSON, 2014).

As micoses, doenças infecciosas causadas por fungos, podem ser tratadas

com uma gama de medicamentos, uma vez que as características dos fungos são úteis no direcionamento de fármacos quimioterápicos contra as micoses (KISGEN, 2016). Assim, os antifúngicos existentes estão distribuídos entre diversas classes, de acordo com suas estruturas e mecanismos de ação. Na figura 1, podemos ver alguns exemplos de antifúngicos e seus respectivos locais de ação.

Figura 1. Locais de ação de fármacos antifúngicos na célula fúngica



Fonte: Bennett, 2012

Assim, neste capítulo faremos a análise da relação estrutura-atividade de alguns fármacos dentro das diversas classes de antifúngicos, trazendo ainda uma explanação sobre o mecanismo de ação dos mesmos, e informações sobre algumas inovações terapêuticas referentes ao tratamento de micoses.

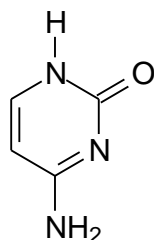
2. ANÁLOGOS DA BASE NITROGENADA PIRIMIDINA – CITOSINA

2.1 FLUCITOSINA

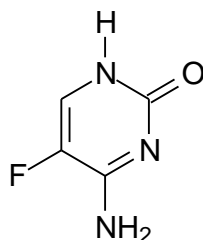
Flucitosina, ou 5-fluorocitosina (5-FC), é um antifúngico análogo da base pirimidínica citosina, de fácil absorção oral (figura 2). Foi primeiramente sintetizada na década de 1950 na busca de novos fármacos antitumorais (DUSCHINSKY *et al.*, 1960). Posteriormente descobriu-se o potencial antifúngico da flucitosina, que hoje é utilizada no tratamento de criptococose, em associação com a anfotericina B, e devido ao seu amplo espectro de ação antifúngica, é utilizada também no tratamento de candidíase disseminada grave (*Candida sp*), como por exemplo a endocardite e outras infecções por leveduras e aspergilose grave invasiva (*Aspergillus sp*). Além de combinada com anfotericina B, é utilizada também em associação com antifúngicos azólicos no tratamento de meningite criptocócica (*Cryptococcus sp*) e

algumas outras micoses (VERMES, 2000; VANDEPUTTE *et al.*, 2012).

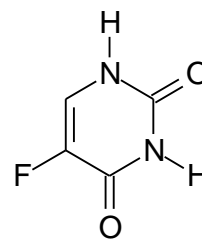
Figura 2. Estruturas químicas da citosina, flucitosina e 5-fluorouracila



Citosina



Flucitosina (5-FC)



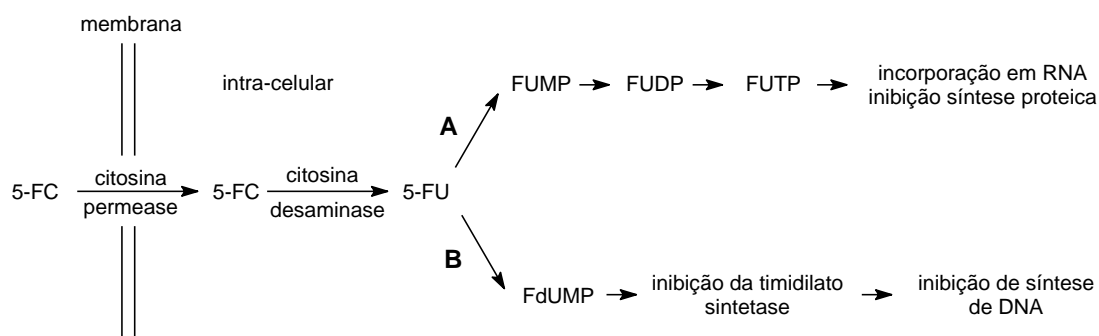
5-Fluorouracila (5-FU)

Fonte: Elaborado pelo autor.

O mecanismo de ação antifúngica da Flucitosina (5-FC) (figura 3) inicia com a entrada do fármaco na célula fúngica através da ação da enzima citosina permease. Em seguida, no citoplasma da célula fúngica, a Flucitosina é metabolizada em 5-fluorouracila (5-FU), pela ação da enzima citosina desaminase. A baixa toxicidade da Flucitosina no organismo humano e mamíferos, se deve à ausência ou baixa atividade desta enzima, quando comparada aos fungos. O 5-fluorouracila (5-FU) é extensivamente incorporada em RNA fúngico e inibe a síntese de DNA e RNA por dois caminhos:

- (A) – A 5-fluorouracila (5-FU) é convertida, pela ação de fosforilases em ácido 5-fluorouridílico mono, di e trifosfatos respectivamente (FUMP, FUDP e FUTP) e são incorporados no RNA do fungo, resultando em um RNA danificado que inibe o crescimento.
- (B) – A 5-fluorouracila (5-FU) é convertida ao ácido 5-fluorodesoxiuridílico monofosfato (FdUMP), um potente inibidor de timidilato sintetase e desta forma evita a síntese de DNA, o que justifica o efeito fungicida.

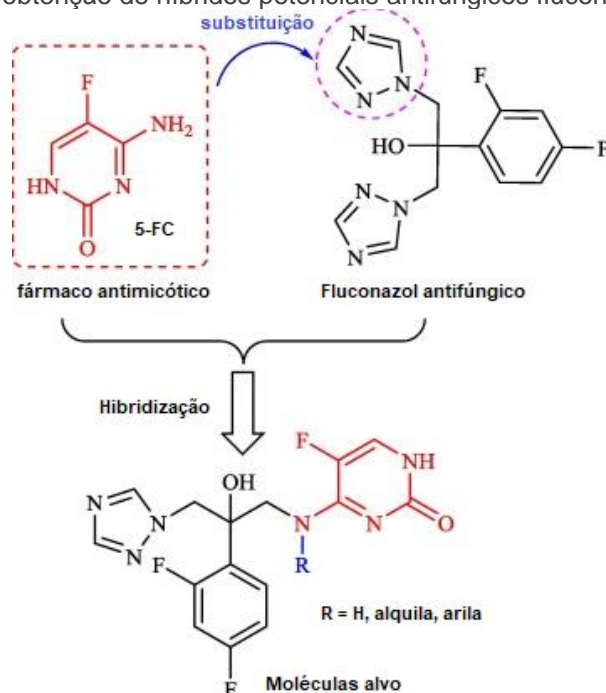
Figura 3. Mecanismo de ação antifúngica da flucitosina



Fonte: Adaptado de Vermes *et al.* (2000).

A fluocitosina (5-FC) apresenta alguma resistência preexistente ou emergente a algumas cepas de espécies de candidas, por exemplo: *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* e está relacionada à má permeabilidade da fluocitosina na membrana do fungo (citosina permease), metabolismo e à não incorporação de metabólitos do fármaco no RNA do fungo (VANDEN BOSSCHE *et al.*, 1994; VANDEN BOSSCHE, 1997; HOPE *et al.*, 2004).

Figura 4. Estratégia de obtenção de híbridos potenciais antifúngicos fluconazol/flucitosina



Fonte: Adaptado de Fang *et al.* (2017).

Uma das estratégias em química medicinal (QM) no planejamento de fármacos é a hibridização molecular, onde dois grupamentos ou estruturas, de conhecida atividade biológica, são unidos em uma mesma estrutura química, para averiguar o potencial biológico resultante, podendo ser sinérgicos, para diminuir

toxicidade ou mesmo para desenvolver atividade biológica distinta. Fang e colaboradores sintetizaram híbridos contendo porção 5-flucitosina e fluconazol, dois fármacos antifúngicos que apresentam mecanismos de ação antifúngica distintos (FANG *et al.*, 2017). A estratégia foi substituir o núcleo triazólico pela 5-fluorocitosina (5-FC) na obtenção dos híbridos (figura 4)

De forma surpreendente, o derivado híbrido **7h** (R = 3,4-diclorobenzila) inibiu o crescimento de *C. albicans* ATCC 90023 e da cepa clínica resistente *C. albicans* com valores de MIC de 0,008 e 0,02 mM (fluconazol e flucitosina utilizados como referência), respectivamente. A molécula ativa **7h** apresentou também permeabilidade eficiente na membrana de *C. albicans*. O estudo de docking molecular revelou que o híbrido **7h** pode interagir com o sítio ativo do CACYP51 através da ligação de hidrogênio (mecanismo que apresenta o fluconazol). Resultados preliminares sugerem que o derivado **7h** poderia intercalar no DNA para formar um complexo supramolecular estável, que poderia bloquear a replicação do DNA para exercer a intensa atividade antifúngica.

Esses resultados demonstram que esses híbridos são bastante promissores na terapêutica antifúngica, mostrando assim a versatilidade de estruturas conhecidas na obtenção de híbridos potencialmente ativos.

2.2 AZÓIS

Duas grandes classes estão incluídas no grupo dos antifúngicos azólicos: os imidazóis e os triazóis. Ambas as classes possuem o mesmo mecanismo de ação e compartilham também do mesmo espectro antifúngico, sendo úteis por exemplo contra *Candida albicans*, *Coccidioides* spp., fungos dermatófitos, entre outros. A vantagem existente de uma classe para com a outra é que os triazóis sistêmicos possuem uma metabolização mais lenta que os imidazóis, e, além disso, interferem menos na síntese de esteróis humanos (BENNETT, 2012).

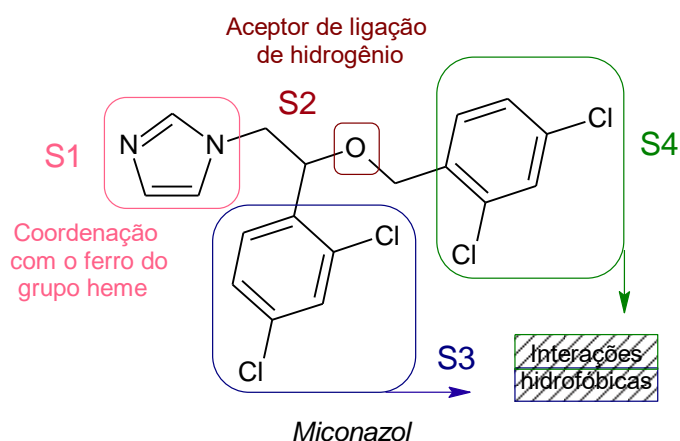
Ambas as classes de antifúngicos azólicos tem por mecanismo de ação a inibição competitiva da esteroil 14- α -desmetilase (CYP51), a enzima necessária para catalisar o processo de remoção oxidativa da 14- α -metila, durante a biossíntese de ergosterol (WU *et al.*, 2018). O acúmulo de 14- α -metilesteroides promove desestruturação da membrana, pois desfaz a organização compacta das cadeias acilas dos fosfolípídeos; assim, o funcionamento de sistemas enzimáticos ligados à membrana é comprometido, e o crescimento dos fungos é inibido (BENNETT, 2012).

2.2.1 CETOCONAZOL E ITRACONAZOL

Verificaremos neste tópico a relação estrutura-atividade de dois azóis: o cetoconazol, um imidazol, e o itraconazol, um triazol. Os azóis exercem sua ação interagindo com a enzima CYP51 através de quatro sítios existentes nesses compostos, sendo os grupos presentes nos sítios S1, S2 e S3 os farmacóforos das moléculas (SOUZA, 2018).

Em relação ao sítio S1, o átomo de nitrogênio, presente nos anéis imidazol e triazol, atua complexando o ferro do grupo prostético heme, presente na enzima alvo. No sítio S2, o oxigênio atua como acceptor de ligação de hidrogênio. Já os sítios S3 e S4 apresentam estruturas que possibilitam a interação com a parte hidrofóbica (figura 5) (JI *et al.*, 2000; SOUZA, 2018).

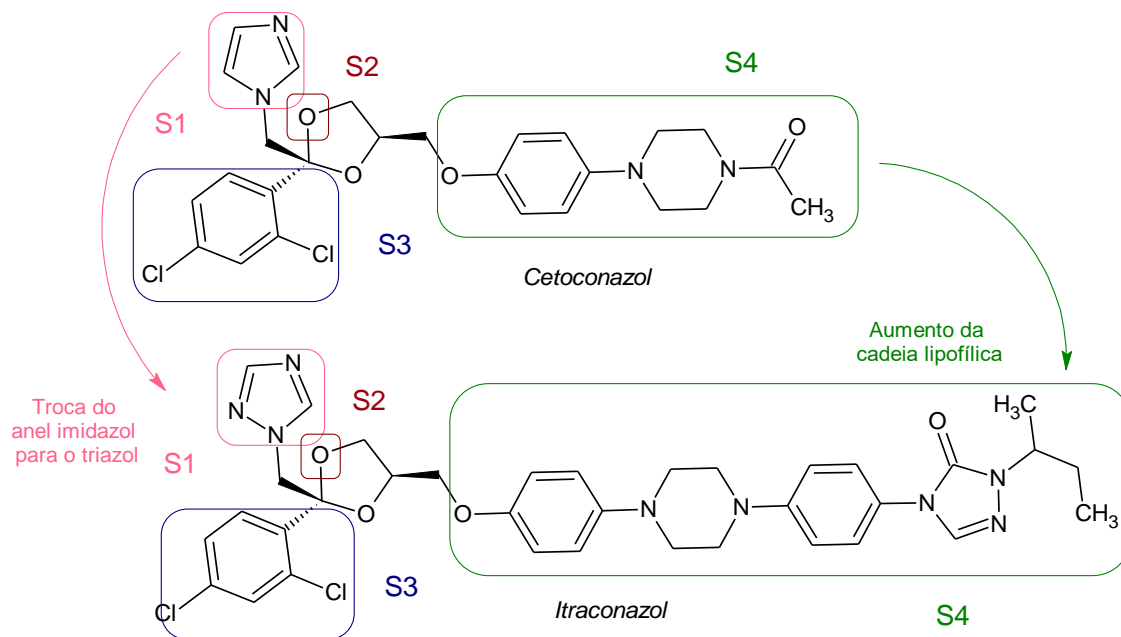
Figura 5. Apresentação dos sítios presentes nos azóis (representados nesta imagem pelo miconazol) e relação estrutura – atividade



Fonte: Elaborado pelo autor.

É comum encontrar diversos fármacos pertencentes a uma mesma classe. Isso normalmente ocorre porque os primeiros fármacos vão sofrendo modificações, visando assim o surgimento de congêneres que possuam melhor biodisponibilidade, menor toxicidade, maior potência, entre outras otimizações. Veremos isso com um exemplo comparativo entre o cetoconazol e o itraconazol (figura 6).

Figura 6. Comparativo entre as estruturas químicas do cetoconazol e do itraconazol



Fonte: Elaborado pelo autor.

O cetoconazol é um imidazol que possui melhor biodisponibilidade, quando comparado a um outro fármaco da mesma classe, o miconazol (SOUZA, 2018). Isso ocorre devido à inserção do grupo fenilpiperazinetaconona, no lugar do grupo diclorofenila, em S4, aumentando assim a cadeia hidrofóbica da molécula. Este fármaco foi o primeiro antifúngico a ser utilizado através da via oral, todavia, o anel imidazólico presente, um dos farmacóforos da molécula, sofre degradação metabólica, corroborando para um tempo de meia-vida curto (FRANÇA *et al.*, 2014). Diante disso, é importante fazer algumas considerações a respeito do itraconazol.

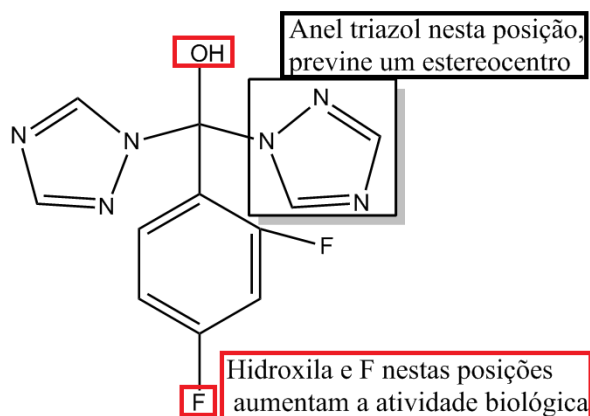
O uso do cetoconazol por via oral foi substituído pelo itraconazol devido às vantagens desse último, exceto nos casos em que, por possuir menor preço, o uso do cetoconazol se torna mais vantajoso (BENNETT, 2012). O itraconazol possui melhor atividade, seletividade e biodisponibilidade quando comparado ao cetoconazol. A mudança na estrutura química que possibilitou essas otimizações foi a substituição do anel imidazólico pelo anel triazólico. Além disso, houve aumento na lipofilia e melhora nas interações hidrofóbicas devido a inserção do grupo sec-butilfeniltriazolona, no sítio S4, substituindo o grupo etanona (FRANÇA *et al.*, 2014). Tudo isso corroborou para o aumento do espectro antifúngico do itraconazol, em comparação ao cetoconazol, e fez ainda com que o itraconazol não tivesse o efeito

de supressão de corticosteróide que o seu protótipo imidazólico possui (BENNETT, 2012).

2.2.2 Fluconazol

As modificações mais relevantes do Fluconazol incluem dois anéis triazólicos, uma hidroxila e átomos de Flúor (figura 7). A inclusão de dois anéis triazólicos idênticos foi feita para gerar um plano de simetria na estrutura, que elimina o centro estereogênico e torna a síntese menos custosa, pois desta forma a molécula final obtida é única e não há a formação de estereoisômeros, onde possivelmente poderiam possuir grau de eficácia distinta, sendo necessário isolamento de apenas um deles. A atividade farmacocinética e farmacodinâmica superior do fluconazol em relação aos antifúngicos com anel imidazol, pode ser atribuída a três importantes modificações em sua estrutura química: a substituição do anel imidazol por triazol, a substituição no anel aromático de dois átomos de cloro por dois átomos de flúor, e a substituição do grupo éter por álcool entre os triazóis e a fenila, minimizando um possível impedimento estérico (FRANÇA *et al.*, 2014).

Figura 7. Estrutura do fluconazol



Fonte: Elaborado pelo autor.

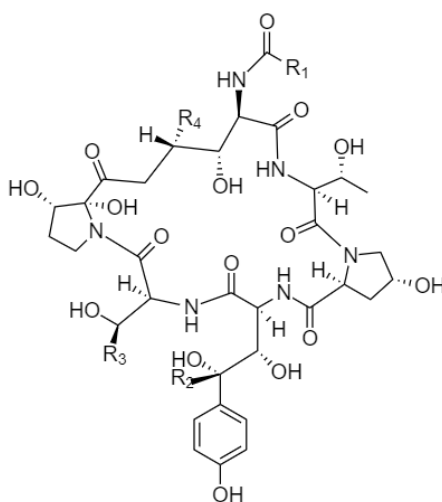
2.3 EQUINOCANDINAS

Equinocandinas correspondem a uma classe de lipopeptídeos modificados sinteticamente derivados de produtos da fermentação de diversos fungos (DENNING, 2002). São agentes usados como tratamento de primeira linha contra infecções causadas por *Candida* e possuem, como mecanismo de ação, a inibição não competitiva do complexo enzimático β -1,3-d-glucano sintase, presente na parede estrutural fúngica. Como resultado, ocorre a inibição da síntese do β -1,3-d-

glucano, componente estrutural que compreende até 60% da parede celular de *Candida* spp. A prevalência deste alvo em fungos, e não em mamíferos, é uma característica que confere baixa toxicidade a essa classe (JAMES *et al.*, 2016).

A estrutura química das equinocandinas compreende grandes lipopeptídeos cíclicos, compostos de um núcleo hexapeptídeo anfifílico, com cadeia lateral de acil lipídio ligada a um átomo de nitrogênio (KOFLA; RUHNKE, 2011), com sua estrutura base representada na figura 8. A cadeia lateral das equinocandinas se intercalam com a bicamada fosfolipídica da membrana celular dos fungos. A caspofungina possui uma cadeia lateral de ácido graxo, a micafungina uma cadeia lateral aromática complexa (isoxazol substituído por 3,5-difenilas) e a anidulafungina uma cadeia lateral de alcoxitrifênica (terfenil) (DENNING, 2003).

Figura 8. Estrutura Base das Equinocandinas



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.3.1 ANIDULAFUNGINA

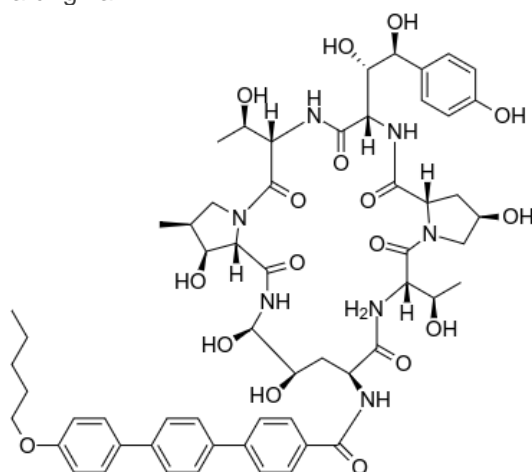
Anidulafungina, representada na figura 9, é um derivado semissintético da equinocandina B. Possui um núcleo lipopeptídeo composto por resíduos de aminoácidos presentes na estrutura da equinocandina B com alcoxitrifênica (terfenil) na sua cadeia lateral. Sua fórmula molecular é $C_{58}H_{73}N_7O_{17}$ e seu peso molecular é 1140,25 Da.

A lipofilicidade da anidulafungina é maior em comparação a caspofungina e micafungina, devido a sua cadeia lateral com maior hidrofobicidade. No entanto, a anidulafungina pode ser dissolvida em preparações manipuladas contendo água, pois a presença de grupos hidroxila e amino conferem certa solubilidade da droga em meio aquoso.

Sua atividade antifúngica é maior, quando comparada à equinocandina B. A cadeia lateral de alcoxitrifenila é essencial para a intercalação do fármaco na parede celular do fungo (PATIL *et al.*, 2017; GHANNOUM *et al.*, 2005).

A anidulafungina possui ampla atividade fungicida contra várias espécies de *Candida*, inclusive contra cepas resistentes a outros antifúngicos (VASQUEZ, 2006). Estudos *in vitro* com espécies de *Candida* obtiveram IC₅₀ que variaram de 0,03 a 1 mg/L (GIL-ALONSO *et al.*, 2016). Da mesma maneira, anidulafungina apresentou excelente atividade *in vitro* contra espécies de *Aspergillus*, com IC₅₀ para *Aspergillus fumigatus* menor que 0,03 µg/mL (VASQUEZ, 2006).

Figura 9. Estrutura da Anidulafungina

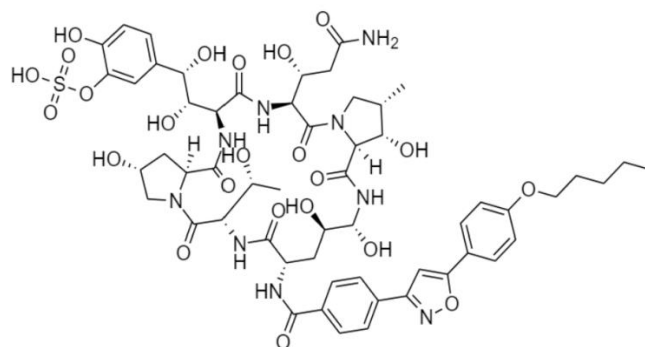


Fonte: Elaborado pelo autor.

2.3.2 MICAFUNGINA

A Micafungina (Figura 10), de fórmula molecular C₅₆H₇₀N₉NaO₂₃S, trata-se de um lipopeptídeo cíclico com coeficiente de partição (Log P) -1,5 e peso molecular de 1292,27 g/mol.

Figura 10. Estrutura da Micafungina



Fonte: Elaborado pelo autor.

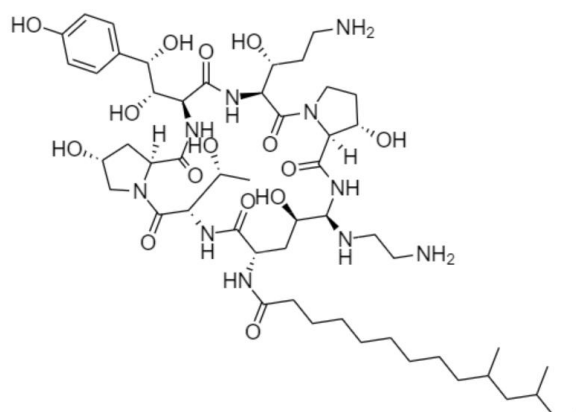
Essa molécula carrega fortes semelhanças estruturais com a pneumocandina A₀, só que com certas disparidades quanto aos grupamentos contidos em suas cadeias laterais. Tais alterações consistem em uma sulfatação no anel aromático de um resíduo de tirosina, a adição de uma amida primária e um anel de isoxazol 3,5-difenil-substituído com um grupamento pentoxila como *p*-substituente do aromático mais distal da cadeia em relação ao resto da molécula. Essa última cadeia confere significativa redução da atividade hemolítica associada à molécula da micafungina, sem reduzir o poder de sua respectiva atividade antifúngica. Quanto à alta solubilidade aquosa da micafungina, > 200 mg/mL, é possível atribuir boa parte dessa propriedade ao resíduo de tirosina sulfatado (PATIL *et al.*, 2017).

Esse fármaco possui atividade contra espécies de *Candida* e *Aspergillus* e, assim como as demais equinocandinas, sua atividade fungicida resulta da ligação não competitiva à subunidade Fks p da enzima β -(1,3)-D-glucano sintase, resultando na defasagem da síntese do β -(1,3)-D-glucano e, respectivamente, no aparecimento de uma parede celular relativamente mais frágil e permeável do fungo.

2.3.3 CASPOFUNGINA

A Caspofungina (Figura 11), de fórmula molecular C₅₆H₉₆N₁₀O₁₉ e peso molecular de 1213.44 g/mol, é um semi-sintético análogo pertencente à família equinocandina derivada da pneumocandina B₀ com excelente atividade para espécies de fungos como *Candida* sp, por exemplo.

Figura 11. Estrutura da Caspofungina



Fonte: Elaborado pelo autor.

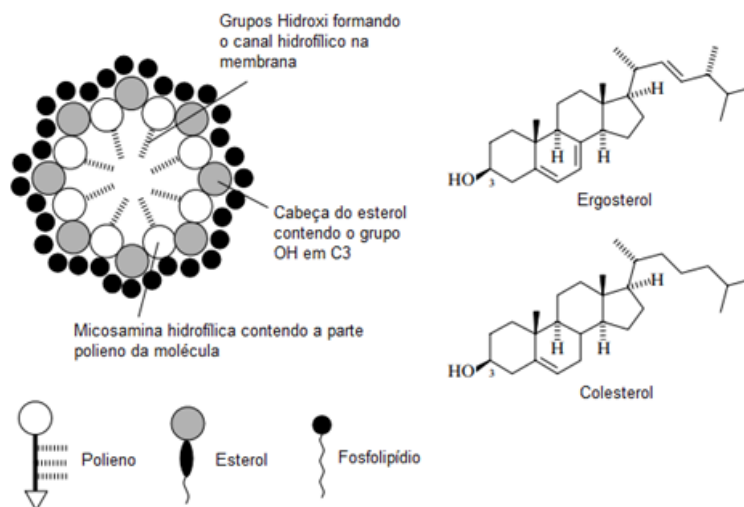
Essa molécula possui coeficiente de partição de -3,9 e é um composto hidrossolúvel, sendo tal solubilidade em água um total de 28 g/mL, a qual é aumentada pela presença do resíduo de 4-hidroxi-prolina e por sua substituição de etilenodiamina. Sua cadeia lateral de dimetilmiristoila, reduz a suscetibilidade para hemólise de hemácias e necessária para a intercalação da caspofungina na parede celular do fungo. Já o núcleo da caspofungina, com sua constituição baseada na pneumocandina B₀, supera a atividade hemolítica associada ao composto natural que origina a caspofungina (PATIL *et al.*, 2017). Quanto ao seu mecanismo de ação, ocorre sua ligação não competitiva à subunidade Fks p da enzima β -(1,3)-D-glucano sintase, bem como os demais compostos da mesma classe.

2.4 POLIENOS

Polienos são um grupo de antimicrobianos constituídos estruturalmente por uma grande molécula cíclica. Possui em sua estrutura ligações simples e duplas conjugadas, característica que nomeia o grupo, e um resíduo de carboidrato, a micosamina. Os fármacos representantes são a nistatina, natamicina e anfotericina B (AnB).

O mecanismo de ação deste grupo foi estudado baseado na AnB. Foi verificado que a porção lipofílica da molécula de AnB interage com o ergosterol contido na membrana fúngica criando canais (Figura 12). Essa modificação estrutural altera a permeabilidade da membrana fazendo com que íons K⁺ passem para o meio extracelular, levando à morte celular. A semelhança estrutural entre o ergosterol e o colesterol pode explicar a presença dos efeitos colaterais deste grupo (SOLOVIEVA; OLSUFYEVA; PREOBRAZHENSKEYA, 2011).

Figura 12. Estrutura do poro formado pelos polienos na membrana fúngica e estrutura química do ergosterol e colesterol



Adaptado de (SOLOVIEVA; OLSUFYEVA; PREOBRAZHENSKAYA, 2011)

2.4.1 ANFOTERICINA B (ANB)

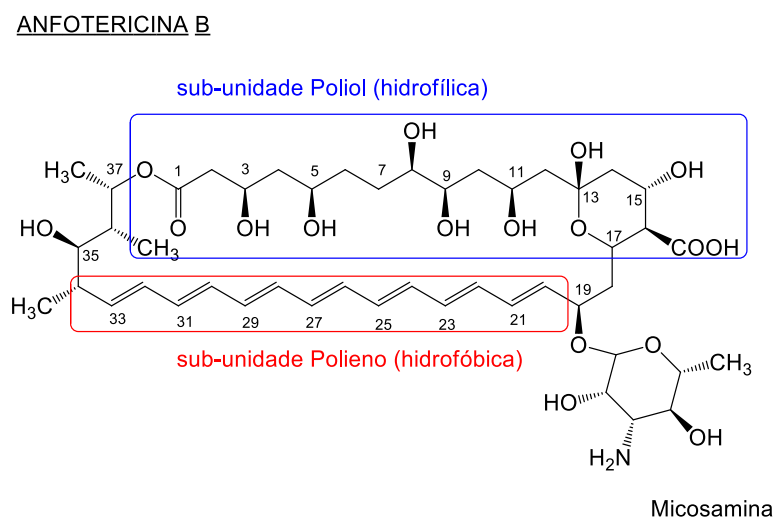
A anfotericina B (AnB) (Figura 13) é um dos mais conhecidos e importantes fármacos do grupo dos polienos, sendo descoberta em 1955 na Venezuela a partir de culturas de *Streptomyces nodosus*. É um fármaco anfifílico e que possui baixa solubilidade em água. Ela possui basicamente três formulações: Anfotericina B Desoxicolato, que possui melhor solubilidade em água, a Anfotericina B Lipossomal e a Anfotericina B complexo lipídico. Essas duas últimas formulações foram criadas com o objetivo de melhorar a nefrotoxicidade e hematotoxicidade desse fármaco, ocasionada pela alta interação com o HDL, que possui muitos receptores nos rins. As novas formulações e modificações estruturais objetivam a diminuição dos efeitos tóxicos e o aumento da potência antimicrobiana do fármaco (BANSHOYA *et al.*, 2020; FALCI; PASQUALOTTO, 2015).

A AnB possui um anel lactona de 38 membros, com um arranjo de hidroxilas e uma porção micosamina. Várias modificações estruturais foram feitas em torno dessa molécula e, foram percebidas mudanças na atividade e toxicidade. Por exemplo, a protonação do átomo de nitrogênio do grupo micosamina é essencial para a atividade biológica da AnB, por outro lado, quando o grupo carboxila (C16) está carregado negativamente, não há efeito significativo. Derivados com modificações estruturais nessas regiões apresentaram atividade semelhante a AnB e menor toxicidade (OMELCHUK; TEVYASHOVA; SHCHEKOTIKHIN, 2018). A presença de grupos neutros ou aminoderivados em C16 não interfere na atividade

da molécula. Alterações no grupo OH – (C3) levam a alterações na condutância do canal transmembrana formado pela AnB.

Análises demonstraram que modificações do grupo OH de C2' não tiveram efeito sobre a atividade antimicrobiana da molécula e que a porção micosamina é de extrema importância para a atividade do derivado de AnB. A funcionalização da posição (C13), bem como da posição (C14), não levou a substancial melhora da atividade antifúngica. A síntese de *N*-benzil derivados da AnB apresentaram toxicidade três vezes menor que a do fármaco de origem (SOLOVIEVA; OLSUFYEVA; PREOBRAZHENSKAYA, 2011).

Figura 13. Estrutura química da Anfotericina B



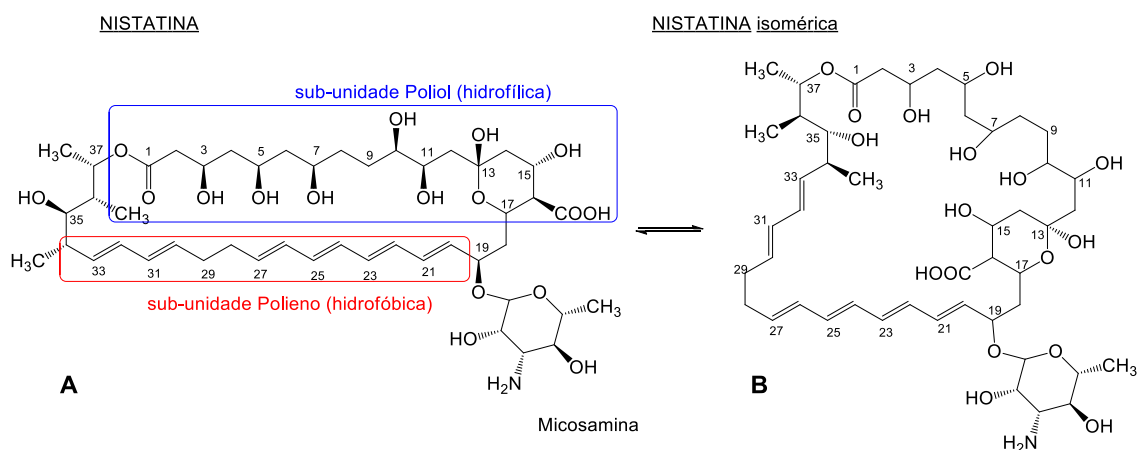
Fonte: Elaborado pelo autor.

2.4.2 NISTATINA

Nistatina (Nys) é um fungicida/fungistático de amplo espectro, mais utilizado contra candidíases (NO-HEE *et al.*, 2017). Foi o primeiro polienodescoberto, através da observação do efeito fungicida da bactéria *Streptomyces noursei* por Elizabeth Hazen, em 1994, tendo sua posterior extração e purificação realizada por Rachel Brown em 1950. (AKAIKE; HARATA, 1994). Seu tratamento contra infecções fúngicas é preferencialmente por via cutânea, mucocutânea e gastrointestinal, pois sofre pouca absorção e alta toxicidade por via oral e tópica (VANDEPUTTE *et al.*, 2012). É um macrolídeopoliênico, caracterizado por uma região hidrofílica, com grupos alinhados e externos ao anel, e o outro lado da molécula é hidrofóbico devido ao sistema de ligações duplas conjugadas, além de conter uma porção micosamina, ligada ao anel por ligação glicosídica. Sendo assim, a nistatina é uma molécula

anfipática capaz de atravessar poros aquosos e membranas lipídicas. (Figura 14) (BOLARD, 1986). Ela difere da AnB pela mudança da hidroxila na porção hidrofílica e a descontinuidade das ligações duplas conjugadas na porção hidrofóbica, devido a uma saturação entre os carbonos (C28) e (C29), o que possibilita uma dobra na estrutura, quebrando sua rigidez na região hidrofóbica (MÂNDRU *et al.*, 2011). No trabalho de Ostrosky-Zeichner *et al.* (2001), é verificado a presença de um isômero estrutural da nistatina, gerado pela interconversão deste, quando aquela é inserida em solvente orgânico ou numa matriz biológica com pH superior a 6 (Figura 14) (OSTROSKY-ZEICHNER *et al.*, 2001).

Figura 14. Estrutura química da nistatina (A) da nistatina isomérica (B).



Fonte: adaptado Ostrosky-zeichner *et al.* (2001).

Estudos quanto à uma melhor resposta farmacológica da nistatina vêm sendo realizados, dentre eles a utilização de peptídeos sintéticos adjuvantes da nistatina (LIMA *et al.*, 2020), assim como a sua incorporação em nanopartículas de prata (MONTEIRO *et al.*, 2013) e óxido de bismuto (EL-BATAL *et al.*, 2020), vem apresentando uma melhor seletividade do fármaco, ou seja, maior atividade e menor toxicidade. Outros estudos também apontam atividades antiparasitárias (JEHANGIR I. *et al.*, 2019) e promotora de regeneração neural (ROSELLÓ-BUSQUETS *et al.*, 2020), sendo um fármaco de grande interesse em novas pesquisas.

3 CONCLUSÃO

Os antifúngicos possuem estruturas químicas bastante variadas que são responsáveis por diferentes mecanismos de atividade antifúngica: a) Interação físico-química na membrana fúngica, tendo como exemplo a anfotericina B, onde

sua porção apolar interage com ergosterol da membrana, criando canais iônicos que levam à morte da célula fúngica, b) Inibição enzimática na biossíntese de ergosterol, desestruturando-se assim a membrana celular, como por exemplo os antifúngicos azólicos, c) Inibição enzimática da síntese da parede celular fúngica, que impede o crescimento do fungo, como por exemplo a caspofungina, d) Incorporação da molécula do fármaco em ácidos nucleicos fúngicos, impedindo a síntese de DNA e de proteínas fúngicas, tendo como por exemplo análogos de bases pirimidínicas, como a 5-fluorocitosina. Muitas vezes, a seletividade para células fúngicas é devido às atividades enzimáticas pronunciadas no fungo e especificidade estrutural, como a presença de parede celular, quando comparada com as células humanas, o que é benéfico, minimizando-se assim a toxicidade.

Modificações estruturais e obtenção de novos derivados híbridos, que contém duas porções de classes diferentes, na mesma estrutura, podem ser novas estratégias de obtenção de novas moléculas antifúngicas, visando o aumento da potência e também a diminuição de efeitos tóxicos, para aumentar o espectro antifúngico ou mesmo contornar a resistência que algumas cepas de fungos já apresentam aos fármacos das classes tradicionais. Assim, novas moléculas são desenvolvidas, visando aumentar o arsenal terapêutico antifúngico, incluindo a cepas fúngicas resistentes.

REFERÊNCIAS

- AKAIKE, N.; HARATA, N. Nystatin Perforated Patch Recording and Its Applications to Analyses of Intracellular Mechanisms. **The Japanese Journal Of Physiology**, v. 44, n. 5, p. 433-473, 1994. <http://dx.doi.org/10.2170/jjphysiol.44.433>.
- BANSHOYA, K. *et al.* Development of an amphotericin B micellar formulation using cholesterol conjugated styrene maleic acid copolymer for enhancement of blood circulation and antifungal selectivity. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 589, p. 119813, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119813>.
- BENNETT, J. E. Agentes antifúngicos. In: BRUNTON, Laurence L. [organizador]. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: Amgh, 2012. Cap. 57. p. 1571-1591.
- BOLARD, J. How do the polyenemacrolide antibiotics affect the cellular membrane properties? **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Reviews On Biomembranes**, v. 864, n. 3-4, p. 257-304, 1986. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4157\(86\)90002-x](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4157(86)90002-x).
- Brasil, Ministério da Saúde. Banco de dados do **Sistema Único de Saúde-DATASUS**. Disponível em <http://www.datasus.gov.br> [Acessado em 28 de novembro de 2020].
- DENNING, D. W. Echinocandin antifungal drugs. **The Lancet**, v. 362, n. 9390, p. 1142-1151, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)14472-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(03)14472-8).
- DENNING, D. W. Echinocandins: a new class of antifungal. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 49, n. 6, p. 889-891, 2002. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dfk045>.
- DUSCHINSKY, R. *et al.* Synthesis of 5-Fluoropyrimidine Metabolites. **Acta Uni Internationalis Contra Cancrum**, v. 16, n. 3-4, p. 599-604.
- EL-BATAL, A. I. *et al.* Nystatin-mediated bismuth oxide nano-drug synthesis using gamma rays for increasing the antimicrobial and antibiofilm activities against some pathogenic bacteria and Candida species. **Rsc Advances**, v. 10, n. 16, p. 9274-9289, 2020. <http://dx.doi.org/10.1039/c9ra10765g>.
- FALCI, D. R.; PASQUALOTTO, A. C. Anfotericina B: uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. **Clinical & Biomedical Research**, v. 35, n. 2, p. 65-82, 2015. <http://dx.doi.org/10.4322/2357-9730.56021>.
- FANG, X. *et al.* Novel Potentially Antifungal Hybrids of 5-Flucytosine and Fluconazole: Design, Synthesis and Bioactive Evaluation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 22, p. 4964-4969. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.10.020>.
- FRANÇA, R. R. F. *et al.* Inibidores Potentes da Enzima Esterol 14 α -desmetilase contra *Trypanosoma cruzi*. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1483-1516, 2014. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20140096>.
- GHANNOUM, M.; D'ANGELO, M. Anidulafungin. **Infectious Diseases In Clinical Practice**, v. 13, n. 4, p. 165-178, jul. 2005. <http://dx.doi.org/10.1097/01.idc.0000170684.37817.6c>.
- GIL-ALONSO, S.; *et al.* In vitro pharmacodynamic modelling of anidulafungin against Candida spp. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, v. 47, n. 3, p. 178-183, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.12.011>.

HOPE, W. W. *et al.* Molecular Mechanisms of Primary Resistance to Flucytosine in *Candida albicans*, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 11, p. 4377-4386, 2004. DOI: 10.1128/AAC.48.11.4377-4386.2004.

JAMES, K. D. *et al.* Structure-Activity Relationships of a Series of Echinocandins and the Discovery of CD101, a Highly Stable and Soluble Echinocandin with Distinctive Pharmacokinetic Properties. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 61, n. 2, 2016. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01541-16>.

JI, H. *et al.* Three-Dimensional Model of Lanosterol 14 α -Demethylase of *Candida albicans* and Its Interaction with Azole Antifungals. **Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 13, p. 2493-2505, 2000. <http://dx.doi.org/10.1021/jm990589g>.

KISGEN, Jamie. Antifúngicos. In: WHALEN, Karen. **Farmacologia ilustrada**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Cap. 42. p. 535-546.

KOFLA, G; RUHNKE, M. Pharmacology and metabolism of anidulafungin, caspofungin and micafungin in the treatment of invasive candidosis - review of the literature. **European Journal Of Medical Research**, v. 16, n. 4, p. 159, 2011. <http://dx.doi.org/10.1186/2047-783x-16-4-159>.

KOHLER, J. R.; CASADEVALL, A.; PERFECT, J. The Spectrum of Fungi That Infects Humans. **Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine**, [S.L.], v. 5, n. 1, 2014. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a019273>.

LEVINSON, W. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 12ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

LIMA P.G. *et al.* Anticandidal activity of synthetic peptides: mechanism of action revealed by scanning electron and fluorescence microscopies and synergism effect with nystatin. **Journal Of Peptide Science**, v. 26, n. 6, p. e3249, 2020. <http://dx.doi.org/10.1002/psc.3249>.

MÂNDRU, M. *et al.* Sustained release of nystatin from polyurethane membranes for biomedical applications. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures.**, v. 6, n. 3, p. 1227-1238, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s10847-010-905-2> (2010).

MATHEW, B. P.; NATH, M. Recent Approaches to Antifungal Therapy for Invasive Mycoses. **Chemmedchem**, v. 4, n. 3, p. 310-323, 2009. <http://dx.doi.org/10.1002/cmdc.200800353>.

MONTEIRO, D.R. *et al.* Antifungal activity of silver nanoparticles in combination with nystatin and chlorhexidine di-gluconate Against *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms. **Mycoses**, v. 56, n. 6, p. 672-680, 2013. <http://dx.doi.org/10.1111/myc.12093>.

NO-HEE, P; KI-HYUK, S; MO, K. Antifungal and Antiviral Agents. **Pharmacology And Therapeutics For Dentistry**, p. 488-503, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-39307-2.00034-5>.

OMELCHUK, O. A.; TEVYASHOVA, A. N.; SHCHEKOTIKHIN, A. E. Recent advances in antifungal drug Discovery based on polyenemacrolide antibiotics. **Russian Chemical Reviews**, v. 87, n. 12, p. 1206-1225, 2018. <http://dx.doi.org/10.1070/rcr4841>.

OSTROSKY-ZEICHNER, L. *et al.* Differential Antifungal Activity of Isomeric Forms of Nystatin. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 45, n. 10, p. 2781-2786, 2001. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.45.10.2781-2786.2001>.

PATIL, A.; MAJUMDAR, S. Echinocandins in antifungal pharmacotherapy. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, v. 69, n. 12, p. 1635-1660, 2017. <http://dx.doi.org/10.1111/jphp.12780>.

SOLOVIEVA, S. E.; OLSUFYEVA, E. N.; PREOBRAZHENS KAYA, M. N. Chemical modification of antifungal polyenemacrolide antibiotics. **Russian Chemical Reviews**, v. 80, n. 2, p. 103-126, 2011. <http://dx.doi.org/10.1070/RC2011v080n02ABEH004145>.

SOUZA, Z. A. **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI E ANTIFÚNGICA DE NOVOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS**. 2018. 80 + [42] f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Química - Química Orgânica, Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SFSA-B4QUKP>. Acesso em: 18 nov. 2020.

VAZQUEZ, J. A.; SOBEL, J. D. Reviews Of Anti-infective Agents: anidulafungin. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, n. 2, p. 215-222, 2006. <http://dx.doi.org/10.1086/505204>.

VANDEN BOSSCHE, H. *et al.* Mechanisms and Clinicall mpact of Antifungal Drug-Resistance. **Journalof MedicalandVeterinaryMycology**, v. 32, n. 1, p. 189-202, 1994. <https://doi.org/10.1080/02681219480000821>

VANDEN BOSSCHE, H.; Mechanisms of Antifungal Resistance. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 14, p. 44-49, 1997.

VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections. **International Journal Of Microbiology**, v. 2012, p. 1-26, 2012. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/713687>.

VERMES, A. *et al.* Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, n. 2, p. 171-179, 2000. <https://doi.org/10.1093/jac/46.2.171>.

WU, JUNQI *et al.* Molecular docking, design, synthesis and antifungal activity study of novel triazole derivatives. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 1840-1846, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.10.081>.

CAPÍTULO 09

ASPECTOS CLÍNICOS, DIAGNÓSTICOS, ESTRATÉGIAS DE PREVENÇÃO E TRATAMENTOS DA CRIPTOCOCOSE

Suéllen Pedrosa da Silva

Doutoranda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: suellenpedrosasilva@gmail.com

Lidiane Pereira de Albuquerque

Professora Adjunta da Universidade Federal do Piauí
Instituição: Universidade Federal do Piauí - Departamento de Bioquímica e Farmacologia
Endereço: Avenida Universitária, Lado Ímpar - Ininga, Teresina - PI, Brasil.
E-mail: lidianealbuquerque@ufpi.edu.br

Gustavo Ramos Salles Ferreira

Doutorando em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: gustavo.rsferreira@gmail.com

Pollyanna Michelle da Silva

Doutora em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: pollyanna.michelle@gmail.com

Thamara Figueiredo Procópio

Doutora em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: thamarafp@yahoo.com.br

Emmanuel Viana Pontual

Professor Adjunto da Universidade Federal Rural de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal Rural de Pernambuco - Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal. Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, Recife - PE, Brasil.
E-mail: emmanuel.pontual@ufrpe.br

Patrícia Maria Guedes Paiva

Professora Titular da Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: patricia.paiva@ufpe.br

Thiago Henrique Napoleão

Professor Associado da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: thiago.napoleao@ufpe.br

RESUMO: *Cryptococcus* (Basidiomycota) é um gênero de leveduras de ocorrência ubíqua e causadoras da criptococose, infecção iniciada pela inalação de esporos disseminados por aves, que se alojam nos pulmões e se replicam e disseminam pelo organismo hospedeiro, principalmente em indivíduos imunossuprimidos. *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* são as espécies oportunistas causadoras de enfermidades em humanos. A patogênese e a virulência de *Cryptococcus* são resultados de uma eficiente adaptação às condições do organismo hospedeiro, de mecanismos de evasão da resposta imune e da produção de fatores de virulência, incluindo a produção de células titãs, da cápsula polissacarídica, de melanina, bem como a secreção de enzimas relacionadas à invasão e/ou evasão do sistema imune do hospedeiro. As formas clínicas mais comuns de infecção por *Cryptococcus* envolvem manifestações do sistema nervoso central (SNC), pulmonares e cutâneas. No SNC podem ser identificados quadros de meningite ou meningoencefalite aguda, subaguda ou crônica, com quadros de hidrocefalia, paralisia dos nervos cranianos e hipertensão intracraniana, cegueira e morte. Na forma pulmonar podem ocorrer sérias lesões no trato respiratório, enquanto lesões no rosto, pescoço e extremidades superiores, que podem sugerir sepse, são observadas na forma cutânea. A elevada letalidade e morbidade das infecções por *Cryptococcus*, sua alta virulência e a precária notificação e acompanhamento de novos casos no Brasil são fatores preocupantes. Esta revisão fornece uma discussão sobre a estrutura celular de *Cryptococcus* sp. com ênfase nos seus fatores de virulência; aspectos clínicos da criptococose; técnicas de diagnóstico; bem como estratégias de tratamento e prevenção da doença.

ABSTRACT: *Cryptococcus* (Basidiomycota) is a genus of yeasts that are ubiquitous and cause cryptococcosis, an infection initiated by the inhalation of spores spread by birds, which lodge in the lungs and replicate and spread through the host organism, especially in immunosuppressed individuals. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* are the opportunistic species that cause diseases in humans. The pathogenesis and virulence of *Cryptococcus* are the result of an efficient adaptation to the conditions of the host organism, mechanisms of evasion of the immune response and the production of virulence factors, including the production of titan cells, the polysaccharide capsule, melanin, as well as the secretion of enzymes related to the invasion and/or evasion of the host's immune system. The most common clinical forms of *Cryptococcus* infection involve manifestations of the central nervous system (CNS), lung and skin. In the CNS, acute, subacute or chronic meningitis or meningoencephalitis can be identified, with hydrocephalus, cranial nerve palsy and intracranial hypertension, blindness and death. In the pulmonary form, serious lesions in the respiratory tract may occur, while lesions on the face, neck and upper extremities, which may suggest sepsis, are observed in the cutaneous form. The high lethality and morbidity of *Cryptococcus* infections, its high virulence and the precarious notification and monitoring of new cases in Brazil are worrisome factors. This review provides a discussion of the cell structure of *Cryptococcus* sp. with an emphasis on its virulence factors; clinical aspects of

cryptococcosis; diagnostic techniques; as well as disease treatment and prevention strategies.

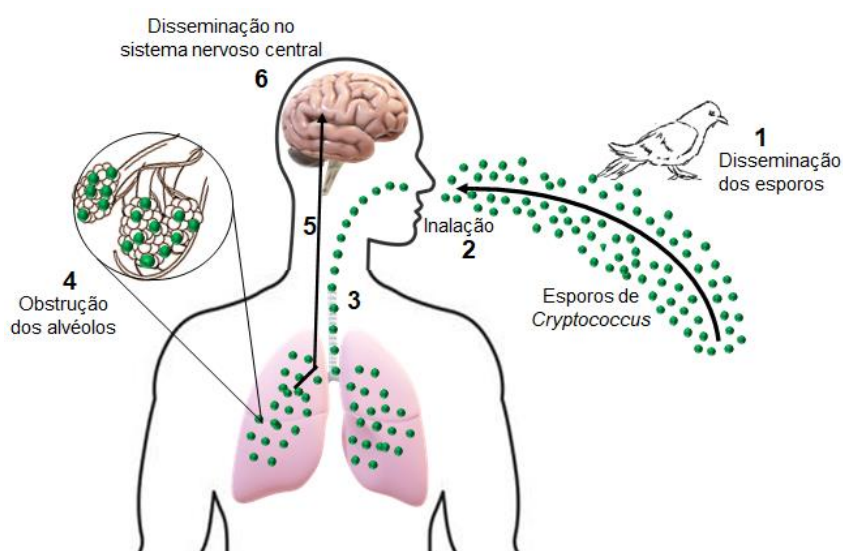
1 INTRODUÇÃO

Cryptococcus é um gênero de leveduras do Filo Basidiomycota, de metabolismo predominantemente respiratório, amplamente encontradas no meio ambiente e que possuem como característica fenotípica principal a presença de uma cápsula polissacarídica, a qual envolve o corpo celular, que é um de seus principais fatores de virulência (CASADEVALL; PERFECT, 1998; CASADEVALL *et al.*, 2019).

Dentre as espécies desse gênero, as duas conhecidas como patógenos humanos são *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, sendo *C. neoformans* a maior causadora de enfermidades em humanos. Tanto *C. Neoformans* quanto *C. gattii* são consideradas patógenos oportunistas, causando processos infecciosos principalmente em pacientes imunossuprimidos, como pacientes transplantados e portadores de doenças imunossupressoras, como a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (RAJASINGHAM *et al.*, 2017; ZARAGOZA, 2019).

A infecção causada por *Cryptococcus* é denominada criptococose e se dá através da inalação de esporos da levedura (Figura 1) que podem ser carregados e disseminados no ambiente através de algumas espécies de aves. Esses esporos se alojam primeiramente no pulmão onde, em indivíduos com o sistema imune suprimido, conseguem se replicar e, nos alvéolos, formam granulomas onde as células de *Cryptococcus* podem permanecer latentes ou serem reativadas. Em seguida, células fúngicas podem disseminar pela corrente sanguínea carregadas por células fagocitárias, se espalhando por todo o organismo hospedeiro. Células fúngicas que não tenham sido fagocitadas (*Cryptococcus* extracelulares) podem permanecer nos pulmões ou atingir a corrente sanguínea por via transcelular, ou seja através da membrana das células endoteliais. nos capilares cerebrais. *Cryptococcus* atravessa a barreira hematoencefálica por mecanismo paracelular (através do espaço intercelular), transcelular ou carregadas por células do sistema imune infectadas. A principal manifestação clínica ocorre quando esses fungos atingem o cérebro causando meningoencefalite, uma doença grave e de alto índice de mortalidade, causando óbito de cerca de 20% até 50% dos pacientes acometidos (LITTMAN; BOROK, 1968; CASADEVALL; PERFECT, 1998; HEITMAN *et al.*, 2010).

Figura 1. Esquema mostrando como ocorre a criptococose, uma infecção por *Cryptococcus*. Após a disseminação dos esporos por algumas espécies de aves (1), ocorre a inalação (2) por um indivíduo. Os esporos se alojam inicialmente nos pulmões (3) e, em indivíduos com o sistema imune suprimido, se replicam causando obstrução dos alvéolos (4) e em seguida disseminam por todo o organismo, inclusive atingindo o sistema nervoso central (5 e 6) onde podem causar meningoencefalite e levar o indivíduo ao óbito.



Outro fator relevante para o alto índice de mortalidade de infecções causadas por *Cryptococcus* é o fato de a terapia antifúngica ser bastante limitada. Antifúngicos como as equinocandinas não são ativos frente a *C. Neoformans* e o tratamento se baseia praticamente no uso do fluconazol e da anfotericina B, porém, há diversos relatos de cepas de *Cryptococcus* resistentes a estes medicamentos. Essa última, apesar de ser bastante ativa para essas leveduras, tem seu uso bastante limitado devido a sua toxicidade em uso prolongado. Combinações de Anfotericina B com algumas formulações lipossomais, que reduzem seus efeitos tóxicos, apresentam um alto custo. Sendo assim, é necessária a busca por tratamentos alternativos para as doenças causadas por esse fungo, bem como pesquisas para aprofundar o entendimento do processo de virulência desse patógeno (BONGOMIN *et al.*, 2018; ZARAGOZA, 2019).

2. EPIDEMIOLOGIA

Por ser mais prevalente em pacientes imunocomprometidos, a epidemiologia da criptococose está muito relacionada a pacientes com AIDS, sendo os dados descritos principalmente para meningite criptocócica. Estimativas globais de 2008,

anteriores à expansão da terapia antirretroviral, indicavam 957.900 casos por ano, com aproximadamente 624.700 mortes (PARK *et al.*, 2009). A África subsaariana é a região que mais contribui com essa estatística, provavelmente devido ao fato de ser a região que mais reporta estimativas sobre esse tema, além de apresentar a maior incidência de AIDS (VIDAL *et al.*, 2013). A América Latina é a terceira região com maior número de casos, com mais de 54.400 casos anualmente e em torno de 55% de mortalidade. Os casos de mortalidade no Brasil e na Argentina variam entre 30–63% (VIDAL *et al.*, 2013). Mesmo após a inserção da terapia antirretroviral no Brasil, a criptococose continua sendo a principal infecção fúngica invasiva com alta mortalidade, variando de 32% a 60% (OLIVEIRA *et al.*, 2014; NUNES *et al.*, 2018). Contudo, as informações epidemiológicas no país são limitadas, uma vez que a doença não é de notificação compulsória.

Globalmente, o número de mortes em decorrência da criptococose reduziu em aproximadamente 45% em função da expansão da terapia antirretroviral. No entanto, o acesso a essa terapia em países de baixa e média renda é mais escarço e, conseqüentemente, altas taxas de mortalidade (50–100%) ainda estão presentes. Já em países mais desenvolvidos essa taxa varia entre 10 e 30% (RAJASINGHAM *et al.*, 2017, WILLIAMSON, 2017, WILLIAMSON *et al.*, 2017). Atualmente, o número de casos está aumentando entre os pacientes não portadores de AIDS, porém imunocomprometidos, como aqueles transplantados, afetados com doenças autoimunes e com doenças hematológicas malignas, bem como pacientes sem nenhum outro fator de risco, exceto serem expostos ao patógeno (BRATTON *et al.*, 2012; HENAO-MARTÍNEZ E BECKHAM, 2015).

Dessa forma, a implementação de estratégias tanto à nível de saúde pública quanto à nível individual são necessários para reduzir morbidade e mortalidade. Dentre essas estratégias, estão: 1) diagnóstico e tratamento precoce do HIV; (2) triagem e tratamento preventivo para criptococose subclínica; (3) diagnóstico otimizado de meningite criptocócica; e (4) tratamento otimizado da meningite criptocócica (VIDAL *et al.*, 2013).

3. MECANISMOS DE VIRULÊNCIA

A patogênese e os mecanismos de virulência de *Cryptococcus* são resultados: (I) da eficiente adaptação às condições do organismo hospedeiro incluindo disponibilidade de nutrientes, pH e radicais livres; (II) dos mecanismos de

evasão da reposta imune; e (III) da produção de fatores de virulência. Embora essas características sejam compartilhadas entre outros patógenos fúngicos, *Cryptococcus* spp. merecem uma atenção especial devido ao número de estratégias utilizadas para sua adaptação (ZARAGOZA, 2019). Os principais fatores de virulência de *Cryptococcus* são a produção de células Titãs, da cápsula polissacarídica, de melanina e a secreção de várias proteínas, tais como: urease, oxidases e proteases (ALSPAUGH *et al.*, 2015). As células Titãs são um morfotipo de tamanho aumentado que resulta da modificação da levedura no pulmão. Elas não são fagocitadas e são capazes de gerar células filhas de tamanho normal, o que sugere o seu envolvimento na disseminação da levedura (DAMBUZA *et al.*, 2018).

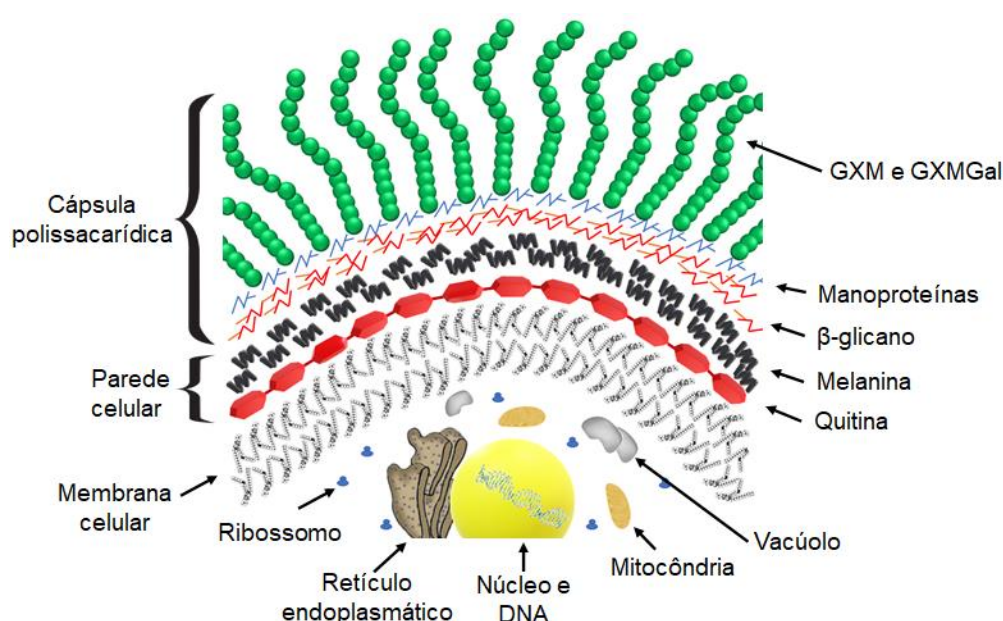
A cápsula (Figura 2) é composta principalmente pelos polissacarídeos glucuronoxilomanana (GXM) e galactoxilomanana (GXMgal), mas contém ácido hialurônico (que facilita a entrada da célula fúngica no endotélio) e, em menor quantidade, manoproteínas e estruturas semelhantes à quitina (RODRIGUES *et al.*, 2008). É organizada em fibras ramificadas que se ligam à parede celular e umas às outras por meio de ligações não covalentes. A cápsula confere proteção contra a ação de radicais livres, além de inibir a fagocitose, uma vez que dificulta a ligação entre os receptores dos macrófagos e epítomos cognatos presentes na parede celular de *Cryptococcus*. Adicionalmente, a GXM inibe a migração dos neutrófilos e a proliferação e saída dos leucócitos dos vasos sanguíneos, reduzindo a expressão de receptores de quimiocinas. Os polissacarídeos da cápsula também inibem a aglutinação das células de *Cryptococcus* e são potentes indutores de apoptose, o que aumenta a importância dessa estrutura como fator de virulência (ZARAGOZA, 2020).

A melanina (Figura 2) também confere resistência aos radicais livres, à radiação ionizante e ao calor, além de reduzir a susceptibilidade de *Cryptococcus* a drogas (NOSANCHUK, 2006). Foi demonstrado que a melanina criptocócica aumenta a captura de calor, contribuindo para o crescimento a baixas temperaturas, está envolvida na disseminação do pulmão para o cérebro, altera a produção de citocinas no hospedeiro, protege contra macrófagos e induz respostas pró-inflamatórias (MEDNICK *et al.*, 2005).

A urease catalisa a degradação de ureia em CO₂ e amônia e é requerida para a invasão do cérebro pelo fungo, pois acredita-se que a amônia promove a adesão de *C. neoformans* por aumentar a expressão de adesinas no endotélio ou por

toxicidade direta à barreira hematoencefálica (OLSZEWSKI *et al.*, 2004). Adicionalmente, a urease favorece a aptidão do fungo em valores de pH levemente alcalinos e representa uma ferramenta diagnóstica para criptococose (ZIMMER *et al.*, 1979).

Figura 2. Organização estrutural de *Cryptococcus* enfatizando a presença de fatores de virulência. A cápsula polissacarídica é composta majoritariamente pelos polissacarídeos glucuronoxilomanana (GXM) e galactoxilomanana (GXMgal), os quais desempenham funções importantes como modulação da resposta imune do hospedeiro, inibição de fagocitose pelos macrófagos e supressão da proliferação de linfócitos. A parede celular contendo quitina e melanina, um pigmento escuro que confere resistência a radicais livres, radiação ionizante, ao calor e à ação de drogas. Componentes celulares comuns para o Domínio Eukarya são também apresentados.



As proteases também são importantes para a capacidade invasiva de *Cryptococcus* e as oxidases possuem um papel essencial na absorção do íon ferro, em competição com o organismo hospedeiro, que é necessário como cofator de muitas enzimas; em *C. neoformans*, outras proteínas são necessárias para a absorção eficiente de ferro, incluindo ferro permeases e a glicoproteína quelante de grupos heme Cig1 (BAIRWA *et al.*, 2017).

Esses fungos também produzem fosfolipases e proteinases que estão relacionadas à invasão e/ou evasão do sistema imunológico do hospedeiro, favorecendo a disseminação hematogênica e o acometimento das meninges. No Brasil, foram descritas uma intensa produção destas enzimas em amostras clínicas e ambientais de *C. neoformans* e *C. gattii* (PESSOA *et al.*, 2012). Além disso, espécies dos gêneros *Cryptococcus* e *Candida* são os fungos formadores de

biofilme mais comuns em infecções nosocomiais. Todos estes fatores contribuem para a persistência de infecções crônica devido à resistência adquirida aos mecanismos imunológicos do hospedeiro e à terapia antifúngica (QIAN *et al.*, 2020).

4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DE INFECÇÕES CAUSADAS POR *Cryptococcus*

A análise das manifestações clínicas atreladas a infecções humanas causadas por *Cryptococcus* é de grande importância, podendo ser utilizada junto a exames laboratoriais com a finalidade de se obter um diagnóstico preciso, bem como determinar a gravidade da doença. Para essa patologia, os sintomas irão variar, podendo estar relacionados principalmente a alterações do sistema nervoso central (SNC), pulmonares e cutâneas (SILVEIRA *et al.*, 2018).

Quanto às manifestações clínicas associadas ao SNC, podem ser identificados quadros de meningite ou meningoencefalite aguda, subaguda ou crônica, sendo estas caracterizadas principalmente pela ocorrência de cefaleia, febre e alterações do nível de consciência. Diante disso, pesquisas têm demonstrado uma alta incidência de criptococose neurológica, podendo chegar a 80% dos casos de infecções por *Cryptococcus* (COLOMBO *et al.*, 2015). Nascimento *et al.* (2020), em estudo realizado no Hospital Estadual de Doenças Tropicais, relataram que 64,50% dos infectados por *Cryptococcus* spp. de 2006 a 2018 possuíam como principal manifestação a neurocriptococose.

As complicações frequentemente relacionadas a quadros neurológicos de criptococose são a hidrocefalia, paralisia dos pares cranianos e hipertensão intracraniana, sendo essa última responsável por acometer aproximadamente 50% dos pacientes que convivem com a meningite criptocócica. A hipertensão intracraniana pode ainda evoluir causando cegueira e em casos mais graves culminar no óbito do paciente, estando diretamente ligada ao aumento da morbimortalidade dessa infecção (HURTADO *et al.*, 2019).

A segunda forma mais frequente de criptococose é a pulmonar, sendo assintomática ou sintomática. Nesse segundo caso, os sintomas pulmonares podem ser equivocadamente confundidos com gripe, tuberculose e histoplasmose, visto que os pulmões e alvéolos são as partes mais lesadas. Já a forma assintomática da doença geralmente é decorrente de infecções pulmonares que se desenvolvem principalmente na região subpleural onde os propágulos fúngicos se depositam nos

alvéolos periféricos (RÊGO *et al.*, 2018). Vale ressaltar que a criptococose pulmonar acomete principalmente homens e está bastante associada a casos de coinfeção de pacientes imunodeprimidos, sendo acompanhada por sintomas como dor torácica, febre e distúrbios respiratórios agudos (TELES, 2017).

A criptococose cutânea geralmente ocorre através de disseminação, sendo foco secundário da doença podendo indicar sepse. No entanto, também pode ter origem primária, se desenvolvendo após inoculação traumática. As manifestações da forma cutânea podem ser observadas no rosto, pescoço e extremidades superiores através de lesões nodulares e granulomatosas, pápulas umbilicadas, vesículas herpetiformes, ulcerações, além de prurido e dor (MARANHÃO *et al.*, 2020). As pápulas umbilicadas seriam mais recorrentes na criptococose cutânea disseminada enquanto outras manifestações clínicas como ulceração e celulite estariam mais presentes na criptococose cutânea do tipo primária. As lesões cutâneas são muito variadas podendo ser insuficientes para o diagnóstico devendo se considerar o histórico clínico do paciente além de exames laboratoriais (SANCHES *et al.*, 2018).

5. DIAGNÓSTICO, SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA E TRATAMENTO

O diagnóstico da criptococose pode ser realizado por vários métodos, incluindo: isolamento em meio de cultura, a partir de amostras do trato respiratório (como escarro, fluido de lavagem broncoalveolar ou tecido pulmonar); e detecção do antígeno do polissacarídeo capsular criptocócico (CrAg) no sangue, líquido cefalorraquidiano (LCR) ou urina. Pacientes imunocomprometidos com criptococose pulmonar devem ser investigados para a doença no SNC (MAZIARZ; PERFECT, 2016). A eficiência dessas técnicas varia de acordo com o indivíduo e o sistema orgânico envolvido. Paralelamente, existem avanços nas abordagens proteômicas em diagnóstico microbiológico e métodos como a espectrometria de massa por ionização e dessorção a laser assistida por matriz e analisador de tempo-de-voo (MALDI-TOF) têm sido avaliados na identificação de *Cryptococcus* spp. (FIRACATIVE *et al.*, 2012).

Para meningoencefalite criptocócica, o exame do LCR geralmente revela uma pleocitose linfocítica, embora o número real de células possa ser baixo ou normal em pacientes com disfunção imunológica grave. Os níveis de proteína no LCR tendem a ser elevados, enquanto os níveis de glicose diminuem (VILCHEZ *et al.*,

2002). A neuroimagem é necessária para descartar o comprometimento do cérebro, que pode se manifestar como criptococoma, hidrocefalia ou focos de atenuação anormalmente reduzida, realce pelo contraste e edema. Lesões de massa semelhantes a abscessos têm sido relatadas, mais comumente nos gânglios da base, tálamo e cerebelo, em tomografias computadorizadas cranianas em até 58% dos casos de criptococose causada por *C. gattii* (CHEN *et al.*, 2012).

A ressonância magnética (RM) é mais sensível que a tomografia computadorizada, especialmente para a detecção de pequenas lesões (SMITH *et al.*, 2008). A espectroscopia por ressonância magnética nuclear pode ser associada à RM para localizar criptococomas de 2 cm ou mais de diâmetro e sua impressão digital metabólica em um único exame. Essa abordagem é estabelecida para o diagnóstico não invasivo de tumores cerebrais e abscessos piogênicos (SORRELL; HIMMELREICH, 2008).

A pneumonia criptocócica pode ser diagnosticada por cultura de escarro e fluido de lavagem broncoalveolar. Os resultados das hemoculturas e dos testes de CrAg em soro são normalmente negativos, especialmente para doença pulmonar isolada (SINGH *et al.*, 2008). O teste de aglutinação em látex do lavado broncoalveolar foi descrito, embora o ensaio ainda não tenha sido formalmente estudado nem esteja licenciado para este propósito (SENGHOR *et al.*, 2018). A avaliação de meningoencefalite criptocócica, incluindo punção lombar, deve ser feita em todos os pacientes imunocomprometidos com pneumonia criptocócica. Um exame físico completo juntamente com antígeno CrAg e hemoculturas fúngicas devem ser realizados para avaliar a disseminação da doença (LEE; GOLDMAN, 2021).

O exame de imagem do tórax pode fornecer o primeiro indício da criptococose, que mais comumente se manifesta como um ou mais criptococomas circunscritos (CHEN *et al.*, 2012). Criptococomas podem aparecer em qualquer região do pulmão e variarem de 1 a 8 cm de diâmetro, embora lesões maiores (até 10 cm de diâmetro) tenham sido relatadas (GARRETT *et al.*, 2011). Raramente, derrame pleural, abscesso, cavitação e linfadenopatia são observados nos exames. Para nódulos e massas pulmonares, uma biópsia é necessária para confirmar o diagnóstico. A coloração de Mucicarmim destaca a cápsula mucopolissacarídica do fungo e ajuda a distinguir este organismo de outras leveduras (HARRIS *et al.*, 2013).

Para o diagnóstico da criptococose cutânea, geralmente são necessárias

biópsia e cultura da área atingida. As lesões cutâneas são geralmente uma manifestação da disseminação da doença e os pacientes frequentemente apresentam níveis elevados do antígeno CrAg. Todos os pacientes imunocomprometidos com este tipo de criptococose devem passar por uma avaliação completa para excluir a disseminação, incluindo uma punção lombar para descartar envolvimento do SNC (LEE e GOLDMAN, 2021).

Vários métodos baseados em anticorpos estão disponíveis para detecção do antígeno CrAg, incluindo aglutinação em látex, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e ensaio de fluxo lateral. Foi relatado que a sensibilidade desses testes em LCR varia entre 93% e 100% (HOANG *et al.*, 2004). As reações falso-negativas a esses ensaios são bastante incomuns, no entanto podem ser observadas na fase inicial da doença e em casos níveis de CrAg extremamente altos quando o ensaio de antígeno em látex é utilizado. Reações falso-positivas também são muito incomuns, contudo, pode ocorrer reatividade cruzada com polissacarídeos capsulares de outros microrganismos, tais como *Trichosporon* (levedura) e *Capnocytophaga* (bactéria Gram-negativa). Os testes de detecção de CrAg fornecem medições semiquantitativas do antígeno no LCR e no soro. Altos níveis iniciais de CrAg no LCR estão geralmente associados a cargas fúngicas mais elevadas e a um pior prognóstico (DATTA *et al.*, 2009). Infelizmente, os ensaios de detecção de antígeno têm utilidade limitada na medição da resposta à terapia.

Na prática clínica, os métodos moleculares raramente são necessários para confirmar o diagnóstico de criptococose. Na situação incomum em que os métodos fenotípicos fornecem um resultado ambíguo, o sequenciamento de DNA de isolados fúngicos, a PCR multiplex e outros testes moleculares também podem ser empregados. Inclusão de *primers* específicos para *Cryptococcus* em ensaios multiplex baseados em diagnósticos sindrômicos (por exemplo, septicemia e infecção de LCR) ou para análise de hemoculturas ou amostras de biópsia, onde o diagnóstico diferencial inclui a doença fúngica, tem sido válido em alguns laboratórios (CHEN *et al.*, 2014).

Segundo as diretrizes da *Infectious Diseases Society of America*, o tratamento para a meningoencefalite criptocócica consiste em três fases sucessivas: indução, consolidação e manutenção. Na indução, os pacientes são tratados com uma combinação de anfotericina B e flucitosina. Estudos têm mostrado que formulações lipídicas de anfotericina são terapeuticamente equivalentes e podem ser mais bem

toleradas em indivíduos com ou em risco de doença renal (PERFECT *et al.*, 2010). Portanto, deve-se considerar o uso de preparações lipídicas ou lipossomais em pacientes com risco de disfunção renal, incluindo os receptores de transplantes que recebem inibidores de calcineurina e para aqueles que não toleram a anfotericina convencional. A duração da fase de indução é normalmente de duas semanas. Durações mais longas (de quatro a seis semanas) devem ser consideradas nas seguintes circunstâncias: em pacientes que não receberam flucitosina como parte inicial da terapia; e naqueles com doença neurológica complexa (incluindo aqueles com criptocomas) (SUN *et al.*, 2010).

Recentemente a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou novas diretrizes ampliando a terapêutica, no caso de indisponibilidade do anfotericina B, o fluconazol em alta dose pode ser usado combinado com flucitosina oral. Na África, 80% das infecções por *Cryptococcus* são tratadas com monoterapia de fluconazol (ASSOGBA *et al.*, 2015; BERTOUT *et al.*, 2020).

Após a fase de indução, inicia-se a etapa de consolidação (com duração de 8 semanas) com fluconazol e, em seguida, finaliza-se o tratamento com a fase de manutenção utilizando também o fluconazol. Esta abordagem está associada a uma taxa de mortalidade inferior a 10% e uma resposta específica do paciente ao fungo maior que 70%. Em indivíduos infectados pelo HIV, a duração total da terapia antifúngica é de no mínimo 12 meses. Para os receptores de transplante de órgão sólido, a fase de manutenção do fluconazol deve ser de 6 meses a 1 ano (SUN *et al.*, 2010). Pacientes com criptococose pulmonar grave ou com evidência de disseminação da doença devem ser tratados da mesma forma que aqueles com meningoencefalite criptocócica. Para os pacientes com criptococose pulmonar aguda, recomenda-se a terapia com fluconazol durante 6 a 12 meses (PERFECT *et al.*, 2010).

A infecção refratária pode ocorrer e geralmente está relacionada ao estado de imunocomprometimento grave do paciente mais do que à resistência antifúngica (PFALLER *et al.*, 2005). Clinicamente, a melhor opção é confirmar o diagnóstico e estabelecer a adesão ao medicamento e a ausência de interações que limitem a exposição ao medicamento. Terapias alternativas estão disponíveis, incluindo voriconazol e posaconazol, embora as respostas não sejam muito favoráveis (SABBATANI *et al.*, 2004 ; PITISUTTITHUM *et al.*, 2005).

A resistência fúngica pode ser classificada como hereditária ou transitória. A

resistência hereditária está ligada a mutações pontuais em alvos de medicamento ou transportadores de medicamentos (RHODES *et al.*, 2017; BOYCE *et al.*, 2017). A resistência transitória ou heterorresistência é uma resistência adquirida frente a altas concentração dos agentes antifúngicos, onde subpopulações de células são capazes de proliferar em altas concentrações, mas perdem sua resistência quando o estresse medicamentoso é removido. Este tipo de resistência é mediado por aneuploidia de cromossomos (GERSTEIN *et al.*, 2015; STONE *et al.*, 2019).

Infecções progressivas e a redução da sobrevida de pacientes com criptococose estão relacionadas com a suscetibilidade reduzida ao fluconazol (BONGOMIN *et al.*, 2018; PONZIO *et al.*, 2019), que pode estar relacionada à superexpressão do gene ERG11 que codifica a enzima lanosterol 14- α -desmetilase ou mutações no citocromo P450 lanosterol 14- α -desmetilase. Esta enzima é o principal alvo das drogas azólicas e é fundamental na biossíntese do ergosterol, um importante componente da parede celular do fungo (RODERO *et al.*, 2003; SIONOV *et al.*, 2012; SELB *et al.*, 2019). Outro mecanismo de resistência aos antifúngicos azólicos é a superexpressão de proteínas da membrana plasmática que bombeiam azóis para fora da célula (GAGO *et al.*, 2017). Vários estudos têm relatado a heterorresistência ao fluconazol em *C. neoformans*, *C. gattii* e *Cryptococcus deuterogattii* (SIONOV *et al.*, 2013; GAST *et al.*, 2013; BERTOUT *et al.*, 2020). A resistência aos azóis pode surgir durante terapia antifúngica ou pode estar associada ao uso de azóis agrícolas (STONE *et al.*, 2019).

O arsenal limitado de agentes terapêuticos, juntamente com a toxicidade e o desenvolvimento de resistência fúngica aos fármacos, instiga a investigação de novos medicamentos. A atividade neste ramo destaca as potenciais rotas para a descoberta de novos antifúngicos ou para o reaproveitamento de moléculas já existentes e que mostram atividade anticriptocócica. Um antifúngico ideal deve ter como alvo um fator de virulência ou um componente fúngico que seja essencial para a viabilidade do microrganismo. Esse medicamento deve ser fungicida quando utilizado sozinho ou quando combinado com o fluconazol; deve ter boa biodisponibilidade por via oral; e deve ser capaz de entrar em nichos criptocócicos dentro do hospedeiro (como fagócitos e o SNC) (MAY *et al.*, 2016).

Um alvo conhecido para uma droga antifúngica é a parede celular criptocócica. Infelizmente, a última classe de antifúngicos que são ativos contra a parede celular, como os inibidores da β -1,3-D-glicano sintase (conhecidos como

equinocandinas) não possuem atividade anticriptocócica satisfatória. No entanto, a síntese de um outro componente da parede celular, as manoproteínas ancoradas ao glicosilfosfatidilinositol, é inibida pela molécula ativa denominada E1210 que possui atividade *in vitro* contra *Cryptococcus* spp. e outros fungos clinicamente relevantes (como *Candida* e *Scedosporium* spp.) (MIYAZAKI *et al.*, 2011).

Existem alguns estudos que abordam indicações de cirurgia para o tratamento da criptococose. Lesões extensas que invadem estruturas locais no pulmão ou que mostrem um efeito de massa ou de edema circundante na neuroimagem requerem ressecção caso sejam cirurgicamente acessíveis. A inserção de um dreno lombar ou de um shunt do LCR pode ser útil, em caso de pressão intracraniana elevada não controlada (McMULLAN *et al.*, 2013).

6. ESTRATÉGIAS DE PREVENÇÃO PARA A CRIPTOCOCOSE

Por se tratar de uma doença ligada à saúde pública, as medidas preventivas para criptococose devem ser aplicadas em conjunto entre a população e os Ministérios da Saúde e Meio Ambiente, que podem agir na instauração de políticas públicas. Sendo a infecção natural de criptococose causada pela inalação de propágulos presentes no meio ambiente na sua forma latente (MAY *et al.*, 2016), diversos microfocos da infecção podem ser encontrados em habitats de aves e morcegos, madeira em decomposição e até na poeira domiciliar.

Dessa forma, entre as providências cabíveis à população estão: a retirada de possíveis fontes de alimento e abrigo para pombos e morcegos dos arredores da residência, bem como não entrar em cavernas que não possuam liberação para visitação. Além disso, no caso de haver fezes de animais como pombos e morcegos no interior da residência se indica que essas fezes sejam umedecidas antes de serem removidas do local para evitar a formação de poeira contaminada por esses microrganismos que podem vir a ser inalada. Durante a limpeza, é recomendado o uso de EPI's (Equipamentos de Proteção Individual) como máscara e luvas. Por fim, é de extrema importância realizar a assepsia dos ambientes com solução de hipoclorito de sódio ou água sanitária se certificando da desinfecção efetiva (BRASIL, 2006). Além das estratégias citadas acima é proposto sobretudo que o controle ambiental da população de pombos seja realizado através da parceria entre a Vigilância Ambiental e Epidemiológica (BRASIL, 2012).

No Brasil, o Ministério da Saúde em 2012 criou a cartilha nomeada como

Vigilância Epidemiológica da Criptococose, preconizando diversas medidas a serem implementadas pelo governo como forma de compreender e prevenir as diferentes formas dessa infecção. Entre as medidas a serem executadas estão: estimar a prevalência e caracterizar as formas clínicas e distribuição geográfica da criptococose, bem como o índice de mortalidade atrelado a essa doença, além de promover o desenvolvimento de material técnico-científico disponibilizado sobre o tema para a rede de serviço de saúde, e investir na compra de novos instrumentos diagnósticos e estudos de novas terapias de controle da criptococose (BRASIL, 2012).

7. CONCLUSÃO

A criptococose é uma micose oportunista que tem recebido cada vez mais atenção devido à gravidade das infecções, que podem acometer o sistema nervoso, pulmões e outros órgãos, podem resultar em graves sequelas e óbito. Os fungos causadores dessa doença se destacam pela elevada patogenicidade e pelos diversos fatores de virulência que lhes conferem eficiente adaptação às condições do organismo hospedeiro. Ainda, o número de casos tem aumentando entre diversas condições de imunossupressão bem em pacientes sem nenhum fator de risco, sendo necessária a implementação de estratégias tanto à nível de saúde pública quanto à nível individual para reduzir morbidade e mortalidade.

AGRADECIMENTOS

Suellen P. Silva agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES - Código de Financiamento 001) e Gustavo R.S. Ferreira agradece à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE; IBPG-0386-2.08/17) pela concessão de bolsa de Doutorado. Pollyanna M. Silva e Thamara F. Procópio agradecem à FACEPE pela concessão de bolsa de Fixação de Pesquisador (BFP-0139-2.08/20 e BFP-0141-2.08/18). Patrícia Paiva e Thiago Napoleão agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de produtividade em pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALSPAUGH, J. A. Virulence mechanisms and *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, p. 55-58, 2015.
- ASSOGBA, K. et al. Neuromeningeal cryptococcosis in sub-Saharan Africa: Killer disease with sparse data. **Journal of Neurosciences in Rural Practice**, v. 6, p. 221-224, 2015.
- BAIRWA, G. et al. Iron acquisition in fungal pathogens of humans. **Metallomics**, v. 9, p. 215–227, 2017.
- BERTOOUT, S. et al. African ST173 *Cryptococcus deuterogattii* strains are commonly less susceptible to fluconazole: An unclear mechanism of resistance. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 21, p. 262-269, 2020.
- BONGOMIN, F. et al. A systematic review of fluconazole resistance in clinical isolates of *Cryptococcus* species. **Mycoses**, v. 61, p. 290-297, 2018.
- BOYCE, K. J. et al. Mismatch repair of DNA replication errors contributes to microevolution in the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. **mBio**, v. 8, artigo e00595-17, 2017.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Vigilância e Epidemiológica da Criptococose**. Unidade de Vigilância das Doenças de Transmissão Respiratória e Imunopreveníveis. Brasília, 2012.
- BRASIL, Secretaria Municipal de Saúde. **Manual de Controle Integrado de Pragas**, 2006. Disponível em <<http://www.campinas.sp.gov.br/sa/impessos/adm/FO086.pdf>> Acesso em 20 de Outubro de 2020
- BRATTON, E. W. et al. Comparison and temporal trends of three groups with cryptococcosis: HIV-infected, solid organ transplant, and HIV-negative/nontransplant. **PLoS ONE**, v. 7, artigo e43582, 2012.
- CASADEVALL, A. et al. The capsule of *Cryptococcus neoformans*. **Virulence**, v. 10, p. 822-831, 2019.
- CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R. **Cryptococcus neoformans**. Washington, ASM Press, 1998, 541 pp.
- CHEN, S. C. A. et al. *Cryptococcus gattii* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, p. 980-1024, 2014.
- CHEN, S. C. et al. Clinical manifestations of *Cryptococcus gattii* infection: determinants of neurological sequelae and death. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, p. 789-798, 2012.
- COLOMBO, G. et al. Caracterização bioquímica e molecular de *Cryptococcus* spp. isolados de excretas ambientais de pombos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 1639-1645, 2015.
- DAMBUZA, I. M. et al. The *Cryptococcus neoformans* Titan cell is an inducible and regulated morphotype underlying pathogenesis. **PLoS Pathog**, v. 14, p. e1006978, 05, 2018.
- DATTA, K. et al. Spread of *Cryptococcus gattii* into Pacific Northwest region of the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, p. 1185-1191, 2009.
- FIRACATIVE, C. et al. MALDI-TOF MS enables the rapid identification of the major molecular types within the *Cryptococcus neoformans*/C. *gattii* species complex. **PLoS ONE**,

v. 7, artigo e37566, 2012.

GAGO, S. et al. Molecular identification, antifungal resistance and virulence of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus deneoformans* isolated in Seville, Spain. **Mycoses**, v. 60, p. 40-50, 2017.

GARRETT, L. et al. 74-year-old man from the Pacific Northwest with fever and a lung mass. **Chest**, v. 140, p. 814-817, 2011.

GAST, C. E. et al. Azole resistance in *Cryptococcus gattii* from the Pacific Northwest: investigation of the role of ERG11. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, p. 5478-5485, 2013.

GERSTEIN, A. C. et al. Polyploid titan cells produce haploid and aneuploid progeny to promote stress adaptation. **mBio**, v. 6, artigo 01340-15, 2015.

HARRIS, J. R. et al. *Cryptococcus gattii* infections in multiple states outside the US Pacific Northwest. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, p. 1620-1626, 2013.

HEITMAN, J. et al. **Cryptococcus: from human pathogen to model yeast**. Washington, ASM Press, 2010, 646 pp.

HENAO-MARTÍNEZ, A. F.; BECKHAM, J. D. Cryptococcosis in solid organ transplant recipients. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 28, p. 300–307, 2015.

HOANG, L. et al. *Cryptococcus neoformans* infections at Vancouver Hospital and Health Sciences Centre (1997–2002): epidemiology, microbiology and histopathology. **Journal of Medical Microbiology**, v. 53, p. 935-940, 2004.

HURTADO, J. C. et al. Mortality due to *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in low-income settings: an autopsy study. **Scientific Reports**, v. 9, artigo 7493, 2019.

LEE, P.; GOLDMAN, D. L. Cryptococcosis and other rare invasive yeasts infections. In: STEINBACH, W. J. et al. (Org.). **Pediatric Transplant and Oncology Infectious Diseases**. Elsevier, 2021. pp. 206-213.

LITTMAN, M. L.; BOROK, R. Relation of the pigeon to cryptococcosis: natural carrier state, heat resistance and survival of *Cryptococcus neoformans*. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 35, p.329-345, 1968.

MARANHÃO, F. C A. et al. Criptococose disseminada e cutânea por *C. neoformans* VNI em paciente imunocompetente. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, p. 3-5, 2020.

MAY, R. C. et al. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, p. 106-117, 2016.

MAZIARZ, M. D.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, p. 179-206, 2016.

McMULLAN, B. J. et al. *Cryptococcus gattii* infections: contemporary aspects of epidemiology, clinical manifestations and management of infection. **Future Microbiology**, v. 8, p.1613-1631, 2013.

- MEDNICK, A.J. et al. Melanization of *Cryptococcus neoformans* affects lung inflammatory responses during cryptococcal infection. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 2012–2019, 2005.
- MIYAZAKI, M. et al. *In vitro* activity of E1210, a novel antifungal, against clinically important yeasts and molds. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, p. 4652-4658, 2011.
- NASCIMENTO, M. A. et al. Perfil de pacientes com criptococose em hospital regional do interior de São Paulo. **Research, Society and Development**, v. 9, artigo e598997642, 2020.
- NOSANCHUK, J.D., CASADEVALL A.. Impact of melanin on microbial virulence and clinical resistance to antimicrobial compounds. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, p. 3519–3528, 2006.
- NUNES, J. O. et al. Cryptococcal meningitis epidemiology: 17 years of experience in a State of the Brazilian Pantanal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, p. 485-492, 2018.
- Oliveira, R. B. et al. Epidemiology of invasive fungal infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome at a reference hospital for infectious diseases in Brazil. **Mycopathologia**, v. 178, p. 71-78, 2014.
- OLSZEWSKI, M.A. et al. Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system invasion. **The American Journal of Pathology**, v. 164, p. 1761–1771, 2004.
- PARK, B. J. et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **AIDS**, v. 23, p. 525–530, 2009.
- PERFECT, J. R. et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, p. 291-322, 2010.
- PESSOA, C. C. B. et al. Produção de fatores de virulência in vitro por isolados de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* de origem clínica em Belém, Estado do Pará. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, p. 59-65, 2002.
- PFALLER, M. A. et al. Global trends in the antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* (1990 to 2004). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 2163-2167, 2005.
- PITISUTTITHUM, P. et al. Activity of posaconazole in the treatment of central nervous system fungal infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, p. 745-755, 2005.
- PONZIO, V. et al. Genotypic diversity and clinical outcome of cryptococcosis in renal transplant recipients in Brazil. **Emerging Microbes & Infections**, v. 8, p. 119-129, 2019.
- QIAN, W. et al. Anti-microbial and anti-biofilm activities of combined chelerythrine-sanguinarine and mode of action against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* in vitro. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 191, artigo 111003, 2020.
- RAJASINGHAM, R. et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, p. 873-881, 2017.

RÊGO, M. F et al. Análise bibliográfica dos principais aspectos da criptococose. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, p. 3797-3807, 2019.

RHODES, J. et al. A population genomics approach to assessing the genetic basis of within-host microevolution underlying recurrent cryptococcal meningitis infection. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 7, p. 1165-1176, 2017.

RODERO, L. et al. G484S amino acid substitution in lanosterol 14- α demethylase (ERG11) is related to fluconazole resistance in a recurrent *Cryptococcus neoformans* clinical isolate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, p. 3653-3656, 2003.

RODRIGUES, M.L. et al. Binding of the wheat germ lectin to *Cryptococcus neoformans* suggests an association of chitinlike structures with yeast budding and capsular glucuronoxylomannan. **Eukaryotic Cell**, v. 7, p. 602-609, 2008.

SABBATANI, S. et al. Voriconazole proves effective in long-term treatment of a cerebral cryptococcoma in a chronic nephropathic HIV-negative patient, after fluconazole failure. **Mycopathologia**, v. 158, p. 165-171, 2004.

SANCHES, C. E. M. et al. Um caso de criptococose cutânea primária. **Journal of the Portuguese Society of Dermatology and Venereology**, v. 76, p. 181-184, 2018.

SELB, R. et al. Molecular typing and in vitro resistance of *Cryptococcus neoformans* clinical isolates obtained in Germany between 2011 and 2017. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 309, artigo 151336, 2019.

SENGHOR, Y. et al. Cryptococcal antigen detection in broncho-alveolar lavage fluid. **Medical Mycology**, v. 56, p. 774-777, 2018.

SILVEIRA, M. B. et al. Diagnóstico laboratorial de criptococose em indivíduos imunodeprimidos. **Saúde & Ciência em Ação**, v. 4, p. 103-116, 2018.

SINGH, N. et al. Pulmonary cryptococcosis in solid organ transplant recipients: clinical relevance of serum cryptococcal antigen. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, p. 12-18, 2008.

SIONOV, E. et al. Azole heteroresistance in *Cryptococcus neoformans*: emergence of resistant clones with chromosomal disomy in the mouse brain during fluconazole treatment. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, p. 5127-5130, 2013.

SIONOV, E. et al. Identification of a *Cryptococcus neoformans* cytochrome P450 lanosterol 14 α -demethylase (Erg11) residue critical for differential susceptibility between fluconazole/voriconazole and itraconazole/posaconazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, p. 1162-1169, 2012.

SMITH, A. B. et al. Central nervous system infections associated with human immunodeficiency virus infection: radiologic-pathologic correlation. **Radiographics**, v. 28, p. 2033-2058, 2008.

SORRELL, T. C.; HIMMELREICH, U. NMR in Mycology. **Current Fungal Infection Reports**, v. 2, p. 149-156, 2008.

STONE, N. R. H. et al. Dynamic ploidy changes drive fluconazole resistance in human cryptococcal meningitis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 129, p. 999-1014, 2019.

SUN, H. Y. et al. Cutaneous cryptococcosis in solid organ transplant recipients. **Medical**

Mycology, v. 48, p. 785-791, 2010.

TELES, M. R. Criptococose: incidência, diagnóstico e tratamento. **Revista Saber Científico**, v. 3, p. 1-9, 2017.

VIDAL, J. E. et al. Strategies to reduce mortality and morbidity due to AIDS-related cryptococcal meningitis in Latin America. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, p. 353-362, 2013.

VILCHEZ, R. A. et al. Cryptococcosis in organ transplant recipients: an overview. **American Journal of Transplantation**, v. 2, p. 575-580, 2002.

WILLIAMSON, P. R. et al. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. **Nature Reviews – Neurology**, v. 13, p. 13-24, 2017.

WILLIAMSON, P. R. The relentless march of cryptococcal meningitis. **The Lancet - Infectious Diseases**, v. 17, p. 790-791, 2017.

ZARAGOZA, O. Basic principles of the virulence of *Cryptococcus*. **Virulence**, v. 10, p. 490-501, 2019.

ZIMMER, B.L, ROBERTS, G.D.. Rapid selective urease test for presumptive identification of *Cryptococcus neoformans*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 10, p. 380–381, 1979.

CAPÍTULO 10

LEVEDURAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA NÃO-ALBICANS

Raudiney Frankilin Vasconcelos Mendes

Discente de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Antibióticos

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: raudiney.mendes@ufpe.br

Amanda Virgínia Barbosa

Estudante de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: amanda.virginia@ufpe.br

Henrique Nelson Pereira Costa Junior

Discente de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Antibióticos

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: henrique.junior@gmail.com

Bárbara de Azevedo Ramos

Pesquisadora em estágio Pós-doutoral (RENORBIO) da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Antibióticos

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: barbara.azevedo@ufpe.br

RESUMO: O aumento de casos de infecções fúngicas levou o aumento das pesquisas médicas, muitas vezes essas pesquisas se concentraram apenas em leveduras no gênero *Candida*, que são reconhecidas como as mais prevalentes. No entanto, outras leveduras não-albicans também são que são muito prevalentes em infecções nosocomiais e tem recebido menos atenção. Fungos podem se apresentar em forma de micélio ou leveduras. Na natureza muitos desses fungos são dimórficos, mas na maioria das vezes ao infectarem o organismo humano, adquirem a forma de leveduras. Espécies do gênero *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Trichosporon*, *Sporothrix*, *Paracoccidioides* e *Histoplasma* são exemplos desse mecanismo e estão relacionadas a infecções locais ou sistêmicas de importância médica. Nesse capítulo resumimos algumas dessas leveduras infectantes brevemente.

PALAVRAS-CHAVE: *Cryptococcus*. *Malassezia*. *Trichosporon*. *Sporothrix*. *Paracoccidioides*. *Histoplasma*.

ABSTRACT: The increase in fungal infection cases has led to an increase in medical

research. Many times, these studies have focused only on yeasts in the genus *Candida*, which are recognized as the most prevalent. However, other non-albicans yeasts are also very prevalent in nosocomial infections and have been received less attention. Fungi can be in the form of mycelium or yeast. In nature many of these fungi are dimorphic, but the most time when they infect the human organism, they take the form of yeasts. Species of the genus *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Trichosporon*, *Sporothrix*, *Paracoccidioides* and *Histoplasma* are examples of this mechanism and are related to local or systemic infections of medical importance. In this chapter we briefly summarize some of these infective yeasts.

KEY-WORDS: *Cryptococcus*. *Malassezia*. *Trichosporon*. *Sporothrix*.
Paracoccidioides. *Histoplasma*.

1. INTRODUÇÃO

Infecções fúngicas têm aumentado consideravelmente nos recentes anos principalmente em pacientes imunocomprometidos, causando um impacto negativo nas taxas de morbimortalidade (TABORGA *et al.*, 2017). Esse aumento de casos levou o aumento das pesquisas médicas em busca de novas medidas profiláticas e do tratamento dessas infecções. Muitas vezes essas pesquisas se concentraram apenas em leveduras no gênero *Candida*, que são reconhecidas como as mais prevalentes.

No entanto, outras leveduras não-albicans também são que são muito prevalentes em infecções nosocomiais e tem recebido menos atenção (BORGES-WALMSLEY *et al.*, 2002). Como já se sabe, terapia com antimicrobianos de amplo espectro e de corticoides, procedimentos médicos invasivos estão associados a um aumento na incidência de doenças fúngicas invasivas. Além disso desses fatores, a formação de biofilme dessas cepas aumenta patogênese e cronicidade das infecções (MARTINEZ; FRIES, 2010).

Leveduras como do *Cryptococcus*, também estão entre os patógenos mais comuns em infecções fúngicas em pacientes imunocomprometidos com uma alta taxa de mortalidade. Leveduras do gênero *Malassezia* vem sendo isolados principalmente em amostras de pacientes com infecções de pele, porém a micose sistêmica causada por espécies de gênero também relacionada ao uso cateter, sepse e procedimentos invasivos (PROHIC, 2016; THEELEN, *et al.*, 2018).

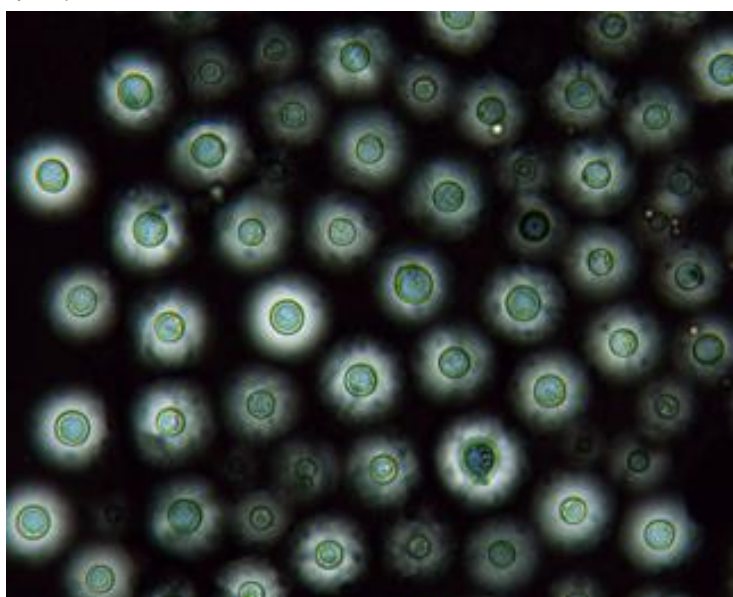
Além dessas leveduras altamente relacionada com infecções em humanos, existem algumas espécies de fungos dimórficos que ao ultrapassar as barreiras imunes do hospedeiro se transformam em uma forma leveduriforme. Algumas espécies do gênero *Trichosporon*, *Sporothrix*, *Paracoccidioides* e *Histoplasma* podem ser incluídas (BORGES-WALMSLEY *et al.*, 2002; CHAGAS-NETO; CHAVES; COLOMBO, 2008; BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; GARFOOT; RAPPLEYE, 2016).

Nesse capítulo descrevemos as infecções causadas pelos gêneros *Cryptococcus* e *Malassezia* e resumimos algumas leveduras infectantes brevemente, a fim de mostrar a importância do conhecimento desses patógenos tão relacionados com sérias infecções no mundo inteiro.

1.1 *Cryptococcus* spp.

Esses fungos são leveduras cosmopolitas encapsuladas (Figura 1), que infectam o homem causando a criptococose, uma doença sistêmica subaguda ou crônica, e muitas vezes fatal (AGUIAR *et al.*, 2017). Os principais fatores que contribuem para a virulência desses microrganismos são a cápsula, a produção de melanina e a capacidade de crescimento na temperatura do hospedeiro (37° C) (MAY *et al.*, 2015).

Figura 1. Leveduras encapsuladas do gênero *Cryptococcus* presentes no Líquido Cefalorraquidiano, (coloração tinta Nanquim).



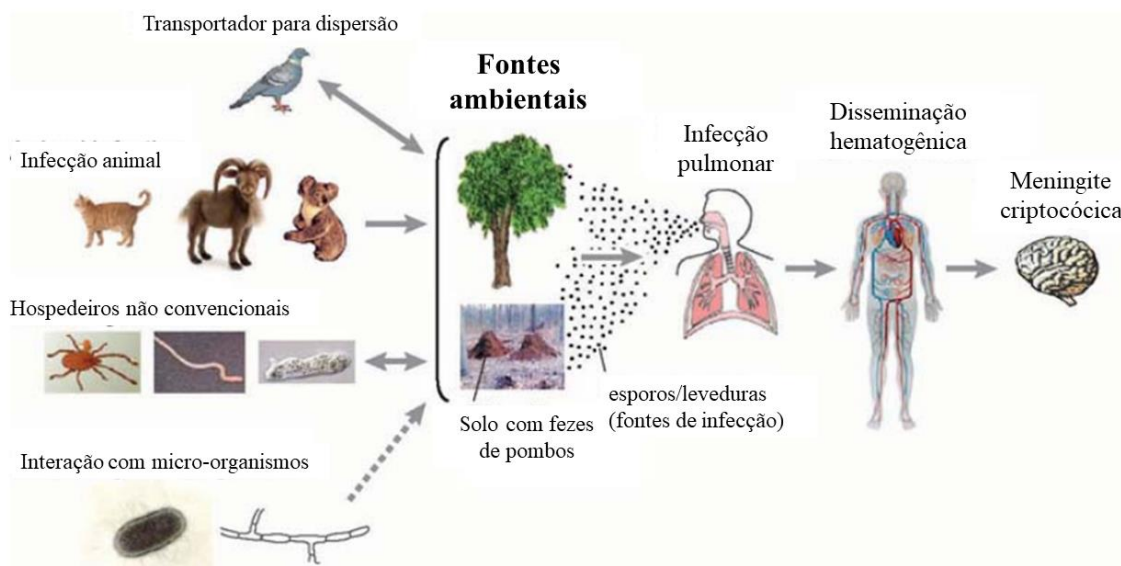
Fonte: RACHADI *et al.*, 2016.

No passado, a infecção criptocócica era atribuída a uma única espécie de fungo, o *C. neoformans*. Com o aprimoramento das técnicas moleculares foi possível observar uma variedade desse patógeno, *C. neoformans* var. *gattii*, que posteriormente foi reclassificado como sendo uma espécie distinta, o *C. gattii* (MAY *et al.*, 2015). Acredita-se que estes dois microrganismos tenham se separado e divergido dos filós criptocócicos saprobios há 40 milhões de anos, provavelmente na África. E desde então, vem se espalhando pelo mundo em eventos de cruzamento (KÖHLER *et al.*, 2017).

A criptococose é uma infecção fúngica oportunista com alta incidência entre pacientes imunocomprometidos, principalmente aqueles com HIV (vírus da imunodeficiência humana) (OSUNA *et al.*, 2008; ALVAREZ; CHIPANA; SUAREZ, 2019), embora também sejam capazes de acometer pessoas saudáveis. *C.*

neoformans costuma infectar o pulmão e geralmente, migra para o sistema nervoso central (SNC), causando a meningite criptocócica (ANDREOLA *et al.*, 2006), ou ainda, em casos mais raros, pode se espalhar e afetar a pele, ossos e outros órgãos (Figura 2) (RUAN *et al.*, 2017).

Figura 2. Ciclo de infecção de *Cryptococcus* (ambiente e hospedeiro). O fungo sobrevive no meio contaminado com fezes de aves e nas árvores. Aves, especialmente pombos, podem ter sido responsáveis pela dispersão mundial. O fungo também infecta vários hospedeiros animais, como gatos, cabras e coalas, sobreviver a predadores ambientais, como insetos, vermes e amebas, além disso, pode interagir com outros micro-organismos, como bactérias ou outros fungos. O fungo estabelece uma infecção pulmonar humana por meio da inalação de seus esporos ou células de levedura desidratadas de fontes ambientais. Quando o hospedeiro se torna imunocomprometido, o fungo pode ser reativado de formas latentes e entrar no SNC. A infecção do SNC representa a forma mais grave de criptococose humana.



Fonte: Adaptado de LIN; HEITMAN, 2006.

Estima-se que por ano cerca de 1 milhão de pessoas com HIV desenvolvam meningite criptocócica com 625.000 óbitos (HAGEN *et al.*, 2016). A taxa de mortalidade pode chegar até 43% em países em desenvolvimento (GUIDELINES in Cryptococcosis – 2008). A maioria dos casos de criptococose é causada por *C. neoformans* que por estar presente em uma infinidade de ambientes, a exposição ao patógeno é quase universal (DENHAM; WAMBAUGH; BROWN, 2019). No entanto, em muitas localidades o *C. gattii* costuma ser o patógeno primário mais comum (KÖHLER *et al.*, 2017).

1.2 TRATAMENTO

Quanto ao tratamento da criptococose, apenas três classes de antifúngicos são usadas: os polienos (anfotericina B), os azóis (cetoconazol, itraconazol,

fluconazol e voriconazol) e um derivado da pirimidina (5-flucitosina) (GUIDELINES in Cryptococcosis – 2008). A terapia para meningite criptocócica geralmente consiste em duas semanas de tratamento com anfotericina B seguida por oito semanas de fluconazol (BERENQUER *et al.*, 1998).

Muitas leveduras já são resistentes aos antifúngicos frequentemente utilizados para tratamento das respectivas infecções. Os próprios medicamentos podem falhar e o aumento da resistência intrínseca em fungos é um problema crescente. Quando isso acontece, a terapia é drasticamente comprometida por restar pouca ou nenhuma opção de tratamento (PERLIN; RAUTEMAA-RICHARDSON; ALASTRUEY-IZQUIERDO, 2017).

Estudos epidemiológicos revelam que entre os antifúngicos azóis a resistência é alta para as espécies de *Candida*, no entanto, permanece baixa entre os *Cryptococcus* (HOWARD; ARENDRUP, 2011; PFALLER, 2012; HAGEN *et al.*, 2016). Falhas terapêuticas de anfotericina B para *C. neoformans* também já são relatadas na literatura (PERFECT; COX, 1999).

1.3 *Malassezia* spp.

O gênero *Malassezia* é composto por fungos leveduriformes encontrados de forma natural na microbiota cutânea de diversos animais como comensais e patógenos oportunistas. Em sua maioria são lipofilílicos e lipodependente compreendendo 90% dos fungos encontrados na pele humana. No microscópio são observados como massas de leveduras agrupadas, hifas curtas e tortuosas (SCHLOTTFELDT *et al.*, 2002).

O gênero teve sua primeira descrição com a nomenclatura de *Pityrosporum*, quando no início do século XIX *Pityrosporum malassez* foi identificado como microorganismo causador da caspa (SCHLOTTFELDT *et al.*, 2002). As espécies de *Malassezia* possuem hábitos e características semelhantes, podendo ser diferenciadas por meio de critérios morfofisiológicos, observando as particularidades da micromorfologia de cada espécie, a atividade enzimática e suas necessidades nutricionais (GUILLOT *et al.*, 1996; WU *et al.*, 2015).

Contudo, a dificuldade de cultivo de algumas espécies tornou confusa sua a classificação e nomenclatura, sendo inicialmente descritas apenas três espécies, vindo a ser precisamente descritas com a auxílio de técnicas moleculares identificando cerca dezoito espécies de *Malassezia* (Tabela 1), do qual dez estão

presentes em humanos (GUILLOT; BOND, 2020).

Tabela 2. Principais espécies de *Malassezia* presentes na microbiota humana.

Espécies de Malassezia	Sinônimos	Presença em lesões
<i>M. furfur</i>	<i>Pityrosporum ovale</i>	pitiríase versicolor, fungemia
<i>M. pachydermatis</i>	<i>P. pachydermatis</i> e <i>P. canis</i>	Fungemia
<i>M. sympodialis</i>	<i>M. furfur</i> sorovar A	dermatite atópica, dermatite seborreica
<i>M. globosa</i>	<i>P. orbiculare</i> e <i>M. furfur</i> sorovar B	pitiríase versicolor, dermatite seborreica, dermatite atópica.
<i>M. slooffiae</i>	<i>M. furfur</i> sorovar C	
<i>M. restrita</i>		dermatite seborreica
<i>M. dermatis</i>		dermatite atópica
<i>M. japônica</i>		dermatite seborreica, dermatite atópica.
<i>M. yamatoensis</i>		dermatite seborreica
<i>M. arunalokei</i>		
<i>M. obtusa</i>		

As patologias causadas por espécies de *Malassezia* no geral são infecções superficiais benignas de pele pouco invasivas ocorrendo principalmente em regiões do corpo ricas em glândulas sebáceas. Essas patologias são associadas a disbiose da microbiota da pele do hospedeiro. Podendo atribuir-se outros fatores que predispõem a ocorrência destas infecções como: deficiências vitamínicas, desnutrição, doenças crônicas infecciosas como tuberculose, diabetes melito, corticoterapia sistêmica, gravidez, pacientes imunodeprimidos e taxas elevadas de cortisol plasmático (CHOUDHURY; MARTE, 2014).

Dentre as principais patologias que são causadas por infecções de espécies do gênero *Malassezia* estão pitiríase versicolor, foliculite pitirospórica e raras infecções sistêmicas. Entretanto, em quadros de dermatite seborreica e dermatite atópica o papel patogênico da *Malassezia* spp. careça de definição mais precisa, seus quadros clínicos podem ser agravados ou desencadeados por esta levedura modulada pela presença de micovírus (CLANCEY; RUCHTI, 2019).

1.4 TIPOS DE INFECÇÕES CAUSADAS PELO GÊNERO *Malassezia*

A pitiríase versicolor é uma infecção superficial, benigna, com frequentes recidivas, caracterizada por lesões maculosas, discrômicas e descamativas, podendo acometer a face, o tronco e os membros superiores. Com o início dos casos desencadeados no período da puberdade, quando há significativas alterações nos lipídios na superfície da pele decorrentes de modificações hormonais. Os dados

epidemiológicos indicam que esta dermatose apresenta maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais, onde o clima quente e úmido favorece a colonização da pele pelo fungo (GUPTA *et al.*, 2000).

O diagnóstico pode ser realizado a partir de raspados obtidos da lesão são clarificados com potássio e examinados ao microscópio para observação das características morfológicas, podendo ser observadas várias espécies envolvidas nesta patologia sendo identificada *M. globosa* na maioria dos casos (NAKABAYASHI, 2019).

A foliculite pitirospórica é um quadro patológico infecciosa de ampla distribuição, com maior frequência em climas quentes e úmidos, atingindo principalmente mulheres de meia idade, com altas taxas de recidivas (FINDLEY *et al.*, 2017). Esta infecção caracteriza-se pela formação de pápulas e pústulas foliculares acometendo os membros superiores, no tronco e no pescoço. A formação das pústulas é causada pela obstrução dos folículos pilosos por massas de leveduras, o que é agravado pela multiplicação das leveduras. O processo inflamatório ocorre devido à quebra de ácidos graxos livres em triglicérides e a produção de fosfolipases.

É possível diagnosticar a infecção a partir da análise da cultura de pele ou a titulação de anticorpos da classe IgG diferindo de pacientes que apresentam quadros de pitíriase versicolor e pacientes saudáveis (GLATZ *et al.*, 2015; GAITANIS *et al.*, 2012).

A dermatite seborreica é a infecção causada por leveduras do gênero *Malassezia* relatada com maior frequência global, sendo o primeiro quadro infeccioso associado ao gênero amplamente estudado e suas principais características são a inflamação e a descamação da pele em áreas ricas em glândulas sebáceas, como face, couro cabeludo e tronco. Tem em sua epidemiologia a predominância de casos em humanos do sexo masculino com idade superior a 40 anos. Contudo, casos de dermatite seborreica podem ser observados em ambos os sexos e em diversas faixas etárias (SANDSTROM *et al.*, 2005).

Essa infecção é caracterizada pela formação de lesões eritematosas e descamativas no couro cabeludo, região retroauricular, medifacial e mediotorácica, podendo ser acompanhada de prurido e hiper sensibilização da área afetada, sendo associada frequentemente à colonização por *Malassezia*. Em pacientes com fatores de predisposição como HIV-positivos a dermatite seborreica é desencadeada de

forma súbita e com quadro clínico mais intenso ou grave com frequentes recidivas. Nesta dermatose, as espécies *M. globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis* e *M. pachydermatis* são isoladas com maior frequência (SPARBER; LEIBUNDGUT-LANDMANN, 2017)

Embora o gênero *Malassezia* esteja geralmente associado a infecções superficiais, o quadro clínico pode ser agravado e evoluir para fungemia, em pacientes imunocomprometidos e acometendo neonatos que recebem alimentação parenteral com suplementação lipídica. Sendo também apontado que o uso de suplementação lipídica facilite a colonização, pela levedura, através do cateter utilizado para infundir os nutrientes, requerendo a remoção do dispositivo contaminado para limitar a infecção (FINDLEY *et al.*, 2017).

1.5 TRATAMENTO

Para o tratamento de patologias causadas por infecções de espécies de *Malassezia* são utilizadas como opções terapêuticas derivados azoicos como cetoconazol e itraconazol, além de antifúngicos como fluconazol, terbinafina. Contudo, os quadros apresentam frequentes recidivas sendo observado a necessidade de mudanças de hábitos como dieta e higiene associados a medicamentos (DE HOOG *et al.*, 2017).

2. FUNGOS DIMÓRFICOS (LEVEDURAS INFECTANTES)

Trichosporon é um gênero medicamente importante capaz de colonizar e proliferar em diferentes partes do corpo humano como o sistema gastrointestinal, respiratório, pele e vagina. Este patógeno semelhante à levedura pode causar infecções profundas, associadas à mucosa ou superficiais. Já são reportadas 38 espécies diferentes desse gênero que causa a Tricosporonose. Enquanto as infecções superficiais e a pneumonia alérgica são encontradas predominantemente em hospedeiros imunocompetentes, sua forma invasiva é documentada principalmente em pacientes imunocomprometidos (CHAGAS-NETO *et al.*, 2008; COLOMBO; PADOVAN; CHAVES, 2011).

A Esporotricose é uma micose associada a arranhões ou mordidas de animais como ratos, tatus, esquilos, cães e gatos, causada pelo complexo *Sporotrix schenckii*. É distribuída mundialmente, especialmente em regiões tropicais e subtropicais. Por muitos anos se acreditou que a esporotricose era causada apenas

por uma espécie, a *S. schenckii*. No entanto, estudos baseados em análises genotípicas e fenotípicas descobriram mais espécies nesse gênero distribuídas mundialmente (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011). No Brasil as espécies *S. brasiliensis*, *S. schenckii* e *S. mexicana* são as mais comuns (RODRIGO; HOOG; CAMARGO, 2013).

Paracoccidioides brasiliensis, é um fungo dimórfico no qual os seus conídios, no meio ambiente atuam como propágulos infecciosos que são inalados. Ao invadir os pulmões, ocorre a transformação para a forma de levedura patogênica que causa a micose chamada de paracoccidioidomicose. Ao invadir o organismo, *P. brasiliensis* possui a capacidade de se replicar em macrófagos e células epiteliais. A paracoccidioidomicose é normalmente uma infecção latente que se desenvolve após anos, principalmente por causa dos granulomas formados através da resposta imune do hospedeiro (BORGES-WALMSLEY *et al.*, 2002).

Por último e não menos importante o fungo *Histoplasma capsulatum* é reconhecido por causar doenças respiratórias e disseminadas, mesmo em hospedeiros imunocompetentes. O sucesso desse micro-organismo depende de vários mecanismos para entrar na célula hospedeira, entretanto, eles são capazes de infectar macrófagos, sobreviver às defesas antimicrobianas e proliferar (GARFOOT; RAPPLEYE, 2016).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A preocupação com as leveduras capazes de infectar o organismo humano vão além das espécies do gênero *Candida*, e assim como elas, muitas vezes outras leveduras patogênicas descritas nesse capítulo são difíceis de tratar. Geralmente essas infecções não respondem aos tratamentos convencionais utilizados por causa dos mecanismos de virulência das espécies, da resistência aos antifúngicos e da falta de resposta do hospedeiro, que muitas vezes se encontram imunocomprometidos. Sendo assim, se faz necessário uma compreensão e abordagem maior dessas micoses que são muitas vezes negligenciadas.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, P. A. D. F. *et al.* The epidemiology of cryptococcosis and the characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated in a Brazilian University Hospital. **Rev Inst Med Trop.** São Paulo. v. 59, n.13, 2017.
- ALVAREZ, J. M.; CHIPANA. C. T.; SUAREZ, F. A. Proctocolitis by *cryptococcus* in an immunocompetent patient: first report in Peru. **Revista Gastroenterol Peru.** v. 39, n.13, p. 288-291, 2019.
- ANDREOLA, C. *et al.* Multifocal Choroiditis in Disseminated *Cryptococcus neoformans* Infection. **American Journal of Ophthalmology.** v. 142, n. 2, p. 346-348, 2006.
- BARROS, M. B. L.; PAES, R. A.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrixschenckii* and Sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews.** P. 633–654, 2011.
- BERENQUER, J. *et al.* Infections by Candida and Cryptococci. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* v. 16, n. 1, p. 29-35, 1998.
- BORGES-WALMSLEY, M. I. *et al.* The pathobiology of *Paracoccidioides brasiliensis*. **TRENDS in Microbiology.** v. 10, n. 2, p. 80-87, 2002.
- CHAGAS-NETO, T. C.; CHAVES, G. M.; COLOMBO, A. L. Update on the Genus *Trichosporon*. **Mycopathologia.** v. 166, p. 121–132, 2008.
- CHOUDHURY, S.; MARTE R. L. *Malassezia pachydermatis* fungaemia in an adult on posaconazole prophylaxis for acute myeloid leukaemia. **Pathology.** v. 46, p. 466–467, 2014.
- CLANCEY, S. A., *et al.* A novel mycovirus evokes transcriptional rewiring in *Malassezia* and provokes host inflammation and an immunological response. **bioRxiv.**2019.
- COLOMBO, A. L.; PADOVAN, A. C. B.; CHAVES, G. M. Current Knowledge of *Trichosporon* spp. and Trichosporonosis. **Clinical Microbiology Reviews.** p. 682–700, 2011.
- DE HOOG, S., *et al.* Skin fungi from colonization to infection. **Microbiol. Spectrum.** v. 5, p. 855–871, 2017.
- DENHAM, S. T.; WAMBAUGH, M. A.; BROWN, J. C. S. How Environmental Fungi Cause a Range of Clinical Outcomes in Susceptible Hosts. **Journal of Molecular Biology.** v. 431, p. 2982-3009, 2019.
- FINDLEY, K., *et al.* Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. **Nature.** v. 498, p. 367–370, 2013.
- GAITANIS, G., *et al.* The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. **Clin.Microbiol. Rev.** v. 25, p. 106–141, 2012.
- GARFOOT, A. L.; RAPPLEYE, C. A. *Histoplasma capsulatum* surmounts obstacles to intracellular pathogenesis. **FEBS Journal.** v. 283, p. 619–633, 2016.
- GLATZ, M., *et al.* The role of *Malassezia* spp. in atopic dermatitis. **J. Clin. Med.** v. 4, p. 1217–1228, 2015.
- GUIDELINES in Cryptococcosis – 2008. RELATÓRIO TÉCNICO/TECHNICAL REPORT **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v.41, n. 5, p. 524-544, 2008.

- GUILLOT, J. et al. Identification of *Malassezia* species: a practical approach. **J. Mycol. Méd.** v. 6, n. 2, p. 103-10, 1996.
- GUILLOT, J.; BOND, R. *Malassezia* Yeasts in Veterinary Dermatology: An Updated Overview. **Front Cell Infect Microbiol.** v. 10, n. 79, 2020.
- HAGEN, F. et al. Molecular epidemiology and in vitro antifungal susceptibility testing of 108 clinical *Cryptococcus neoformans* sensu lato and *Cryptococcus gattii* sensu lato isolates from Denmark. **Mycoses.** v. 59, n. 9, p. 576-584, 2016.
- HOWARD, S. J.; ARENDRUP, M. C. Acquired antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus*: epidemiology and detection. **Med Mycology.** v. 49, n. 1, p. 90–95, 2011.
- KÖHLER, J. R. et al. Fungi that Infect Humans. **Microbiol Spectrum.** v. 5, n. 3, 2017.
- LIN, X.; HEITMAN, J. The Biology of the *Cryptococcus neoformans* Species Complex. **Annu. Rev. Microbiol.** v.60, p. 69–105, 2006.
- MARTINEZ, L. R.; FRIES, B. C. Fungal Biofilms: Relevance in the Setting of Human Disease. Fungal Biofilms: Relevance in the Setting of Human Disease. **Current Fungal Infect Rep.** v. 1, n. 4, p. 266-275, 2010.
- MAY, R. C. et al. Cryptococcus: from environmental saprophyte to global pathogen. **Nature Reviews Microbiology.** v. 14, n. 2, p. 106-117, 2015.
- NAKABAYASHI, A.; SEI, Y.; GUILLOT, J. Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. **Med. Mycol.** v. 38, n. 5, p. 337-341, 2000.
- OSUNA, A. et al. Criptococose, **Acta Med Port.** v.21, n. 3, p. 307-313, 2008.
- PERFECT, J. R.; COX, G. M. Drug resistance in *Cryptococcus neoformans*. **Drug Resist Updat.** v. 2, p. 259–269, 1999.
- PERLIN, D. S.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. **The Lancet Infectious Diseases.** v. 17, n. 12, p. 383–392, 2017.
- PFALLER, M. A. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. **Am J Med.** v.125, n. 1, p. 3–13, 2012.
- PROHIC, A., et al. *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions **International Journal of Dermatology.** v. 55, p. 494–504, 2016.
- RACHADI, H. et al. Nodules multiples du visage révélant une cryptococose disséminée chez un patient immunocompétent. **Annales de Dermatologie et de Vénérologie.** v. 143, n. 4, p. 289-294, 2016.
- RODRIGUES, A. M.; HOOG, S.; CAMARGO, Z. P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Medical Mycology.** v. 51, p. 405–412, 2013.
- RUAN, Q. et al. Disseminated cryptococcosis with recurrent multiple abscesses in an immunocompetent patient: a case report and literature review. **BMC Infectious Diseases.** v.17, n. 1, p. 369, 2017.
- SANDSTROM-FALK, M.H., et al. The prevalence of *Malassezia* yeasts in patients with atopic

dermatitis, seborrhoeic dermatitis and healthy controls. **Acta DermVenereol.** v. 85, p. 17–23, 2005.

SCHLOTTFELDT, F. S. *et al.* Reclassificação taxonômica de espécies do gênero *Malassezia*: revisão da literatura sobre as implicações clínico laboratoriais. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** v. 38, n. 3, p. 199-204, 2002.

SPARBER, F.; LEIBUNDGUT-LANDMANN, S. Host Responses to *Malassezia* spp. in the Mammalian Skin. **Front Immunol.** v. 22, n. 8, 2017.

TABORGA, L. *et al.* Antifungal toxicity of linear geranylphenol. Influence of oxygenate substituents. **Food and Chemical Toxicology.** v. 109, p. 827-835, 2017.

THEELEN, B., *et al.* *Malassezia* ecology, pathophysiology, and treatment. *Med Mycol.* v. 56, n. 1, p. 10-25, 2018.

WU, G., *et al.* Genus-wide comparative genomics of *Malassezia* delineates its phylogeny, physiology, and niche adaptation on human skin. **PLoS Genet.** 2015.

CAPÍTULO 11

Candida albicans: FATORES DE VIRULÊNCIA E IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Henrique Nelson Pereira Costa Junior

Discente de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Antibióticos

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: henrique.junior@gmail.com

Amanda Virgínia Barbosa

Estudante de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: amanda.virginia@ufpe.br

Raudiney Franklin Vasconcelos Mendes

Discente de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Antibióticos

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: raudiney.mendes@ufpe.br

Bárbara de Azevedo Ramos

Pesquisadora em estágio Pós-doutoral (RENORBIO) da Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Antibióticos

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.

E-mail: barbara.azevedo@ufpe.br

RESUMO: As infecções de origem fúngica acometem aproximadamente dois bilhões de pessoas no mundo, com maior incidência em pacientes imunocomprometidos, além das altas taxas de novos casos em idosos. Dentre os patógenos humanos, destaca-se o gênero *Candida* spp. associado a cinco espécies: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, que são responsáveis por 90% das infecções. Entre as espécies que compõem esse gênero, a *C. albicans* apresenta maior importância, presente na microflora humana. Essas infecções, frequentemente, são adquiridas durante o período de estadia em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e/ou centros de saúde (hospitais e enfermarias), tem acarretado altos índices de morbidade e mortalidade. Apesar de fazer parte da microflora humana, as leveduras da espécie *C. albicans* podem causar uma grande variedade de infecções sob certas condições (alterações nos mecanismos de defesa) e, assim ultrapassar as barreiras do hospedeiro. Outros fatores predisponentes participam na instalação da infecção, tais como fatores de virulência, uma vez que promovem a colonização, aderência e invasão. O diagnóstico é realizado através de exame direto e cultura. Recentemente,

a utilização de métodos de biologia molecular tem sido cada vez mais empregada para o diagnóstico e elucidação das espécies de patógenos. O tratamento vem sendo realizado com antifúngicos sintéticos. Entretanto, o uso inadequado e sem novas formulações vem selecionando cepas resistentes. Neste contexto, entender os mecanismos de virulência, infecção, diagnóstico e tratamento, é de grande relevância para combater e contornar a resistência desses patógenos, além de fornecer ferramentas para novas formulações.

PALAVRAS-CHAVE: Leveduras. Candidíase. Infecções nosocomiais.

ABSTRACT: Infections of fungal origin affect approximately two billion people worldwide, with a higher incidence in immunocompromised patients, in addition to the high rates of new cases in the elderly. Among the human pathogens, the genus *Candida* spp. stands out, associated with five species: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*, which are responsible for 90% of infections. Among the species that make up this genus, *C. albicans* has greater importance, present in the human microflora. These infections, frequently, are acquired during the period of stay in Intensive Care Units (ICU) and / or health centers (hospitals and wards), have resulted in high rates of morbidity and mortality. Despite being part of the human microflora, yeasts of the species *C. albicans* can cause a wide variety of infections under certain conditions (changes in defense mechanisms) and thus overcome the barriers of the host. Other predisposing factors participate in the onset of the infection, such as virulence factors, since they promote colonization, adherence, and invasion. The diagnosis is made through direct examination and culture. Recently, the use of molecular biology methods has been increasingly used for the diagnosis and elucidation of pathogen species. The treatment has been carried out with synthetic antifungals. However, improper use and without new formulations has been selecting resistant strains. In this context, understanding the mechanisms of virulence, infection, diagnosis, and treatment is of great relevance to combat and circumvent the resistance of these pathogens, in addition to providing tools for new formulations.

KEYWORDS: Yeasts. Candidiasis. Nosocomial infections.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos eucariontes saprófitos, encontrados sob dois tipos morfológicos; na forma unicelular, como as leveduras, ou então formando um conjunto de hifas, septadas ou não, denominados micélios (multicelulares). As leveduras apresentam parede celular relativamente rígidas e permeáveis para algumas substâncias, possuem a função de equilíbrio hipotônico, proteção e está relacionada a eventos de sinalização celular, adesão e reprodução. Os principais constituintes da parede dos fungos são polissacarídeos, como quitinas e glucanos, que compõem o arcabouço da célula (TSAI *et al.*, 2013).

É importante salientar, que as principais classes de antifúngicos tem como mecanismos de ação a inibição da biossíntese do ergosterol ou β -glucanos presente na membrana e na parede celular, respectivamente (CAMBOY; ADRIANO, 2017). Entretanto, as infecções fúngicas invasivas têm emergindo em todo o mundo, as quais são consideradas um problema de saúde pública (SANGUINETTI *et al.*, 2015; ARENDRUB; PATTERSON, 2017; SARDI *et al.*, 2018; QUINDÓS *et al.*, 2018; DADAR *et al.*, 2018).

Por muito tempo, as infecções nosocomiais causadas pelas leveduras do gênero *Candida* foram subestimadas. A partir da década de 90, estudos epidemiológicos revelaram que essas leveduras eram um dos maiores responsáveis pelos casos de septicemia e mortalidade (POULAIN, 2013). Alguns fatores são predisponentes às infecções fúngicas como pacientes imunocomprometidos, com maior incidência dentro dos grupos: pacientes transplantados, com câncer, pós-cirúrgico, com infecções por HIV, além das altas taxas de novos casos em idosos (VON LILIENFELD-TOAL *et al.*, 2019).

As infecções causadas pelas espécies de *Candida* vão desde superficiais a sistêmicas (VON LILIENFELD-TOAL *et al.*, 2019; DADAR *et al.*, 2018). Já são conhecidas para o gênero mais de 100 espécies, no entanto, aproximadamente 97% das infecções causadas por todas as formas invasivas deste gênero está associada a cinco espécies (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*) (CAMPS; JARQUE, 2016).

Entre as espécies que compõem esse gênero, a *C. albicans* apresenta maior importância, sendo um patógeno fúngico multirresistente e a terceira principal infecção adquirida em UTIs (Unidades de Terapia Intensiva), responsável por uma alta taxa de mortalidade, gerando assim altos custos da saúde pelo mundo

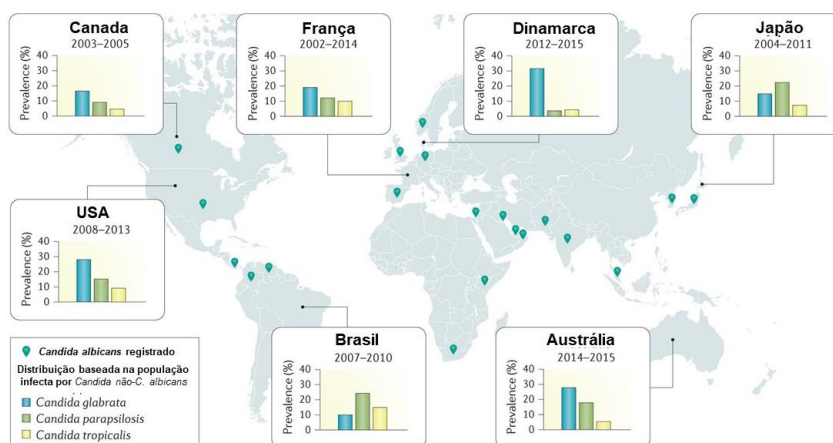
(BASSETTI *et al.*, 2019).

2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA *C. albicans*

C. albicans é classificada no Reino Fungi, filo *Ascomycota*, Classe *Saccharomycetes*, Ordem *Saccharomycetales*, Família *Saccharomycetaceae* (GUARRO *et al.*, 1999). É um fungo dimórfico comumente encontrada na forma de leveduras, com reprodução assexuada. Alguns fatores denominados fatores de virulência, contribuem para patogenicidade desses microrganismos, além das alterações das barreiras imunológicas e físicas (MORAN *et al.*, 2011). Os fatores de virulência das leveduras contribuem para colonização, aderência e invasão.

Candida é uma levedura que faz parte da microflora de indivíduos saudáveis. Geralmente são encontradas no tubo gastrointestinal, pele e superfícies mucosas da cavidade oral, tubos urogenitais ou vagina. Apesar de fazer parte da microflora humana, as leveduras da espécie *C. albicans* podem causar uma grande variedade de infecções sob certas condições (alterações nos mecanismos de defesa). Os exemplos mais comuns incluem: candidíase orofaríngea, candidíase vulvovaginal (CVV) e em condições propícias, podem disseminar para corrente sanguínea levando a infecções sistêmicas, conhecida como infecções *fúngicas* nosocomiais, com maior incidência em UTIs que são distribuídas no mundo todo (Figura 1) (TSAI *et al.*, 2013; BASSETTI *et al.*, 2019; FELIX *et al.*, 2019).

Figura 1. Distribuição geopolítica das espécies de *Candida* spp. Globalmente, *Candida albicans* é a espécie mais prevalente associada à infecções invasivas. É notório o aumento de casos de candidíase no Brasil.



Fonte: adaptado de Pappas *et al.* (2018).

3. FATORES DE RISCO PARA INFECÇÕES

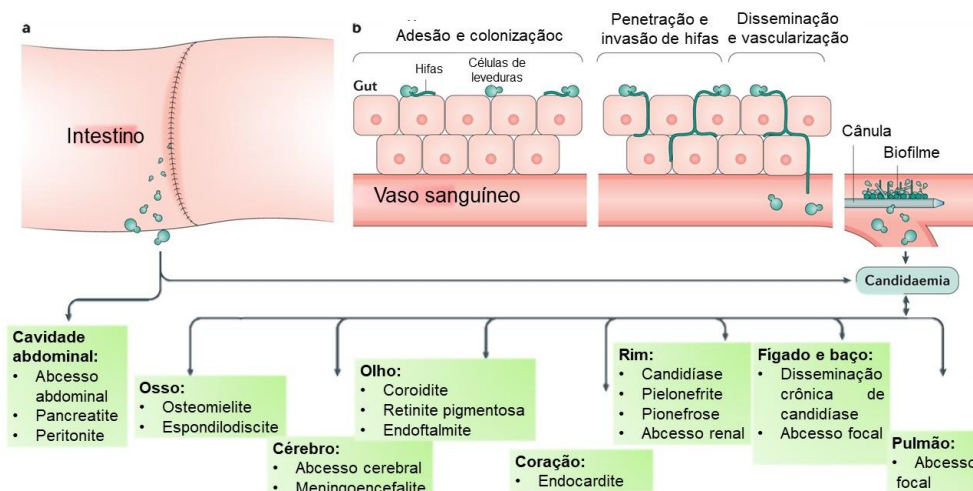
Alguns fatores são de suma importância para que o microorganismo seja capaz de ultrapassar as barreiras do hospedeiro e assim provocar a infecção. Os fatores de risco que predisõem o hospedeiro somados aos fatores de virulência das leveduras podem provocar infecções letais. Alguns desses fatores estão resumidos abaixo.

3.1 FATORES DE RISCO *RELACIONADOS AO HOSPEDEIRO*

O uso de antibióticos de amplo espectro, tornam pacientes mais propensos à infecção por leveduras, nestes casos, a supressão da microbiota bacteriana responsável pela inibição do crescimento dos fungos é comprometida pelo tratamento e assim ocorre um desequilíbrio da competição natural (TSAI *et al.*, 2013).

Além do uso de antibióticos, outros fatores importantes contribuem para o processo infeccioso, tais como: pacientes que são submetidos a constantes procedimentos médicos invasivos, transplante de órgãos, uso de cateter e sondas urinárias. Nesses casos ocorre o comprometimento das barreiras físicas, possibilitando a proliferação e instalação de *Candida* no tecido profundo do hospedeiro (figura 2) (TSAI *et al.*, 2013; DADAR *et al.*, 2018; PAPPAS *et al.*, 2018).

Figura 2. Patogênese da candidíase invasiva. a) Quando as barreiras intestinais são rompidas por algum trauma, por exemplo, após cirurgia gastrointestinal, *Candida* pode disseminar diretamente para a cavidade abdominal e invadir a corrente sanguínea. b) Em condições normais, o fungo é um organismo comensal. c) O comprometimento da resposta imune, entre outros fatores, pode provocar o desequilíbrio, isto é, o crescimento excessivo dos fungos no intestino, o que pode levar a infecções invasivas em vários órgãos (candidíase invasiva) e coinfeção de patógenos oportunistas.



Fonte: Traduzido de Pappas *et al.*, 2018.

Algumas doenças influenciam no rompimento do equilíbrio entre parasita-hospedeiro, por exemplo, doenças neurológicas, doença gastrointestinal, doença pulmonar, doença vascular, acometidos pelo vírus HIV, doença genética/malformação congênita, doença renal, diabetes, doença hepática e doença pancreática (CANELA *et al.*, 2018).

No recém-nascido, candidíase pode ser adquirida no momento de dar à luz, ou seja, pelo canal vaginal, na amamentação ou em centros cirúrgicos. As *Candidas* ficam localizadas na região da cavidade bucal, com aspecto pseudomembranoso. Esse tipo de candidíase é facilmente controlada pela atividade da imunoglobulina A adquirida no leite materno (ARAÚJO *et al.*, 2013).

As respostas da imunidade inata e adquirida constituem uma eficiente proteção para o hospedeiro contra infecções de leveduras de *Candida*. A resposta da imunidade inata inclui atividade de diversas células de defesa: células epiteliais e fagocíticas, como neutrófilos polimorfonucleares (PMNs), monócitos/ macrófagos e células dendríticas (CDs) na defesa do hospedeiro contra candidemia (TSAI *et al.*, 2013).

A imunidade adquirida predomina a secreção de citosinas das células T CD4+ e quimiocinas pró-inflamatórias. Por esse motivo, pacientes portadores de doenças graves como síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), uso de imunossupressores ou terapias antineoplásicas são mais suscetíveis a candidíase invasiva, dessa forma, afetando o sistema circulatório e órgãos do hospedeiro (TSAI *et al.*, 2013; FIDEL; NOVERR, 2012).

Por fim, alguns estudos indicam que fatores nutricionais do hospedeiro podem contribuir para morfogênese e patogênese da infecção por *C. albicans*, como alteração de fatores de expressão gênica no sentido de usar a fonte de carbono do hospedeiro, consiste na regulação positiva de vias metabólicas, incluindo gliconeogênese, ciclo do glioxilato e β -oxidação de ácidos graxos (TSAI *et al.*, 2013; DADAR *et al.*, 2018).

Além, dos diversos fatores para desenvolver infecção nos seres humanos por *C. albicans*, os fatores de virulências dos microrganismos medeiam a instalação, patogenicidade, proliferação, danos teciduais, evasão de macrófagos, permitindo assim, sua sobrevivência no organismo do hospedeiro (FORSBERG *et al.*, 2019).

3.2 FATORES DE INFECÇÃO RELACIONADO AO MICRO-ORGANISMO

A espécie *C. albicans* expressam importantes fatores de virulência

relacionados principalmente a adesão, formação do biofilme, produção de enzimas hidrolíticas, hemolisinas e dimorfismo, ou seja, a transição morfológica entre levedura para hifas ou pseudo-hifas (DADAR *et al.*, 2018).

A habilidade de *C. albicans* em formar hifas está diretamente relacionado com sua patogenicidade, dessa forma, promovem a invasão e adesão no tecido do hospedeiro, enquanto as células de leveduras facilitam a disseminação da infecção (TONG; TANG, 2013). Além disso, as hifas impedem que os macrófagos e neutrófilos fagocitem as células de *Candida* (MAYER *et al.*, 2013).

A morfogênese de *C. albicans* é controlada por ampla rede de sinalizações, essa rede é ativada por condições ambientais, incluindo variação de pH, temperatura, CO₂, fonte de nutrientes e de N-acetil-β-D-glicosaminidase (NAG) que está envolvida na formação, modelação de hifas e do tubo germinativo de leveduras (TONG; TANG, 2013). As principais vias de sinalização que regulam a expressão de genes de leveduras para hifas são: a proteína quinase A dependente de monofosfato cíclico de adenosina (PKA-AMPC) e a proteína quinase ativada por mitógeno via Cph1 (TSAI *et al.*, 2013; DADAR *et al.*, 2018).

A PKA ativada controla fatores de transcrição da via Efg1, e assim, o aumento da expressão de genes envolvidos na formação de hifas, como os genes *hwp1*, *hgc1* e *als3* (TSAI *et al.*, 2013; DADAR *et al.*, 2018). O gene *als3* e *hwp1* promovem a síntese de proteínas da parede celular, relevantes na adesão da célula fúngica. O gene *hgc1* tem como função, a síntese de proteínas do citoesqueleto, crescimento, proliferação e formação de hifas (TSAI *et al.*, 2013).

Além disso, proteínas de superfícies, relacionadas a NADH-Ubiquinona, participam da proteção e dificultam a identificação do sistema de defesa (inata e adquirida) do hospedeiro, proteção oxidativa, osmótica e participam do processo de transição de leveduras para hifas (DADAR *et al.*, 2018).

As proteínas, β-glucanas, que formam a parede de celular de *C. albicans* são capazes de reprogramação de células de defesa, como os monócitos/macrófagos, elas medeiam a expressão de algumas citocinas inflamatórias, e assim, comprometem ainda mais a detecção do sistema imunológico (DADAR *et al.*, 2018). Dentre o vasto arsenal de proteínas produzidos por *Candida*, destacam-se as adesinas (STANISZEWSKA, 2020). As adesinas também são proteínas presentes na parede celular dos fungos e proporcionam uma forte ligação à superfície epitelial. Isso permite a colonização das células dos hospedeiros e, consecutivamente, a

formação do biofilme (DADAR *et al.*, 2018; STANISZEWSKA, 2020).

Os biofilmes são comunidades de microrganismos aderidos na superfície de células, órgãos, tecidos e substratos abióticos, como dispositivos médicos (catéter urinário ou venoso central, válvulas cardíacas artificiais ou próteses odontológicas) (TSUI *et al.*, 2016).

A capacidade de formação de biofilme está relacionada com o aumento da patogenicidade, contribuindo para a resistência de *C. albicans* frente aos antifúngicos, acarretando sérios problemas de saúde. Os mecanismos envolvidos na proteção das células fúngicas por meio dos biofilmes são: (1) evitando a penetração (barreira física/química) dos medicamentos, mediados por bombas de efluxo. Existem até o momento dois tipos de bombas que participam desse mecanismo de resistência do biofilme de *C. albicans*, tipo ABC (*ATP-binding cassette*) e do tipo MFS (*major facilitators superfamily*); (2) regulando as rotas energéticas, glicose, ácido graxo e o aumento da síntese ergosterol (BASSETTI *et al.*, 2019; MAYER *et al.*, 2013)

Ainda dentro dos atributos da virulência, as enzimas hidrolíticas (proteínase, lipase e fosfolipase), estão diretamente relacionadas com a aquisição de nutrientes para células de *C. albicans*, pois induz degradação celular e consecutivamente dano tecidual, promovem também crescimento celular, adesão e a filtração das células fúngicas, proporcionando a disseminação de *C. albicans* no organismo do hospedeiro (TSAI *et al.*, 2013).

Das inúmeras enzimas secretadas pela espécie *C. albicans*, destaca-se, as proteases aspárticas secretadas (PAS), uma família com 10 genes (*sap proteins*) (TSAI *et al.*, 2013). Os genes *saps* são expressos durante as várias fases das células *C. albicans*, por exemplo, *sap1* e *sap3* são expressos em leveduras, enquanto *sap4* e *sap6* em hifas. As Saps possuem características especializadas durante o processo infeccioso, tais como: degradação do grande número de moléculas, incluído albumina e colágeno tipo IV. Essas proteínas são importantes na estrutura das células do tecido, a degradação delas permite que a *C. albicans* destrua as barreiras do hospedeiro, e dessa maneira, penetre profundamente nos tecidos ou na corrente sanguínea (TSAI *et al.*, 2013; DADAR *et al.*, 2018).

4. INFECÇÕES CAUSADAS POR *C. albicans*

As infecções por *C. albicans*, clinicamente podem se classificar de duas formas: candidíase superficial ou sistêmica (JAYATILAKE; SAMARANAYAKE, 2010). A candidíase superficial é a mais comum da espécie *C. albicans*, pois é encontrada com maior frequência na microflora humana (TSAI *et al.*, 2013).

A candidíase orofaríngea, ocorre devido colapso da imunidade local e está associada a doenças subjacentes, como diabetes. Além disso, orofaríngea foi uma das primeiras manifestações de imunodeficiência induzida por HIV, é a mais comum, um indicador para a progressão da doença AIDS (TSAI *et al.*, 2013).

A candidíase vulvovaginal (CVV), ocorre no trato genital feminino devido a alteração do pH ou desequilíbrio da microflora da região, consequência o aumento da proliferação de leveduras, com diversas manifestações clínicas: prurido, ardor, dor, lesões trato genital, favorecendo o estabelecimento de coinfeções por patógenos oportunistas (TSAI *et al.*, 2013).

Por outro lado, a infecção sistêmica ocorre por deficiência do sistema imunológico, podendo as leveduras disseminarem para corrente sanguínea, e assim, infectar vários tecidos e órgãos. No Brasil, candidíase profunda é responsável por uma média de 2,23 episódios / 1000 internações e uma taxa de mortalidade em 30 dias de 55,9% (MEDEIROS *et al.*, 2019). Outra revisão sobre a candidíase foi realizada por Mello *et al.* (2017), segundo os autores a candidíase profunda corresponde a 2,49 casos por 1.000 admissões hospitalares. O que significa uma similaridade com os dados, além de uma significativa taxa de infecção.

5. TRATAMENTO

O arsenal disponível para o tratamento de fungos é bastante limitado, devido a diversos fatores, que incluem: (1) Similaridade bioquímica e fisiológica existente entre as células fúngicas e células humanas, (2) Falta de descoberta de novos fármacos, (3) Terapia de longo prazo (4) Uso inadequado. Além, da maioria dos fármacos disponíveis no mercado possuem efeitos colaterais (MELLO *et al.*, 2017). Na tabela 1 estão descritas as principais classes de antifúngicos.

Tabela 1. Mecanismos de ação dos antifúngicos

Classe de fármaco	Sítio de ação na célula fúngica	Atividade
Polienos	Membrana	Promovem alteração da permeabilidade da membrana celular por ligação ao ergosterol, que acarreta desequilíbrio osmótico pela perda de íons intracelulares e consequentemente lise e morte das células.
Azóis	Membrana	Inibidores da síntese de ergosterol
Flucitosina	Núcleo	Inibidor da síntese timidilato sintetase, comprometendo assim a síntese de DNA.
Equinocandinas	Parede célula	Inibindo a $\beta(1,3)$ -glucana sintase, impedindo a síntese de glucanas.

Fonte: Adaptado de Campoy; Adrio, (2017).

O aumento de novos casos de infecções fúngicas invasivas, aliado com o desenvolvimento de resistências aos antifúngicos, serve como alerta. Sendo assim, a necessidade de síntese de novos antifúngicos mais eficazes e seguros (CAMBOY; ADRIO, 2017). Atualmente tem se empregado a utilização de métodos de biologia molecular para detecção do genoma de fungos, que são promissores por apresentar diversas vantagens: (1) detecção da instalação precoce do patógeno, (2) tratamento com antifúngicos adequados, e assim, diminuindo a taxa de mortalidade (3) redução do tempo de internação de paciência em UTIs, (DADAR *et al.*, 2018).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Infecções causadas por *C. albicans* são um problema no mundo inteiro. Com a preocupação quase totalmente voltada para as bactérias que causam infecções hospitalares, a infecções por fungos são muitas vezes negligenciadas. Dessa forma, entender o patógeno, os mecanismos de infecção e o tratamento adequado, é de suma importância para combater infecções mais graves que podem demandar altos custos ao paciente e ao sistema de saúde.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, T. J. E. *et al.* A. M. C. Invasive candidiasis and oral manifestations in premature newborns. **Einstein**. v. 11(1), p. 71, 2013.
- ARENDRUP, M. C.; PATTERSON, T. F. Multidrug-resistant *Candida*: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. **The Journal of infectious diseases**, v. 216, n. 3, p. S445-S451, 2017.
- BASSETTI, M. *et al.* Incidence and outcome of invasive candidiasis in intensive care units (ICUs) in Europe: results of the EUCANDICU project. **Critical Care**. v. 23, n. 1, p. 219, 2019.
- CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochemical pharmacology**. v. 133, p. 86-96, 2017.
- CAMPS, I. R.; JARQUE, I. Enfermedades invasoras por hongos levaduriformes en pacientes Neutropénicos. **Revista Iberoamericana Micología**. v. 33, n. 3, p. 170-175, 2016.
- CANELA, H. M. S. *et al.* Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. **Mycoses**. v. 61, n. 1, p. 11-21, 2018.
- DADAR M. *et al.* *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control - An update. **MicrobPathog**, v. 117, p. 128, 2018.
- FELIX, T. C.; DE BRITO RÖDER, D. V. D.; DOS SANTOS PEDROSO, R. Alternative and complementary therapies for vulvovaginal candidiasis. **Folia microbiologica**, v. 64, n. 2, p. 133-141, 2019.
- FIDEL, P.L.; NOVERR, M. Mucosal immunity to *Candida albicans*. In: Calderone RA, Clancy CJ, editors. *Candida and candidiasis*. **2nd ed. Washington DC: ASM Press**. v. 2, p. 137-55, 2012.
- FORSBERG, K. *et al.* *Candida auris*: The recent emergence of a multidrug-resistant fungal pathogen. **Medical mycology**, v. 57, n. 1, p. 1-12, 2019.
- GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical microbiology reviews**. v. 12, n. 3, p. 454-500, 1999.
- MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**. v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.
- MEDEIROS, M. A. P. *et al.* Epidemiology and prognostic factors of nosocomial candidemia in Northeast Brazil: A six-year retrospective study. **PLoS one**, v. 14, n. 8, p. e0221033, 2019.
- MELLO, T. P. *et al.* Fungal biofilm – a real obstacle against an efficient therapy: lessons from *Candida*. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. v. 17, p. 1-18, 2017.
- MORAN G.; COLEMAN D.; SULLIVAN, D. An introduction to the medically important *Candida* spp. In: Calderone RA, Clancy CJ, editors. *Candida and candidiasis*. **2nd ed. Washington DC: ASM Press**. v. 2, p. 9-25, 2011.
- PAPPAS, P. G. *et al.* Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**. v. 4 (1), p. 1-20, 2018.

POULAIN, D. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. **Crit Rev Microbiol.** v. 41, n. 2, p. 208-217, 2013.

QUINDÓS, G *et al.* The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar *Candida albicans* to multiresistant *Candida auris*. **International Microbiology**, v. 21, n. 3, p. 107-119, 2018.

SANGUINETTI, M.; POSTERARO, B.; LASS-FLÖRL, C. Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. **Mycoses**, v. 58, p. 2-13, 2015.

SARDI, J. de C. O. *et al.* *Candida auris*: Epidemiology, risk factors, virulence, resistance, and therapeutic options. **Microbial pathogenesis**, v. 125, p. 116-121, 2018.

STANISZEWSKA, M. Virulence factors in *Candida* species. **Current Protein and Peptide Science**, v. 21, n. 3, p. 313-323, 2020.

TSAI, PEI-W. *et al.* Study of *Candida albicans* and its interactions with the host: a mini review. **BioMedicine**. v. 3, n. 1, p. 51-64, 2013.

TSUI, C.; KONG, E. F.; JABRA-RIZK, M. Ann. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. **FEMS Pathogens and Disease**, v. 74, n. 4, p. 1-18, 2016.

VON LILIENFELD-TOAL, M. *et al.* Invasive Fungal Infection: New Treatments to Meet New Challenges. **Deutsches Ärzteblatt International**. v. 116, n. 16, p. 271, 2019.

CAPÍTULO 12

COMO A TECNOLOGIA FARMACÊUTICA PODE AUXILIAR NO DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO DE MEDICAMENTOS ANTIFÚNGICOS (PARTE 1)

Lucas Amadeu Gonzaga da Costa

Mestrando em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: pesquisa.lucas.gonazaga@gmail.com

Myla Lôbo de Souza

Doutoranda em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: mylobo.souza@gmail.com

Aline Silva Ferreira

Doutoranda em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: aline-farma@outlook.com

Asley Thalia Medeiros Souza

Graduanda em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: asleythalia_@hotmail.com

Pedro José Rolim Neto

Professor titular da Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: rolim.pedro@gmail.com

RESUMO: Medicamentos antifúngicos apresentam alguns problemas relacionados a solubilidade, a distribuição em sítios específicos de ação e a toxicidade. Além disso, o surgimento de cepas resistentes aos antifúngicos mais comuns empregados na clínica tem exigido, além da busca por novos compostos e entidades químicas, o emprego de tecnologias que permitam uma maior eficácia e segurança dos antifúngicos já presentes no arsenal clínico. Um dos meios pelos quais tais problemas podem ser contornados é através do emprego de carreadores e *drug delivery systems*, especialmente aqueles em escala micrométrica e nanométrica. No

presente capítulo foram reunidos alguns estudos que falam sobre as possibilidades de emprego desses carreadores para doenças fúngicas, bem como seus conceitos. Estão elencados os *drug delivery systems* mais encontrados nas buscas, bem como os mais relevantes em termos de estudos atuais, como é o caso das nanopartículas poliméricas, nanofibras, nanopartículas lipídicas, nanoemulsões, sistemas auto-emulsificantes, entre outros encontrados nas buscas.

ABSTRACT: Antifungal drugs have some problems related to the solubility, distribution at specific sites of action and toxicity. Furthermore, the emergence of resistant strains to the most common anti-fungals prescribed in routine clinical care has required, in addition to the search for new compounds and chemical entities, the use of technologies that allow greater efficacy and safety of the already existing anti-fungal therapeutic armamentarium. One of the ways in which such problems can be solved is through the use of carriers and drug delivery systems, especially those in micrometric and nanometric scales. In this chapter, some studies that discuss the possibilities of using these carriers for fungal diseases, as well as their concepts, have been gathered. The drug delivery systems most commonly found in searches are listed, as well as the most relevant in terms of current studies, such as polymeric nanoparticles, nanofibers, lipid nanoparticles, nanoemulsions, self-emulsifying systems, among others found in searches.

1. INTRODUÇÃO

As doenças causadas por fungos, diferentemente de outras doenças infecciosas, como é o caso das causadas por bactérias, vírus e alguns parasitas ainda não são plenamente encaradas como problemas de saúde pública mundial (RODRIGUES; NOSANCHUK, 2020). Dados de 2017 revelam que mais de 1 bilhão de pessoas tem alguma doença fúngica superficial (como na pele, cabelos e unhas) e que mais de 1,5 milhões de pessoas morrem todos os anos em decorrência de doenças causadas por fungos, de acordo com dados do *Global Action Fund for Fungal Infections* (BONGOMIN *et al.*, 2017; RODRIGUES; NOSANCHUK, 2020). No Brasil, um estudo realizado por Giacomazzi e colaboradores (2016) demonstrou que cerca de 3,8 milhões de pessoas sofrem de alguma doença fúngica mais grave.

Além dos altos números de pessoas que sofrem por tais patologias, há alguns problemas associados com os tratamentos mais clássicos e empregados na clínica para doenças fúngicas. Primeiro pode ser citado o fato de que as classes de antifúngicos empregados de modo recorrente na clínica são poucos; o segundo é que alguns deles apresentam toxicidade relevante que nem sempre compensam o seu uso; e o terceiro é que os alvos moleculares para tais fármacos são muito similares (PIANALTO; ALSPAUGH, 2016).

A baixa variedade de alvos terapêuticos faz com que seja mais provável o desenvolvimento de resistência aos poucos medicamentos disponíveis e já há o aumento crescente de relatos de cepas resistentes aos antifúngicos mais utilizados na clínica (LEE *et al.*, 2020; ROBBINS; WRIGHT; COWEN, 2017). O desenvolvimento e pesquisa de novos fármacos e entidades químicas que sejam efetivos contra cepas resistentes também se demonstra um desafio por conta da natureza eucariótica dos fungos, em que moléculas promissoras demonstram toxicidade também para células humanas (ROEMER; KRYSAN, 2014), além de problemas físico-químicos das moléculas, farmacocinéticos e farmacodinâmicos (FUENTEFRÍA *et al.*, 2018).

Como alternativa, pode-se empregar o melhoramento tecnológico de fármacos e medicamentos já disponíveis de modo a se contornarem problemas físico-químicos (como solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade), de farmacocinética, de toxicidade, de seletividade e de eficácia (BHATIA, 2016). Novos sistemas são desenvolvidos todos os anos de modo a solucionar problemas em específico, seja na área da saúde, alimentação ou agricultura.

O capítulo agrupou, dentro de classificações mais convencionais, diferentes tipos de tecnologias farmacêuticas que vêm sendo empregadas nos últimos anos na área de desenvolvimento de novos medicamentos antifúngicos. Na primeira parte serão abordados os carreadores e *drug delivery systems*, como é o caso de nanopartículas, nanoemulsões, lipossomas, sistemas auto-emulsificantes, entre outros, com base em sua composição principal. Num segundo capítulo serão abordados os sistemas que utilizam excipientes inteligentes em sua composição, como ciclodextrinas, dispersões sólidas, polímeros inovadores etc. É importante ressaltar que mais de uma tecnologia pode ser empregada numa mesma formulação, não se excluindo entre si, como é o caso de misturas de lipídeos e polímeros nas mesmas nanopartículas, de microemulsões em géis, dentre outras possibilidades.

2. CARREADORES E *DRUG DELIVERY SYSTEMS*

Os ditos *drug delivery systems* (ou sistemas de entrega de fármacos, em tradução livre), como o próprio nome sugere, são sistemas que possuem a capacidade diferencial de entregar ou modular a entrega de substâncias de interesse a um ou mais locais desejados. De acordo com Kakkar e colaboradores (2017), tais sistemas precisam preencher alguns requisitos, como ter capacidade de carrear tais substâncias, mantê-las em concentração ideais nos seus locais de ação, facilitar a interação celular para captação do fármaco e apresentar segurança em termos de imunogenicidade, além de ser passível de produção industrial.

O grupo mais proeminente dentro desses sistemas são aqueles que possuem como diferencial suas dimensões. Com o impulsionamento da nanotecnologia iniciado pelo físico Richard Feynman em 1959, várias áreas do conhecimento começaram a explorar as propriedades de materiais em escalas do micrômetro e do nanômetro, inclusive o setor farmacêutico e cosmético (SAFARI; ZARNEGAR, 2014). A partir de tais estudos surgiram os lipossomas, as nanopartículas poliméricas, as nanopartículas metálicas, os dendrímeros, os nanocristais e uma vasta gama de *drug delivery systems* (PATRA *et al.*, 2018) em escala nanométrica, bem como um crescente número de patentes (DA COSTA *et al.*, 2020).

2.1 CARREADORES E *DRUG DELIVERY SYSTEMS* POLIMÉRICOS

Polímeros são longas cadeias compostas a partir da repetição de uma molécula ou de mais de uma molécula (copolímero). Podem apresentar vantagens

ao compor *drug delivery systems* por possuírem diversas formas de produção, serem escalonáveis industrialmente, permitirem a encapsulação de drogas hidrofóbicas e hidrofílicas, entre outras (BHATIA, 2016).

2.1.1 NANOPARTÍCULAS E MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

As nanopartículas são sistemas carreadores de fármacos que, quando compostas por polímeros, podem ser classificadas como nanocápsulas ou nanoesferas. As nanocápsulas se assemelham em estrutura com as cápsulas, sendo um sistema em que o polímero se apresenta na superfície da estrutura, ao redor de um centro que pode carrear fármacos e misturas, como é o caso de óleos. Já as nanoesferas são sistemas em que o polímero encontra-se distribuído em todo o volume da nanopartícula, sendo o fármaco disperso na matriz (BHATIA, 2016).

Os polímeros que podem ser empregados são tanto de origem natural, como é o caso da quitosana e alginato (naturais), quanto sintética como é o caso do ácido poli(láctico-co-glicólico), o PLGA e poli(ácido láctico), o PLA (sintéticos). As nanopartículas poliméricas apresentam algumas vantagens como *drug delivery systems* porque modificam a taxa de liberação do fármaco, podem ser funcionalizadas na superfície, apresentam boa estabilidade, permitem altas taxas de encapsulação e protegem os fármacos e misturas dentro de sistemas biológicos (ZIELIŃSKA *et al.*, 2020). Diversos são os campos em que nanopartículas poliméricas podem ser aplicadas, inclusive no tratamento de doenças antifúngicas.

Em um estudo realizado por Alvarez-Berrios e colaboradores (2020) desenvolveu micropartículas de alginato, um polímero natural, com anfotericina B (AmB), fármaco disponível em nanoformulações lipídicas, mas que apresentam maior custo, causam toxicidade pulmonar e demandam repetidas administrações. Os resultados de ensaios *in vitro* demonstraram que o carreador apresentou atividade contra cepas de *Candida albicans* de igual valor ao fármaco livre, bem como menor toxicidade a células pulmonares e perfil de liberação aprimorado para diminuir a quantidade de administrações. Outro estudo avaliou o potencial de nanopartículas de alginato, mas com miltefosina, um fármaco com atividade antifúngica comprovada sobre diversas espécies. Os resultados desse estudo demonstraram que o sistema apresentou menor toxicidade que o fármaco livre tanto em modelos hemolíticos quanto com o uso de larvas de *Galleria mellonella*, além de aumentarem o tempo de vida das larvas quando infectadas com *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp., apesar de não apresentarem a mesma atividade do fármaco livre

em testes de susceptibilidade antifúngica.

O alginato também foi empregado no desenvolvimento de nanopartículas contendo ebselen, um organoselênio, para o tratamento de infecções de pele causadas por *Candida* spp. no trabalho feito por Jaromin e colaboradores (2018). Os resultados dos testes de susceptibilidade antifúngica demonstraram que a nanopartícula apresentou melhores resultados que o fármaco livre contra três espécies de fungos testadas, exceto para a *Candida glabrata*, ao mesmo tempo em que apresentou bons resultados de citotoxicidade em fibroblastos.

A quitosana também é um polímero natural que vem sendo estudada nos últimos anos para o desenvolvimento de sistemas carreadores. Park e colaboradores (2017) desenvolveram uma nanopartícula polimérica de quitosana conjugada com um peptídeo antifúngico, a histatina 5 e com a AmB, de modo que a liberação era pH dependente e direcionada para as células fúngicas. Os resultados dos testes *in vitro* foram promissores, tanto no teste de susceptibilidade antifúngica contra cepas de *Candida albicans* por apresentarem melhores resultados que a AmB livre e a nanopartícula apenas com a AmB, quanto no teste de citotoxicidade. Testes em murinos também foram realizados, de modo que a taxa de sobrevivência dos animais infectados com *Candida albicans* foi de 100% para o regime de administração de 1mg/kg 3 vezes ao dia.

O PLA foi o polímero de escolha no estudo realizado por Endo e colaboradores (2020) para o desenvolvimento de nanopartículas contendo cetoconazol para o tratamento de infecções causadas por leveduras de *Candia* spp. e por fungos dermatófitos, bem como de seus biofilmes. Os testes de susceptibilidade antifúngica demonstraram que as nanopartículas foram eficazes contra diversas espécies de fungos avaliadas cerca de 2 a 8 vezes mais que o fármaco livre, apesar de terem sido menos eficazes que o mesmo nos ensaios realizados em biofilmes.

2.1.2 NANOFIBRAS E MICROFIBRAS POLIMÉRICAS

Outro tipo de sistema compostos por polímeros são as nanofibras e microfibras, que, como o próprio nome sugere, apresentam-se sob a forma de fios poliméricos de diâmetros nanométrico e micrométrico e que apresentam alta área superficial. Elas são capazes de alterar a liberação de fármacos, de carrear diversas substâncias, como antibióticos, proteínas e DNA, bem como vêm sendo estudadas como plataformas de desenvolvimento de tecidos. Assim como os sistemas

nanoparticulados poliméricos, as nanofibras também podem ser fabricadas com polímeros sintéticos (como PLA e PLGA) ou naturais (como celulose e quitosana) (HU *et al.*, 2014).

O polivinil álcool (PVA) foi alvo de estudo em trabalho feito por Semnani e colaboradores (2017) para desenvolvimento de nano e microfibras contendo fluconazol. Eles obtiveram as fibras em coletores compostos por algodão e poliéster, avaliando essa plataforma frente à espécie *Candida albicans* por meio de teste de susceptibilidade a antimicrobianos. Foi observado que o aumento da proporção de fluconazol aumentou o diâmetro das fibras, indo de nanofibras a microfibras e que as plataformas desenvolvidas apresentaram atividade contra a cepa estudada em diferentes níveis.

Um estudo realizado por Nematpour e colaboradores (2020) desenvolveu uma formulação de nanofibras de alginato, dextrano e PVA mucoadesivas contendo clotrimazol para o tratamento de candidíase vaginal. Os resultados obtidos demonstraram que as nanofibras desenvolvidas apresentaram maior mucoadesividade que filmes desenvolvidos em paralelo devido à maior área superficial das primeiras, bem como maior atividade contra *Candida albicans* e *Candida dubliniensis*, provavelmente por conta de um estado de maior amorfização das nanofibras que permitem uma maior solubilidade do clotrimazol, fármaco majoritariamente hidrofóbico. Ensaios de citotoxicidade também demonstraram que as nanofibras são seguras.

2.2 CARREADORES E *DRUG DELIVERY SYSTEMS* LIPÍDICOS

Entre as variedades de matrizes disponíveis para uso em nanocarreadores sendo atualmente investigadas, os lipídeos possuem destaque devido às vantagens de maior grau de biocompatibilidade e versatilidade. São viáveis para formular produtos farmacêuticos e cosméticos que podem ser adaptados para diversas vias de administração e condições patológicas. Comparados à nanocarreadores de outras matrizes, possuem as vantagens de maior capacidade de encapsulamento de ativos, biocompatibilidade, maior estabilidade, permeação cutânea superior, baixo risco, menor custo, além de poderem ser formulados sem uso de solventes orgânicos (ATTAMA; MOMOH; BUILDERS, 2012; MISHRA; SHANDILYA; MISHRA, 2018).

Geralmente, nanocarreadores lipídicos são utilizados para melhorar a biodisponibilidade de fármacos com baixa solubilidade e permeabilidade (Sistema de

Classificação Biofarmacêutica Classes II e IV), mas também atende à várias outras aplicações conforme as necessidades dos fármacos e doenças investigados. Além disso, dentre suas outras funções estão: proteção dos compostos ativos contra degradação, conferindo estabilidade; liberação controlada e/ou prolongada de ativos; direcionamento sítio-específico; redução de toxicidade (LI *et al.*, 2017). Baseado na eficácia do uso de nanocarreadores lipídicos em diversas funções, já existem diversos medicamentos sendo comercializados para o tratamento de diversas doenças, tais como Doxil[®], AmBisome[®], Depocyt[®], Amphocil[®] e DepoDu[®](MISHRA; SHANDILYA; MISHRA, 2018).

A depender da estrutura e tamanho da partícula, os tipos de nanocarreadores lipídicos são variados, sendo os mais comuns as nanopartículas, lipossomas, nanoemulsões e microemulsões (ATTAMA; MOMOH; BUILDERS, 2012). Entre as nanopartículas estão as Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) e os Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN), os quais são sistemas matriciais que variam entre 50 e 1000 nm (PURI *et al.*, 2009). NLS são nanopartículas compostas por lipídeos sólidos à temperatura ambiente como matriz, o que lhe confere desvantagens como crescimento da partícula, baixa taxa de incorporação e expulsão de ativos devido a característica cristalina e transições polimórficas dos lipídeos. Tal fato levou ao desenvolvimento dos CLN, os quais são caracterizados pela matriz composta por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos, que permitiu aumentar o encapsulamento e retenção do ativo (GORDILLO-GALEANO; MORA-HUERTAS, 2018; SHIRODKAR *et al.*, 2019). Já os Lipossomas são estruturas vesiculares formadas por bicamadas de fosfolipídios separadas por domínios aquosos e que compreendem um núcleo aquoso, com tamanhos variando de nanômetros à micrômetros, inclusive com variações nas quantidades de lamelas, podendo ser vesículas multilamelares (MLVs), pequenas vesículas unilamelares (SUVs) e grandes vesículas unilamelares (LUVs). Possui extensa versatilidade sua estrutura hidrofílica e hidrofóbica, passível de incorporação de ativos de diferentes solubilidades (BOZZUTO; MOLINARI, 2015). Quanto aos sistemas emulsionados, as Nanoemulsões (NE) e Microemulsões (ME) são as mais utilizadas. MEs e NEs podem ser definidos como a dispersões nanométrica de uma fase líquida em outra na qual não é solúvel, geralmente compostos por uma fase aquosa, uma fase oleosa e tensoativos (ANTON; VANDAMME, 2011). NE são sistemas cineticamente estáveis, com tamanhos variando entre 50-500nm, enquanto ME são termodinamicamente estáveis,

ópticamente isotrópicas, com tamanho que varia de 10-200 nm, porém requer o uso de altos níveis de tensoativos, os quais podem ser tóxicos e irritantes (MCCLEMENTS, 2012).

Independente do tipo de estrutura, os carreadores lipídicos possuem vantagens para administração cutânea devido sua maior compatibilidade com a composição da pele, o que permite melhor penetração e permeação, além de possuir efeito emoliente e atividade reparadora da pele. Assim, a escolha do carreador vai depender do ativo usado, a doença a ser tratada e o tipo de administração pretendida, podendo ser dérmica ou transdérmica (HUA, 2015; WAGHULE *et al.*, 2020). No caso das doenças fúngicas, tanto as infecções fúngicas superficiais que requerem administração tópica, como as infecções invasivas, as quais necessitam de tratamento sistêmico, podem se beneficiar de carreadores inovadores que corrijam os problemas dos agentes antifúngicos utilizados na prática clínica, como o espectro de atividade, propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas (SAINI; ARORA; GUPTA, 2020; SOLIMAN, 2017). Assim, tais doenças podem se beneficiar das vantagens dos nanocarreadores lipídicos. Os principais estudos são relatados a seguir, subdivididos por tipo de nanocarreador lipídico.

2.2.1 Lipossomas

Muitos estudos têm se debruçado para avaliar a eficiência de lipossomas como estratégia para aprimorar a eficácia dos fármacos e tratar tais infecções. O voriconazol apresenta falhas inerentes em terapias e sua incorporação em lipossomas mostrou algumas vantagens. No estudo de Veloso e colaboradores (2018), o encapsulamento resultou em atividade antifúngica melhorada em modelo animal de candidíase sistêmica causada por *Candida albicans* e *Aspergillus* sp., devido ao aumento da especificidade e penetração nos tecidos, proteção do fármaco contra degradação biológica com redução de 30% da taxa de metabólito inativo. Outro estudo comparou a ação do voriconazol contra *Trichophyton rubrum* em diferentes nanocarreadores, mostrando redução da MIC₅₀ e MIC₉₀ e melhor deposição na pele quando incorporado em CLN e lipossomas, inclusive proporcionando concentrações de drogas nas camadas mais internas da pele acima dos valores de MIC (SANTOS *et al.*, 2018).

Outro estudo que desenvolveu lipossomas, com propriedades mucoadesivas e contendo sertaconazol para tratamento local de candidíase vaginal, mostrou

aumento da atividade antifúngica, além da retenção do fármaco no tecido e redução da permeabilidade do fármaco quando usado um gel contendo fármaco em lipossoma mucoadesivo, em comparação com o gel contendo o fármaco em sua forma convencional. A retenção do fármaco no tecido e a absorção sistêmica reduzida servem para desenvolver a forma de aplicação local, minimizando a absorção sistêmica do fármaco (ABDELLATIF *et al.*, 2020). A eficácia de lipossomas carregados com óleo essencial de *Artemisia annua* foi testada contra diversas cepas de *Candida* spp., cujos resultados mostraram aumentam de sua eficácia, apresentando concentrações fungicidas mínimas (MFC) para o óleo encapsulado em média 1/3 da MFC do óleo livre, sendo as espécies mais suscetíveis a *Candida norvegensis* e *Candida krusei* (RISALITI *et al.*, 2020).

A fim de verificar a eficácia de lipossomas contendo fluconazol associado à C₁₂AHL (*N*-3-oxo-dodecanoil-L-homoserina lactona - molécula sinalizadora secretada por *P. aeruginosa*), Bandara e colaboradores (2020) mostraram que o carreador conseguiu reduzir a concentrações inibitórias mínimas de biofilme (MBIC) do fluconazol para *Candida albicans* de 512 µg/mL para 5,5 µg/mL. Em outro estudo, diferentes lipossomas desenvolvidos contendo anidulafungina conseguiram aumentar a solubilidade do fármaco e auxiliar a liberação nos fungos, reduziram a carga fúngica em até 99% e também interromperam biofilmes pré-formados de *Candida albicans* de forma superior em comparação com o fármaco não encapsulado (VERA-GONZÁLEZ *et al.*, 2020). Como os fracassos das terapias atuais anti-biofilme estão principalmente ligados à fraca penetração do fármaco no biofilme e à ligação inespecífica na matriz do biofilme, os nanocarreadores surgem como uma abordagem para facilitar a penetração do fármaco.

2.2.2 Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN)

O sistema nervoso central é um dos locais de ação mais difíceis de se alcançar devido a fraca penetração de ativos através da barreira hematoencefálica, podendo ser aprimorada com uso de nanocarreadores. Um estudo buscou avaliar o tratamento da meningoencefalite causada por *Cryptococcus neoformans* utilizando cetoconazol em CLN, cujos resultados mostraram atividade superior do cetoconazol encapsulado em comparação com o cetoconazol livre quando administrados por via intranasal, devido atividade antifúngica significativamente aumentada, propriedades de penetração no tecido aprimoradas e residência prolongada (DU *et al.*, 2019).

Para tentar diminuir efeitos adversos sistêmicos e interações medicamentosas

relacionados aos antifúngicos, pesquisas têm sido desenvolvidas usando CLN visando aplicação tópica. Passos e colaboradores (2020) buscavam tratamento tópico cutâneo para esporotricose e mostraram que itraconazol encapsulado em CLN possibilitou a retenção dérmica do fármaco em até duas vezes mais, mantendo a eficácia antifúngica contra *Sporothrix brasiliensis* e *Candida albicans*. Em outra pesquisa, CLN contendo AmB foi testado como tratamento tópico de candidíase vulvovaginal, e demonstrou acúmulo significativo do fármaco na pele, potência aprimorada contra cepas de *Candida albicans* em comparação com o fármaco livre, com eficácia superior do gel contendo AmB encapsulado em CLN no modelo *in vivo* em comparação com o gel AmB sem CLN (RIAZ *et al.*, 2020).

Já para via ocular, um estudo desenvolveu CLN contendo AmB e avaliaram sua biodistribuição após instilação tópica, como tratamento de ceratomicoses causadas por *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus* (LAKHANI *et al.*, 2019). O CLN peguado carregado com AmB mostrou atividade antifúngica comparável ou melhor do que Fungizone e AmBisome, e produziu distribuição de AmB, com concentrações estatisticamente semelhantes em todos os tecidos oculares testados. Portanto, tanto para uso tópico como sistêmico, os CLNs têm mostrado eficácia como sistemas de boa distribuição tecidual e aumento de eficácia.

2.2.3 Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)

Visando comparar os carreadores, uma pesquisa investigou como NLS e CLN podem melhorar a biodisponibilidade oral e melhorar a atividade antifúngica do cetoconazol contra *Candida albicans* (DUDHIPALA; AY, 2020). Ambas as formulações aumentaram a atividade antifúngica do fármaco em comparação com a suspensão aquosa, bem como as aumentaram em mais de duas vezes a concentração máxima (C_{max}) *in vivo* após a administração oral em comparação ao cetoconazol livre, sendo a biodisponibilidade levemente melhor com o CLN.

Para a administração oftálmica de medicamentos, o desafio é vencer diferentes barreiras oculares que diminuem a absorção, necessitando de sistemas de aplicação ocular eficientes com melhor penetração. Nesse sentido, um estudo avaliou NLS contendo natamicina para aumentar permeação corneana e aprimorar atividade antifúngica em Ceratite causada por *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* (KHAMES *et al.*, 2019). Os resultados mostraram atividade antifúngica aprimorada com o fármaco incorporado na NLS, levando ao aumento da zona de

inibição e diminuição da MIC em mais de duas vezes, além de aumento da absorção ocular da natamicinanas camadas profundas da córnea.

Diferentes formulações de NLS contendo fitol foram testadas quanto à sua eficácia antifúngica em diferentes cepas de *Candida* spp., cujos resultados mostraram que as nano partículas foram capazes de melhorar a atividade antifúngica do fitol diminuindo as MICs em aproximadamente 300 vezes em relação ao fitol não encapsulado, inclusive em *Candida krusei* que é uma espécie resistente ao fluconazole (LIMA *et al.*, 2020).

Clotrimazol e ácido alfalipólico incorporados em NLS foram testadas como um sistema de entrega duplotópico contra *Candida albicans*, mostrando que a atividade foi igual entre o fármaco livre e incorporado em NLS, porém a MIC foi reduzida à metade quando o fármaco foi incorporado em NLS catiônicas, mostrando que o revestimento de nano partículas pode ser uma estratégia eficaz para melhorar a eficácia (CARBONE *et al.*, 2020). O miconazol encapsulado em NLS também foi avaliado como tratamento tópico contra *Candida albicans*, onde a nano partícula melhorou a retenção e distribuição cutânea e a atividade antifúngica do fármaco em comparação ao mesmo em solução, além de apresentar menor irritação (ALMAGHRABI *et al.*, 2020).

NLS contendo fluconazole foram testadas contra diferentes cepas de *Candida* spp. *in vitro*, cujo resultado mostrou que as nano partículas conseguiram reduzir o MIC em diversas cepas resistentes ao fluconazol, mostrando atividade antifúngica eficaz (MOAZENI *et al.*, 2016). Em um ensaio clínico controlado randomizado, NLS com fluconazole foram incorporadas em um gel e testado como tratamento tópico da pitiríase versicolor causado por *Malassezia* sp., em comparação com um creme comercial de clotrimazol 1% (EL-HOUSINY *et al.*, 2018). Os resultados mostraram eficácia clínica superior do gel contendo as nanopartículas de fluconazol, com melhora na resposta terapêutica 1,4 vezes maior, porcentagem de cura 4 vezes maior e erradicação completa em comparação ao creme comercializado, que pode ser atribuído à penetração aprimorada na pele do fármaco quando encapsulado. Assim, vários fármacos tradicionais foram testados em NLS para diversas vias de administração com algum sucesso, inclusive em ensaio clínico.

2.2.4 Microemulsões

Embora mais timidamente, micro emulsões também foram avaliadas quanto ao seu potencial carreador em tratamentos antifúngicos, onde os estudos mais

recentes avaliaram sua aplicação tópica. Uma micro emulsão contendo na tina foi avaliada quanto à sua atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*, onde foi demonstrado que a microemulsão apresentou melhor atividade *in vitro* que o creme tópico comercial com o mesmo ativo, além de coeficiente de permeabilidade cinco vezes maior, sugerindo que o carreador permitiu maior penetração do fármaco nas membranas celulares dos fungos (ERDAL *et al.*, 2020). Já o fármaco nistatina, quando incorporado em micro emulsões, apresentou alta taxa de difusão e melhor atividade antifúngica *in vitro* contra *Candida albicans* sem comparação com o fármaco em suspensão, devido melhor solubilidade da nistatina nos componentes oleosos da formulação (MAQSOOD *et al.*, 2019). Entre os produtos naturais, o óleo da folha de *Citrus hystrix* DC foi incorporado em microemulsões e testados contra o fungo *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, o qual exibiu atividade antifúngica melhor que cetoconazol e fluconazol no teste (PUMIVAL *et al.*, 2020).

2.2.5 Nanoemulsões

Nanoemulsões recentemente foram testadas tanto para uso tópico como uso sistêmico de AmB. Uma nanoemulsão de líquido iônico em água contendo AmB visando uso sistêmico foi utilizada para demonstrar a robustez das nanoemulsões em melhorar a solubilidade e diminuir a toxicidade de fármacos, mantendo atividade antifúngica contra *Candida albicans* (ESSON; MECOZZI; MECOZZI, 2020). Em outro estudo, nanoemulsões contendo AmB incorporadas em gel para avaliação de atividade tópica, foi demonstrada uma taxa de fluxo de permeação percutânea mais de três vezes melhor do gel contendo a nanoemulsão e da nanoemulsão em comparação com a solução, além de melhor atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus* (HUSSAIN *et al.*, 2016).

2.2.5.1 Sistemas de entrega de fármacos auto nanoemulsificantes

Os sistemas auto emulsificantes são misturas da fase oleosa, tenso ativos e co-tensoativos, que formam espontaneamente nanoemulsão óleo em água de aproximadamente 200 nm ou menos em tamanho após diluição com água sob agitação suave (DATE *et al.*, 2010). O uso desses sistemas como formas farmacêuticas tópicas ou orais sólidas e/ou líquidas já tem sido avaliado por pesquisadores. Uma pesquisa avaliou a eficácia de Sistema auto nanoemulsificantes na melhoria da permeabilidade transcorneal do voriconazol para o tratamento da ceratite fúngica (RASOANIRINA *et al.*, 2020). Os resultados revelaram que a

MIC₉₀ da formulação desenvolvida foi semelhante à formulação comercial do voriconazol contra as espécies de cândida testada se superior contra *Aspergillus fumigatus*, além de ter apresentado maior penetração no olho e liberação sustentada do fármacos testes *in vivo*.

Para otimizar a biodisponibilidade oral da nistatina sistemas auto nanoemulsificantes foram desenvolvidos, os quais melhoraram taxa de liberação e a solubilização do fármaco em comparação com a formulação comercial, bem como apresentou uma MIC contra *C. albicans* similar *in vitro*, e foram significativamente mais eficazes na redução da carga oral do fungo em camundongos após sete dias de tratamento (KASSEM *et al.*, 2016). Em outro estudo, um Sistema auto nanoemulsificante contendo itraconazole foi incorporado em gel para uso tópico, onde foi demonstrado que o gel tinha uma atividade antifúngica significativamente maior que a solução do fármaco contra as espécies testadas, que estava relacionada ao fato de que o fármaco no sistema está em gotículas muito pequenas que melhoram sua difusão (BOTROS; HUSSEIN; MANSOUR, 2020). Portanto, os sistemas nanoemulsivos, tradicionais e auto emulsificantes, tem apresentado grandes propriedades de aprimorar a permeação de fármaco em vários tecidos, possibilitando tratamentos de doenças fúngicas por diferentes vias de administração.

3. CONCLUSÃO

O desenvolvimento de formas farmacêuticas capazes de carrear substâncias, alterando suas características físico-químicas, farmacocinéticas, tóxicas e até modular a resposta diretamente no local do sítio de ação são possíveis graças aos novos *drug delivery systems*, especialmente os que se apresentam na escala nanométrica e micrométrica, como foi possível ser visto neste capítulo. Além disso, como em outros campos de aplicação, tais carreadores se mostram promissores no tratamento de doenças causadas por fungos desde micose superficiais a sistêmicas. Dentre as principais plataformas desenvolvidas estão as nanopartículas poliméricas e lipídicas, as nano e microfibras, as nanoemulsões, os sistemas autoemulsificantes, entre outros. É importante também ressaltar que os sistemas aqui apresentados podem se apresentar de forma híbrida, como é o caso de nanopartículas híbridas de polímeros e lipídeos. O mercado envolvendo esses sistemas tende a aumentar ao longo dos anos e se tornar líder no tratamento de doenças desafiadoras.

REFERÊNCIAS

- ABDELLATIF, Menna M *et al.* Formulation and Characterization of Sertaconazole Nitrate Mucoadhesive Liposomes for Vaginal Candidiasis. *International Journal of Nanomedicine*, v. Volume 15, p. 4079–4090, jun. 2020.
- AL-MAGHRABI, Passant M. *et al.* Influence of formulation variables on miconazole nitrate-loaded lipid based nanocarrier for topical delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 193, p. 111046, set. 2020.
- ALVAREZ-BERRIOS, Merlis P. *et al.* Preparation and in Vitro Evaluation of Alginate Microparticles Containing Amphotericin B for the Treatment of Candida Infections. *International Journal of Biomaterials*, v. 2020, n. Cdc, p. 11–16, 2020.
- ANTON, Nicolas; VANDAMME, Thierry F. Nano-emulsions and micro-emulsions: Clarifications of the critical differences. *Pharmaceutical Research*, v. 28, n. 5, p. 978–985, maio 2011.
- ATTAMA, Anthony A; MOMOH, Mumuni A; BUILDERS, Philip F. Lipid nanoparticulate drug delivery systems: a revolution in dosage form design and development. *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*. [S.l: s.n.], 2012. p. 107–140. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-novel-drug-carrier-systems/lipid-nanoparticulate-drug-delivery-systems-a-revolution-in-dosage-form-design-and-development>>.
- BANDARA, H. M.H.N. *et al.* A novel, quorum sensor-infused liposomal drug delivery system suppresses Candida albicans biofilms. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 578, p. 119096, mar. 2020.
- BHATIA, Saurabh. Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication Methods and Drug Delivery Applications. *Natural Polymer Drug Delivery Systems*. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 33–93. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-41129-3_2>. Acesso em: 18 fev. 2019.
- BONGOMIN, Felix *et al.* Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. *Journal of Fungi*, v. 3, n. 4, 2017.
- BOTROS, Sara R.; HUSSEIN, Amal K.; MANSOUR, Heba F. A Novel Nanoemulsion Intermediate Gel as a Promising Approach for Delivery of Itraconazole: Design, In Vitro and Ex Vivo Appraisal. *AAPS PharmSciTech*, v. 21, n. 7, p. 1–13, out. 2020.
- BOZZUTO, Giuseppina; MOLINARI, Agnese. Liposomes as nanomedical devices. *International Journal of Nanomedicine*, v. 10, n. 1, p. 975, fev. 2015.
- CARBONE, C. *et al.* Dual-drugs delivery in solid lipid nanoparticles for the treatment of Candida albicans mycosis. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 186, p. 110705, fev. 2020.
- DA COSTA, Lucas A.G. *et al.* Innovation Overview of Nanoparticle-Based Dermatological Products: A Patent Study. *Recent Patents on Nanotechnology*, v. 14, n. 2, p. 128–140, 14 fev. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32056534/>>.
- DATE, Abhijit A. *et al.* Self-nanoemulsifying drug delivery systems: Formulation insights, applications and advances. *Nanomedicine*, v. 5, n. 10, p. 1595–1616, dez. 2010.

DU, Wei *et al.* Development of nose-to-brain delivery of ketoconazole by nanostructured lipid carriers against cryptococcal meningoencephalitis in mice. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 183, p. 110446, nov. 2019.

DUDHIPALA, Narendar; AY, Ahmed Adel. Amelioration of ketoconazole in lipid nanoparticles for enhanced antifungal activity and bioavailability through oral administration for management of fungal infections. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 232, p. 104953, out. 2020.

EL-HOUSINY, Shaimaa *et al.* Fluconazole-loaded solid lipid nanoparticles topical gel for treatment of pityriasis versicolor: formulation and clinical study. **Drug Delivery**, v. 25, n. 1, p. 78–90, jan. 2018.

ENDO, E. H. *et al.* Ketoconazole-loaded poly-(lactic acid) nanoparticles: Characterization and improvement of antifungal efficacy in vitro against *Candida* and dermatophytes. **Journal de Mycologie Medicale**, v. 30, n. 3, p. 101003, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.101003>>.

ERDAL, Meryem Sedef *et al.* In Vitro Skin Permeation and Antifungal Activity of Naftifine Microemulsions. **Turkish journal of pharmaceutical sciences**, v. 17, n. 1, p. 43–48, fev. 2020.

ESSON, Moira M.; MECOZZI, Sandro; MECOZZI, Sandro. Preparation, Characterization, and Formulation Optimization of Ionic-Liquid-in-Water Nanoemulsions toward Systemic Delivery of Amphotericin B. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, n. 6, p. 2221–2226, jun. 2020.

FUENTEFRIA, A. M. *et al.* Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Letters in Applied Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 2–13, 2018.

GIACOMAZZI, Juliana *et al.* The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses**, v. 59, n. 3, p. 145–150, 2016.

GORDILLO-GALEANO, Aldemar; MORA-HUERTAS, Claudia Elizabeth. *Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: A review emphasizing on particle structure and drug release*. [S.l.]: Elsevier B.V., 2018. v. 133. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.10.017>>.

HU, Xiuli *et al.* Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. **Journal of Controlled Release**, v. 185, n. 1, p. 12–21, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.018>>.

HUA, Susan. Lipid-based nano-delivery systems for skin delivery of drugs and bioactives. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, n. SEP, p. 219, set. 2015.

HUSSAIN, Afzal *et al.* Nanoemulsion gel-based topical delivery of an antifungal drug: *in vitro* activity and *in vivo* evaluation. **Drug Delivery**, v. 23, n. 2, p. 642–657, fev. 2016.

JAROMIN, Anna *et al.* Topical delivery of ebselen encapsulated in biopolymeric nanocapsules: Drug repurposing enhanced antifungal activity. **Nanomedicine**, v. 13, n. 10, p. 1139–1155, 2018.

KAKKAR, Ashok *et al.* Evolution of macromolecular complexity in drug delivery systems. **Nature Reviews Chemistry**, v. 1, n. 8, p. 0063, 9 ago. 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41570-017-0063>>.

KASSEM, Ahmed Alaa *et al.* Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) with enhanced solubilization of nystatin for treatment of oral candidiasis: Design, optimization, in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 218, p. 219–232, jun. 2016.

KHAMES, Ahmed *et al.* Natamycin solid lipid nanoparticles – sustained ocular delivery system of higher corneal penetration against deep fungal keratitis: preparation and optimization. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 14, p. 2515–2531, abr. 2019.

LAKHANI, Prit *et al.* Optimization, stabilization, and characterization of amphotericin B loaded nanostructured lipid carriers for ocular drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 572, p. 118771, dez. 2019.

LEE, Yunjin *et al.* Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and beyond. **Chemical Reviews**, 2020.

LI, Qianwen *et al.* A Review of the Structure, Preparation, and Application of NLCs, PNPs, and PLNs. **Nanomaterials**, v. 7, n. 6, p. 122, 2017. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2079-4991/7/6/122>>.

LIMA, Tábata L. C. *et al.* Phytol-Loaded Solid Lipid Nanoparticles as a Novel Anticandidal Nanobiotechnological Approach. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 9, p. 871, set. 2020.

MAQSOOD, I *et al.* Formulation, characterization and in vitro evaluation of antifungal activity of Nystatin microemulsion for topical application. **Pak. J. Pharm. Sci**, v. 32, n. 4, p. 1671–1677, 2019.

MCCLEMENTS, David Julian. Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719–1729, fev. 2012.

MISHRA, Dinesh K.; SHANDILYA, Ruchita; MISHRA, Pradyumna K. Lipid based nanocarriers: a translational perspective. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 14, n. 7, p. 2023–2050, out. 2018.

MOAZENI, Maryam *et al.* Time to overcome fluconazole resistant *Candida* isolates: Solid lipid nanoparticles as a novel antifungal drug delivery system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 142, p. 400–407, jun. 2016.

NEMATPOUR, Najmeh *et al.* The application of nanomaterial science in the formulation a novel antibiotic: Assessment of the antifungal properties of mucoadhesive clotrimazole loaded nanofiber versus vaginal films. **Materials Science and Engineering C**, v. 110, n. January, p. 110635, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110635>>.

PARK, Seong Cheol *et al.* Targeting and synergistic action of an antifungal peptide in an antibiotic drug-delivery system. **Journal of Controlled Release**, v. 256, p. 46–55, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.04.023>>.

PASSOS, Julia Sapienza *et al.* Development, skin targeting and antifungal efficacy of topical lipid nanoparticles containing itraconazole. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 149, p. 105296, jun. 2020.

PATRA, Jayanta Kumar *et al.* Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, p. 71, 19 dez. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>>.

- PIANALTO, Kaila M.; ALSPAUGH, J. Andrew. New horizons in antifungal therapy. *Journal of Fungi*, v. 2, n. 4, p. 10–12, 2016.
- PUMIVAL, Piyapong *et al.* Antifungal Activity and the Chemical and Physical Stability of Microemulsions Containing *Citrus hystrix* DC Leaf Oil. *Natural Product Communications*, v. 15, n. 9, p. 1934578X2095775, set. 2020.
- PURI, Anu *et al.* Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: From concepts to clinic. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, v. 26, n. 6, p. 523–580, 2009.
- RASOANIRINA, Bakoliarisoa Nivomalala Voahangy *et al.* Self-nanoemulsifying drug delivery system to improve transcorneal permeability of voriconazole: *in-vivo* studies. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 72, n. 7, p. 889–896, jul. 2020.
- RIAZ, Amina *et al.* Preparation and Characterization of Nanostructured Lipid Carriers for Improved Topical Drug Delivery: Evaluation in Cutaneous Leishmaniasis and Vaginal Candidiasis Animal Models. *AAPS PharmSciTech*, v. 21, n. 5, p. 1–14, jul. 2020.
- RISALITI, Laura *et al.* Artemisia annua essential oil extraction, characterization, and incorporation in nanoliposomes, smart drug delivery systems against Candida species. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 59, p. 101849, out. 2020.
- ROBBINS, Nicole; WRIGHT, Gerard D.; COWEN, Leah E. Antifungal Drugs: The Current Armamentarium and Development of New Agents. *The Fungal Kingdom*, p. 903–922, 2017.
- RODRIGUES, Marcio L.; NOSANCHUK, Joshua D. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, n. 2, p. 1–9, 2020.
- ROEMER, Terry; KRYSAN, Damian J. Unmet Clinical Needs , and New Approaches. *Cold Spring Harb Perspect Med*, v. 4, p. a019703, 2014.
- SAFARI, Javad; ZARNEGAR, Zohre. Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 18, n. 2, p. 85–99, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2012.12.009>>.
- SAINI, Nishu; ARORA, Vandana; GUPTA, Nisha. SOLID LIPID NANOPARTICLES FOR ANTIFUNGAL DRUG DELIVERY SYSTEM. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology*, v. 4, n. 11, p. 343–355, 2020.
- SANTOS, G. A. *et al.* The role of formulation and follicular pathway in voriconazole cutaneous delivery from liposomes and nanostructured lipid carriers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 170, p. 341–346, out. 2018.
- SEMNANI, Dariush *et al.* Investigating the performance of drug delivery system of fluconazole made of nano–micro fibers coated on cotton/polyester fabric. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 28, n. 11, p. 2–9, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10856-017-5957-9>>.
- SHIRODKAR, Rupesh K. *et al.* Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers: Emerging Lipid Based Drug Delivery Systems. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, v. 53, n. 5, p. 440–453, ago. 2019.
- SOLIMAN, Ghareb M. Nanoparticles as safe and effective delivery systems of antifungal

agents: Achievements and challenges. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 523, n. 1, p. 15–32, maio 2017.

VELOSO, Danilo F.M.C. *et al.* Intravenous delivery of a liposomal formulation of voriconazole improves drug pharmacokinetics, tissue distribution, and enhances antifungal activity. *Drug Delivery*, v. 25, n. 1, p. 1585–1594, jan. 2018.

VERA-GONZÁLEZ, Noel *et al.* Anidulafungin liposome nanoparticles exhibit antifungal activity against planktonic and biofilm *Candida albicans*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 108, n. 11, p. 2263–2276, nov. 2020.

WAGHULE, Tejashree *et al.* Emerging role of nanocarriers based topical delivery of anti-fungal agents in combating growing fungal infections. *Dermatologic Therapy*. [S.l.]: Blackwell Publishing Inc. , jul. 2020

ZIELIŃSKA, Aleksandra *et al.* Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. *Molecules*, v. 25, n. 16, p. 3731, 15 ago. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/16/3731>>.

CAPÍTULO 13

COMO A TECNOLOGIA FARMACÊUTICA PODE AUXILIAR NO DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO DE MEDICAMENTOS ANTIFÚNGICOS (PARTE 2)

Lucas Amadeu Gonzaga da Costa

Mestrando em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: pesquisa.lucas.gonazaga@gmail.com

Myla Lôbo de Souza

Doutoranda em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: mylobo.souza@gmail.com

Aline Silva Ferreira

Doutoranda em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: aline-farma@outlook.com

Asley Thalia Medeiros Souza

Graduanda em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: asleythalia_@hotmail.com

Pedro José Rolim Neto

Professor titular da Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
Endereço: Av. Prof. Arthur de Sá, S/N- Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil.
E-mail: rolim.pedro@gmail.com

RESUMO: Muitos fármacos antifúngicos apresentam problemas de solubilidade, ou seja, são fracamente solúveis em água e nos fluidos aquosos, o que leva a uma absorção limitada devido à baixa velocidade de dissolução. Dessa forma o objetivo desse capítulo foi evidenciar a aplicação de excipientes inteligentes e técnicas para obtenção de sistemas carreadores de fármacos e formulações, atrativos para o carregamento e veiculação de fármacos antifúngicos. Diversos estudos foram realizados utilizando fármacos e candidatos a fármacos antifúngicos veiculados em complexos de inclusão com ciclodextrinas, polímeros, dispersões sólidas, esmaltes

para as unhas (sistemas transungueal) e géis (hidrogéis, organogéis, microgel), com muitos resultados promissores e formulações potencias, que demonstraram principalmente incremento de solubilidade e melhora de estabilidade, além de melhora de permeação, liberação prolongada, aumento da taxa de dissolução e ação intensificada, aspectos interessantes para administração eficaz de medicamentos antifúngicos.

ABSTRACT: Many antifungal drugs have solubility problems. They are poorly soluble in water and aqueous fluids, which leads to limited absorption due to the low rate of dissolution. Thus the aim of this chapter is to highlight the application of intelligent excipients and techniques for obtaining carrier systems of drugs and formulations which are suitable for carrying and delivering antifungal drugs. Several studies have been carried out using drugs and antifungal drug candidates carried in inclusion complexes with cyclodextrins, polymers, solid dispersions, nailpolishes (transungual systems) and gels (hydrogels, organogels, microgels), with many promising results and potential formulations, which showed mainly in increased solubility and improved stability, in addition to improved permeation, prolonged release, increased dissolution rate and intensified action. That are interesting aspects for effective administration of antifungal drugs.

1 INTRODUÇÃO

Boa parte dos fármacos antifúngicos apresentam como entrave farmacológico problemas de solubilidade, são fracamente solúveis em água e nos fluidos aquosos, o que leva a uma absorção limitada devido à baixa velocidade de dissolução. Dessa forma a utilização de excipientes inteligentes e técnicas para obtenção de sistemas carreadores de fármacos vêm crescendo na área farmacêutica, dentre os quais se destacam as ciclodextrinas, polímeros, dispersões sólidas, dentre outros, visando principalmente incremento da solubilidade e modulação da liberação de fármacos (ARRUNÁTEGUI *et al.*, 2015; URBAN *et al.*, 2016).

Além disso, as formas farmacêuticas são importantes aliadas, uma vez que são formuladas para atingir objetivos específicos e a cada ano diversas inovações surgem, oferecendo vantagens como veiculação de fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos para diferentes vias de administração, liberação controlada, estabilidade, dentre outras. Nesse contexto, o objetivo desse capítulo consistiu em evidenciar a aplicação de excipientes inteligentes e técnicas para obtenção de sistemas carreadores de fármacos e formulações atrativos para carreamento e veiculação de fármacos antifúngicos.

2 EXCIPIENTES INTELIGENTES

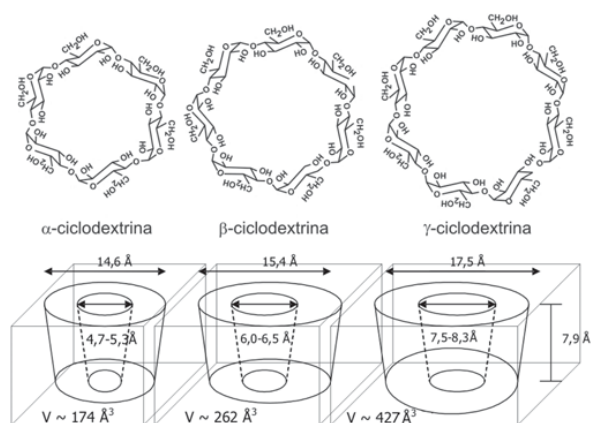
2.1 CICLODEXTRINAS

As ciclodextrinas (CD), constituem uma classe de excipientes farmacêuticos, que destacam-se devido a sua capacidade de formar complexos de inclusão (receptor-substrato) com uma variedade de substâncias que têm suas propriedades alteradas pela complexação, permitindo alterações de propriedades físico-químicas, estabilidade, redução de toxicidade, incremento de solubilidade em água e conseqüentemente melhora de biodisponibilidade. Esses complexos de inclusão podem ser obtidos por diversas técnicas como: solução com água, mistura física, liofilização, atomização, dentre outras. Elas têm formato cônico, com parte interna apolar (hidrofóbica) e parte externa polar (hidrofílica), podendo ser naturais ou semi-sintéticas. (CUNHA-FILHO & SÁ-BARRETO., 2007; VENTURINI *et al.*, 2008).

As CD naturais são sacarídeos cíclicos formados por unidades de glicose, dentre as principais estão a α -CD (6 unidades de glicose), β -CD (7 unidades de glicose) e γ -CD (8 unidades de glicose), que diferem pelo tamanho de sua cavidade conforme se pode observar na figura 1. E as ciclodextrinas semissintéticas,

modificadas através da adição de substituintes a uma ciclodextrina natural buscando melhorar ainda mais a solubilidade desses compostos, como a hidróxi-propil- α -ciclodextrina (HP- α -CD), a hidróxi-propil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), a sulfo-butil-éter- β -ciclodextrina (SB- β -CD) e a metil- β -ciclodextrina randomizada (RM- β -CD) (GUEDES *et al.*, 2008).

Figura 1. Estrutura e propriedades da α -CD, β -CD e γ -CD.



Fonte: VENTURINI *et al.*, 2008.

Características que tornam as CD atrativas para complexação com fármacos antifúngicos. Nesse sentido estudos foram realizados com a anfotericina B (AnB), um antifúngico de amplo espectro de ação, que apresenta baixa taxa de resistência, mas ainda não disponível comercialmente como formulações tópicas, apenas parenterais. Por isso Serrano e colaboradores (2012) obtiveram uma solução complexando γ -CD com AnB para aplicação tópica como colírio para tratamento da ceratite fúngica, doença que pode levar a cegueira e após as caracterizações evidenciaram que a complexação foi capaz de solubilizar a AnB, manter atividade antifúngica *in vitro* de 35% contra *C. albicans* maior que a encontrada na suspensão extemporânea de Fungizone[®] utilizada como base, conferir estabilidade físico-química, conseguir tamanho de partícula adequado e esterilidade por mais de 30 dias, aspectos importantes pois suspensões aquosas e AnB são difíceis de esterilizar por filtração, além da doença ter um período de tratamento em torno de 4 semanas (ou seja em torno de 30 dias) e são associadas a irritação devido ao tamanho de partículas, o que faz a formulação desenvolvida ser promissora.

Ainda seguindo a mesma linha Ruiz e colaboradores (2014) também desenvolveram formulações tópicas de AnB complexada com γ -CD, mas para tratar infecções cutâneas na forma de cremes e géis e dentre elas o complexo de AnB

com γ -CD em gel de metilcelulose foi o que apresentou maior atividade antifúngica contra as cepas de *Candida* spp., *Trichosporon* spp. e *Saccharomyces* spp. e quando comparado com a AnB dissolvida em DMSO, comprimidos de AnBSensitabs[®] padrão e com o creme (clotrimazol[®] creme) e comprimidos de clotrimazol (clotrimazol Neo-sensitabs[®]) o gel também demonstrou melhores resultados, *in vitro*. O gel de AnB ainda mostrou maior inibição na formação de biofilmes e maior penetração nesses biofilmes que o AnB dissolvida em DMSO. Uma formulação interessante, físico-quimicamente estável, mas que ainda precisa de mais testes para o uso em humanos.

O incremento de solubilidade e a melhora de estabilidade de candidatos a fármacos e fármacos antifúngicos com baixa solubilidade a partir da complexação com ciclodextrinas é um dos principais objetivos de alguns estudos. Sanjuan e colaboradores (2020) avaliaram complexos de inclusão (CI) liofilizados de um candidato a fármaco antifúngico, o 2-(2-nitrovinil)furano (G-0), com HP- β -CD e SB- β -CD, através de um estudo de estabilidade acelerada onde evidenciaram boa estabilidade físico química dos CI com nenhum produto de degradação detectado em 6 meses, e ainda a partir de ensaio de dissolução em fluido vaginal simulado puderam observar uma liberação rápida e na avaliação da atividade antifúngica *in vitro* tanto o G-0 isolado, como seus CI apresentaram igual atividade contra cepas de *C. albicans* porém maior que a AnB utilizada como comparativo.

O tratamento preferido de lesões antifúngicas cutâneas e sistêmicas utiliza composto azólicos antifúngicos, porém a maioria deles apresenta baixa solubilidade e conseqüentemente baixa biodisponibilidade, acarretando problemas de eficácia e efeitos colaterais desagradáveis (BUNCHANAN *et al.*, 2007). Dessa forma, Silva e colaboradores (2021) investigaram experimentalmente a complexação do candidato a fármaco, 2-[2-(ciclohexilmetileno) hidrazinil]-4-feniltiazol (RN104), com a α -CD, β -CD e HP- β -CD e teoricamente por docking molecular, identificando que com a HP- β -CD a solubilidade desse composto aumentava em torno de 18x sendo a ligação mais favorável.

Assim como, Valkova e Perlovich (2020) que obtiveram complexos de um composto potencial antifúngico da classe dos tiazóis, o L-173, com diferentes ciclodextrina (β -CD, HP- β -CD e heptaquis (2,6-di-O-metil)- β -ciclodextrina (DM- β -CD)) com melhora significativa de solubilidade em soluções aquosas (pH 2 e 7,4) indicando possível melhora de biodisponibilidade, sendo o complexo obtido com a

DM- β -CD o de melhor capacidade solubilizante nos meios utilizados. E Jansook e colaboradores (2020) complexaram econazol com α -CD e γ -CD em soluções de diferentes pHs, observaram que os complexos obtidos com α -CD em pH ácido melhoravam a solubilidade do econazol, a estabilidade térmica e ainda sua atividade contra os fungos filamentosos testados (*A. flavus* e *F. solani*).

Buchanan e colaboradores (2007) por sua vez fizeram uma avaliação e uma comparação da eficácia de complexos de itraconazol (antifúngico triazólico de amplo espectro) com hidroxibutenil- β -ciclodextrina (HBenBCD) e com HP- β -CD para administração oral e intravenosa (IV), para verificar a potencialização da solubilidade do visando a maior biodisponibilidade desse fármaco, obtendo melhora de solubilidade de 17x com a HBenBCD e 3,8x com a HP- β -CD. Esses complexos e formas comerciais do itraconazol com e sem HP- β -CD (Sporanox[®]) foram avaliados *in vivo* em ratos por via oral e IV, apresentando resultados animadores o complexo com HBenBCD em solução por via IV apresentou área sob a curva maior que a observada no Sporanox[®] com HP- β -CD e por via oral resultou em maior biodisponibilidade oral que o Sporanox[®] com HP- β -CD. Enquanto que na forma sólida o complexo com HBenBCD exibiu biodisponibilidade oral 2x maior que o Sporanox[®] sem HP- β -CD. Esses resultados demonstram o potencial desse complexo, mas ainda são necessários mais estudos.

O voriconazol também faz parte dos composto azólicos antifúngicos, com amplo espectro de ação contra *Candida*, *Apergillus*, *Fusarium* e Espécies de *Histoplasma* mas possui baixa solubilidade aquosa. Baseado nisso Deshkar e Pelve (2019) obtiveram CI de voriconazol com HP- β -CD por atomização e a partir dele formularam géis vaginais termossensíveis, para tratamento vaginite um problema que acomete grande parte mulheres durante a vida, que foram caracterizados e avaliados quanto sua liberação *in vitro* e *in vivo* utilizando ratas. A melhor formulação obtida de acordo com as caracterizações foi a que utilizou poloxâmero e HPMC (como polímero mucoadesivo), proporcionando liberação sustentada com aproximadamente 56% de fármaco liberado em 8h e uma maior absorção vaginal *in vivo*, que o gel *in situ* convencional (sem HP- β -CD) e a dispersão do fármaco utilizados com finalidade comparativa.

Como as CD conseguem agir como emulsionantes, por sua capacidade de solubilização de compostos pouco solúveis, além de serem biocompatibilidade, elas vêm sendo muito usadas para compor emulsões pois podem melhorar a distribuição

e/ou permeação na pele. Leclercq e Nardello-Rataj (2016) desenvolveram 6 emulsões pickering (E1, 2, 3, 4, 5 e 6), ou seja, uma mistura de água, óleo (miristato de isopropila e parafina líquida) e CD naturais (α -CD, β -CD e γ -CD) variados, para administração tópica de derivados azólicos antifúngicos, nesse estudo foi utilizado o econazol. As formulações foram estáveis contra coalescência e comportamento reológico adequado para aplicação tópica, quando comparadas a formulação comercial (Pevaryl®). Porém na avaliação da atividade antifúngica *in vitro* contra *C. albicans* apenas E1, E2, E4 e E5 apresentaram atividade e está foi semelhante a formulação comercial (Pevaryl®).

Já Noomen e colaboradores (2008) produziram uma emulsão aquosa combinando β -CD, polímero de silicone e água para encapsulamento de fármacos antifúngicos. As β -CD foram enxertadas com o polímero poli(metilhidrossiloxano) ou copolímero poli(metilhidro-siloxano-co-dimetilsiloxano) por hidrossililação, que foram emulsificados por emulsificação espontânea obtendo emulsões estáveis com tamanhos de partículas entre 200 e 500 nm, onde incorporaram a griseofulvina (antifúngico de baixa solubilidade) dentro da cavidade da β -CD formando um CI.

Além desses estudos Santana (2016) analisaram a encapsulação de um composto natural que apresentou atividade antifúngica frente a dermatófitos e leveduras (*Candida* e *Cryptococcus*) em CD. O óleo essencial de *Eugenia brejoensis* (OEEb) embora apresente atividade antifúngica possui alguns problemas como baixa solubilidade em água, facilidade de oxidação e alta volatilidade que dificultam sua utilização como medicamento, dessa maneira uma solução de água e β -CD foi formada e o OEEb foi adicionado e mantido em agitação seguindo para liofilização e após caracterizado por calorimetria exploratória diferencial (DSC), análises de termogravimetria (ATG) e difração de raios X (DRX) confirmou-se a formação de um CI e um percentual de retenção do OEEb pela β -CD de cerca de 87% foi evidenciado por headspace estático acoplado a cromatografia de fase gasosa. Porém mais estudos ainda são necessários para avaliar a estabilidade desses CI e atividade antifúngica.

Com base em todo o exposto os estudos conseguiram resultados interessantes, em sua grande maioria aumento de solubilidade e melhora de estabilidade e em alguns casos formulações com grande potencial de ação antifúngica foram obtidas. Nota-se que vários tipos de CD foram utilizados, uma vez que, o tipo vai proporcionar tamanhos de cavidade e substituintes diferentes que

podem influenciar na afinidade e interação com os fármacos produzindo alterações que podem ser vantajosas ou não.

2.2 ESMALTES

As onicomicoses são infecções fúngicas crônicas que acometem as unhas causando desconforto e que são de difícil tratamento uma vez que, a lâmina ungueal é muito queratinizada. Nesse sentido Yang e colaboradores (2020) assim como Pael e Vora (2016) desenvolveram sistemas transungueal (esmalte para unhas) para entrega de cloridrato de terbinafina (TB) para tratamento de onicomicoses. O primeiro obteve um sistema de formação de filme *in situ* à base de Eudragit® RLPO para co-entrega de TB e ureia, a uréia carregada no filme exibiu efeitos de aumento significativos na retenção de TB nas membranas do casco bovino e na penetração através das membranas demonstrando superar a barreira ungueal para tratar a onicomicose, a formulação teve sua atividade antifúngica *in vitro* testada contra *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Fusarium* e *Aspergillus fumigatus* os resultados indicaram que a formulação desenvolvida aumentou a atividade antifúngica de TB.

E o segundo formulou uma preparação a base de Eudragit® RL 100, HPMC E15, etanol, água e 2-mercaptoetanol como intensificador de permeação, para entrega de TB e a partir dos estudos de permeação *in vitro* e *ex vivo* observou-se que o esmalte permaneceu mais tempo em contato com a lâmina ungueal e liberou o fármaco acima da concentração inibitória mínima. Ambos os resultados demonstram que as formulações são promissoras para o tratamento eficaz de onicomicoses.

2.3 GÉIS

Os géis são formas farmacêuticas semissólidas estáveis, com boa propriedade de aplicação sendo conveniente para administração de fármacos por via tópica, como antifúngicos, atualmente novos géis vem sendo estudados como os hidrogéis, organogéis e microgéis visando a entrega de fármacos. Kenechukwu e colaboradores (2018) produziram um microgel mucoadesivo de nitrato de miconazol (NM) (antifúngico) a base de micropartículas de fitolipídios sólidos com ou sem polietilenoglicol (PEG)-4000, utilizando policarbófilo como polímero bioadesivo, que teve eficácia da candidíase vulvovaginal (CV). Onde os microgéis peguados exibiram resultados promissores, como liberação prolongada, estabilidade por cerca de 6 meses, com atividade anti-Candida (86%) *in vivo* (ratas infectadas com *C.*

albicans) maior que a formulação comercial Daktarin® (75%) e que um hidrogel carregado de NM. Sendo uma formulação potencial para tratamento da CV com NM.

Gopalan e José (2020) prepararam organogéis de AnB, a base de monoestearato de sorbitana e lecitina plurônica, uma vez que os organogéis tem alto poder de penetração através na pele sem utilizar intensificador químico, são de fácil preparação e podem acomodar composto hidrofílicos e lipofílicos. Nesse estudo o organogel preparado com monoestearato de sorbitana desempenhou maior liberação em 8 horas, maior permeação *ex vivo* em orelha de porco e melhor atividade antifúngica *C. albicans in vitro*, além disso, todas as formulações foram consideradas estáveis e seguras durante os 3 meses de estudo.

E Sultan e colaboradores (2019) apresentaram um hidrogel bioadesivo para aplicação tópica à base do peptídeo modificado de histatina-5, um peptídeo produzido naturalmente pelas glândulas salivares, que por ter demonstrado potente atividade contra *C. albicans* está sendo utilizado como tratamento alternativo para candidíase oral. O hidrogel foi obtido a partir do peptídeo modificado liofilizado, PBS e HPMC, e demonstrou ser eficaz contra cepas de *C. albicans* resistentes aos antifúngicos tradicionais *in vitro* e ainda o peptídeo foi capaz de induzir a proliferação celular e a rápida migração celular de queratinócitos orais humanos, o que pode indicar ação na cicatrização de feridas.

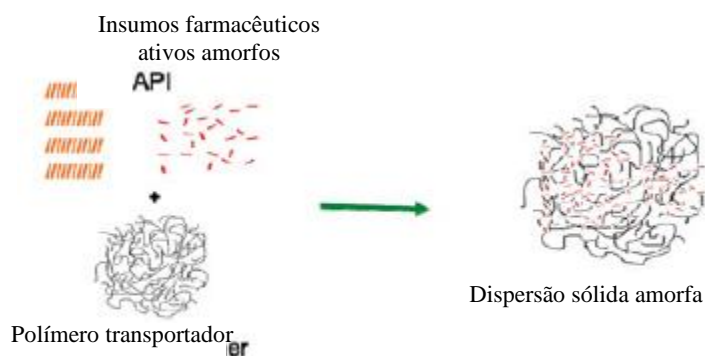
2.4 DISPERSÕES SÓLIDAS

Muitos fármacos apresentam fraca solubilidade em água, o que limita a dissolução aquosa dos mesmos, dificultando sua absorção através do trato gastrointestinal e interferindo diretamente na biodisponibilidade e eficácia desses fármacos (PARIKH *et al.*, 2016). Visando o aumento da solubilidade dos fármacos e o melhoramento das propriedades de dissolução várias técnicas foram desenvolvidas, como o uso de surfactantes, polimorfos, conjugados poliméricos, transportadores e dispersões sólidas (YOO *et al.*, 2000).

As dispersões sólidas, também chamadas de soluções sólidas, constituem um sistema de fármaco-polímero molecularmente dispersos, onde o fármaco é incorporado de forma homogênea a uma matriz polimérica produzindo um sólido (Figura 2) (RAMBALI *et al.*, 2003). Esse tipo de sistema vem sendo utilizado como estratégia de formulação para o aumento da taxa de solubilidade e extensão da dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Uma série de polímeros pode ser utilizada na constituição de uma dispersão sólida, como polietilenoglicóis, derivados

de celulose (celulose microcristalina e hidroxipropilmetilcelulose), copovidona, ácido cítrico e ácido metacrílico, dentre outros (CHOWDARY; RAO, 2000).

Figura 2. Representação esquemática da estabilização de dispersão sólida amorfa incorporando a droga na matriz polimérica.



Fonte: Adaptado de VAKA *et al.*, 2014.

Além dos diferentes tipos de materiais que podem ser utilizados o sistema de dispersões sólidas pode ser preparado por diferentes métodos, dentre eles tem-se: método de extrusão a quente, método de secagem por pulverização ou método do solvente, revestimento de leito fluido, técnica de liofilização, comoagem e coprecipitação, sendo os dois primeiros os mais aplicados na indústria farmacêutica. No método de extrusão de fusão a quente o calor é utilizado para dispersar ou dissolver o fármaco no polímero de escolha (FULE; AMIN, 2014). Já o método de secagem por pulverização um solvente orgânico é utilizado para dissolver o fármaco e o polímero que posteriormente passam por uma secagem por pulverização (RAMBALI *et al.*, 2003).

Em uma busca por artigos relacionados a formulações antifúngicas contendo dispersões sólidas encontrou-se 12 estudos que utilizaram o fármaco Itraconazol, sendo um deles associado ao Posaconazol. O Itraconazol é um agente antifúngico triazólico de amplo espectro, atualmente apresenta amplo uso clínico para o tratamento de dermatomicoses, micose visceral, aspergilose, candidíase e infecções por *Tinea unguium* (OSHIMA *et al.*, 2003).

Os estudos realizados por Oshima e colaboradores (2007), Keen e colaboradores (2017), Bhardwaje colaboradores (2018), Rambali e colaboradores (2003), Tsinmane colaboradores (2018), Parke colaboradores (2007) e Parikh e Serajuddin (2018), produziram dispersões sólidas pelo método de extrusão a quente,

que utiliza o calor para formação da dispersão fármaco-polímero. Diversos excipientes podem ser empregados no sistema de dispersões sólidas, os encontrados nos estudos foram: copovidona e hidroxipropilmetilcelulose, estando sozinha ou associada a polivinilpirrolidona, ciclodextrinas, polietilenoglicol e ácido fosfórico.

Já os estudos realizados por Yoo e colaboradores (2000), Chowdary e Rao (2000), Jung e colaboradores (1999) e Parikh e colaboradores (2016) utilizaram a técnica de secagem por pulverização para formação das dispersões sólidas, método que utiliza um solvente orgânico para formação da dispersão, seguido de posterior secagem por pulverização. Os excipientes inteligentes utilizados nesses artigos foram hidroxipropilmetilcelulose, polivinilacetato, polivinilpirrolidona, Poloxamer®, polietilenoglicol, lactose e Eudragit®.

Um único estudo, realizado por Mugheirbie e colaboradores (2017) utilizou o método de formação das dispersões sólidas por leito fluido, onde ocorre a formação do sistema disperso por meio do movimento ascendente do líquido através de partículas sólidas. Para esse estudo a formação da dispersão utilizou como excipiente o polímero entérico Eudragit®.

O estudo realizado por Fule e Amin (2014) utilizou o fármaco Posaconazol, indicado para o tratamento de infecções invasivas por espécies de *Cândida* e espécies de *Aspergillus* em pacientes gravemente imunogênicos. Esse fármaco possui uma solubilidade aquosa muito baixa, o que prejudica sua dissolução no fluido gástrico. Tendo em vista a baixa solubilidade do fármaco o estudo utilizou o polímero anfifílico caprolactamopolivinil acetato-polietilenoglicol copolímero de enxerto, Soluplus®, para formação das dispersões sólidas com o Posaconazol através do método de extrusão de fusão a quente.

No estudo realizado por Muehlenfeld e colaboradores (2013) utilizando Griseoflavin, antifúngico pertencente a classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, apresentando baixa solubilidade, foi aplicada a técnica de comoagem no preparo das dispersões sólidas, essa técnica consiste na moagem contínua utilizando jato de ar para micronização. Para o preparo das dispersões sólidas desse estudo foi utilizado o polímero hidrofílico manitol.

Em suma, os estudos encontrados na busca apresentaram resultados significantes no quesito de incremento de solubilidade e aumento da taxa de dissolução dos fármacos após formulação contendo o sistema de dispersões

sólidas.

2.5. POLÍMEROS

Os polímeros são excipientes farmacotécnicos extremamente versáteis, podendo ser aplicados em diferentes formas farmacêuticas. Desde suas aplicações como diluente ou aglutinantes em pós, comprimidos e cápsulas, solubilizantes e estabilizantes em medicamentos líquidos, emulsionantes e geleificantes em formas farmacêuticas tópicas, co-solventes em formas farmacêuticas parenterais e como formadores de filmes para aplicação bucal, vaginal, oftálmica, por exemplo.

Polímeros naturais e sintéticos com propriedades bioadesivas tem despertado grande interesse para produção de produtos farmacêuticos. Para elaboração de um sistema bioadesivo o fármaco é incorporado a polímeros com afinidade de adesão a superfícies mucosas. Alguns dos polímeros com propriedades bioadesivas são o carbopol, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose, polivinilpirrolidona e quitosana (FITAIHI *et al.*, 2018).

O uso de formas bioadesivas é particularmente recomendável para o tratamento de infecções fúngicas, especialmente para aplicação em mucosas, como a mucosa vaginal e bucal, por exemplo (ROJEWSKA *et al.*, 2019). O contato da forma farmacêutica com a superfície mucosa permite que formulação permaneça mais tempo no local de administração, o que aumenta a biodisponibilidade fármaco, melhorando assim a eficácia clínica da terapia e promove administração menos frequente do medicamento, podendo contribuir para redução dos efeitos colaterais (DOBARIA *et al.*, 2019).

Estudos realizados por Rojewska e colaboradores (2019) e Fitaihi e colaboradores (2018), com o fármaco Fluconazol, antifúngico utilizado no tratamento contra infecções por *C. albicans*, desenvolveram formulações muco adesivas para entrega local do antifúngico. O primeiro estudo citado desenvolveu comprimidos mucoadesivos com o excipiente interligente Kollidon®, já o segundo estudo desenvolveu um gel mucoadesivo contendo quitosana, um derivado hidrolisado da quitina amplamente distribuído em natureza.

O estudo realizado por Dobaria e colaboradores (2009), utilizou o fármaco Itraconazol, antifúngico triazólico com um amplo espectro de atividade aplicado para o tratamento de candidíase vaginal. Foi desenvolvido nesse estudo um filme vaginal mucoadesivo contendo dispersão sólida, sendo constituído dos polímeros hidroxipropilmetilcelulose e hidroxietilcelulose.

Além das aplicações mucoadesivas os polímeros podem ser aplicados como excipientes inteligentes em matrizes para aumento de solubilidade de fármacos por via oral. O estudo realizado por Al-Obaidi e colaboradores (2019), utilizou celulose microcristalina, polivinilpirrolidona e hidroxipropilmetilcelulose como excipientes para aumentar a solubilidade aquosa da griseoflúvina, comumente usada para tratar dermatofitose causada por *T. rubrum*.

O polímero quitosana vem sendo bastante utilizado, a quitosana não é tóxica, é biocompatível e biodegradável e possui atividade antimicrobiana contra fungos, leveduras e bactérias, sendo capaz de ser um agente ativo anti-Candida (FITAIHI *et al.*, 2018).

Kurniasih e colaboradores (2018) desenvolveram uma gaze, contendo a carboximetilquitosana, forma solúvel da quitosana, para ser aplicada sobre a pele no tratamento de infecções por *C. albicans*. Akakuru e colaboradores (2019), utilizou a quitosana como excipiente inteligente associadas ao polietilenoglicol na formulação de esferas de liberação sólida, para veiculação do fármaco clotrimazol, um derivado do imidazol que previne infecções micóticas do trato gastrourinário e é eficaz contra dermatófitos, *Candida*, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton* e *Malassezia*.

3 CONCLUSÃO

Os estudos utilizaram fármacos e candidatos a fármacos antifúngicos veiculados em complexos de inclusão com ciclodextrinas, polímeros, dispersões sólidas. Além de formulações antifúngicas como esmaltes para as unhas e novos géis, hidrogéis, organogéis, microgel. Os resultados encontrados foram promissores e as formulações são potencias, demonstrando principalmente incremento de solubilidade e melhora de estabilidade, como também melhora de permeação, liberação prolongada, aumento da taxa de dissolução e ação intensificada. Aspectos interessantes para administração eficaz de medicamentos antifúngicos.

REFERÊNCIAS

- ARRUNÁTEGUI, L. B. *et al.* Biopharmaceutics classification system: importance and inclusion in biowaiver guidance. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 51, n. 1, p. 143-154, 2015.
- AKAKURU, O. U. *et al.* Novel highly-swellable and pH-responsive slow release formulations of clotrimazole with chitosan-g-PEG/starch microparticles. *Reactive And Functional Polymers*, v. 135, p. 32-43, 2019.
- AL-OBAIDI, H. *et al.* Griseofulvin solvate solid dispersions with synergistic effect against fungal biofilms. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, v. 184, p. 11-12, 2019.
- BHARDWAJ, V. *et al.* Surface area normalized dissolution to study differences in itraconazole-copovidone solid dispersions prepared by spray-drying and hot melt extrusion. *International Journal Of Pharmaceutics*, v. 540, n. 1-2, p. 106-119, 2018.
- BUNCHANAN, C. M. *et al.* Pharmacokinetics of itraconazole after intravenous and oral dosing of itraconazole-cyclodextrin formulations. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 96, n. 11, p. 3100-3116, 2007.
- CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 28, n.1, p.1-9, 2007.
- CHOWDARY, K. P. R.; RAO, S. S. Investigation of Dissolution Enhancement of Itraconazole by Solid Dispersion in Superdisintegrants. *Drug Development And Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 11, p. 1207-1211, 2000.
- DOBARIA, N. B.; BADHAN, A. C.; MASHRU, R. C. A Novel Itraconazole Bioadhesive Film for Vaginal Delivery: design, optimization, and physicochemical characterization. *Aaps Pharmscitech*, v. 10, n. 3, 2009.
- DESHKAR, S. S.; PELVE, V.K. Formulation and development of thermosensitive cyclodextrin-based *in situ* gel of voriconazole for vaginal delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 49, p. 277-285, 2019.
- EJADA, G. *et al.* Formulation and in-vitro efficacy of antifungal mucoadhesive polymeric matrices for the delivery of miconazole nitrate. *Materials Science And Engineering: C*, v. 79, p. 140-150, 2017.
- FITAIHI, R. A. *et al.* Role of chitosan on controlling the characteristics and antifungal activity of bioadhesive fluconazole vaginal tablets. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 26, n. 2, p. 151-161, 2018.
- FULE, R.; AMIN, P. Hot Melt Extruded Amorphous Solid Dispersion of Posaconazole with Improved Bioavailability: investigating drug-polymer miscibility with advanced characterisation. *Biomed Research International*, v. 2014, p. 1-16, 2014.
- GOPALAN, K.; JOSÉ, J. Development of amphotericin B based organogels against mucocutaneous fungal infections. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v. 56, p. 1-17, 2020.
- GUEDES, F. L. *et al.* Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. *Rev. Bras. Farm.*, v. 89, n. 3, p. 220-225, 2008.

JANSOOK, P. *et al.* Antifungal activity of econazole nitrate/cyclodextrin complex: Effect of pH and formation of complex aggregates. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 574, p. 118896, 2020.

JUNG, J.Y. *et al.* Enhanced solubility and dissolution rate of itraconazole by a solid dispersion technique. *Int J Pharm.*, v. 187, n. 2, p. 209-18, 1999.

KEEN, J. M. *et al.* Development of Itraconazole Tablets Containing Viscous KinetiSol Solid Dispersions: in vitro and in vivo analysis in dogs. *Aaps Pharmscitech*, v. 19, n. 5, p. 1998-2008, 2017.

KURNIASIH, M. *et al.* Carboxymethyl chitosan as an antifungal agent on gauze. *International Journal Of Biological Macromolecules*, v. 119, p. 166-171, 2018.

KENECHUKWU, F. C. *et al.* Surface-modified mucoadhesive microgels as a controlled release system for miconazole nitrate to improve localized treatment of vulvovaginal candidiasis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 111, p. 358-375, 2018.

LECLERCQ, L.; NARDELLO-RATAJ, V. Pickering emulsions based on cyclodextrins: A smart solution for antifungal azole derivatives topical delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 82, p. 126-137, 2016.

MUEHLENFELD, C. *et al.* Solid Dispersions Prepared by Continuous Cogrinding in an Air Jet Mill. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, v. 102, n. 11, p. 4132-4139, 2013.

MUGHEIRBI, N. A. *et al.* A Comparative Study on the Performance of Inert and Functionalized Spheres Coated with Solid Dispersions Made of Two Structurally Related Antifungal Drugs. *Molecular Pharmaceutics*, v. 14, n. 11, p. 3718-3728, 2017.

NOOMEN, A. *et al.* Emulsions of β -cyclodextrins grafted to silicone for the transport of antifungal drugs. *Materials Science and Engineering: C*, v. 28, n. 5-6, p. 705-715, 2008.

OSHIMA, T. *et al.* Preparation of Rapidly Disintegrating Tablets Containing Itraconazole Solid Dispersions. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 55, n. 11, p. 1557-1562, 2007.

PARIKH, T. *et al.* Characterization of Solid Dispersion of Itraconazole Prepared by Solubilization in Concentrated Aqueous Solutions of Weak Organic Acids and Drying. *Pharmaceutical Research*, v. 33, n. 6, p. 1456-1471, 2016.

PARIKH, T.; SERAJUDDIN, A. T. M. Development of Fast-Dissolving Amorphous Solid Dispersion of Itraconazole by Melt Extrusion of its Mixture with Weak Organic Carboxylic Acid and Polymer. *Pharmaceutical Research*, v. 35, n. 7, p. 1-12, 2018.

PARK, M. J.; REN, S.; LEE, B. J. In vitro and in vivo comparative study of itraconazole bioavailability when formulated in highly soluble self-emulsifying system and in solid dispersion. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, v. 28, n. 4, p. 199-207, 2007.

PAEL, M.; VORA, Z. M. Formulation development and optimization of transungual drug delivery system of terbinafine hydrochloride for the treatment of onychomycosis. *Drug Deliv Transl Res*, v. 6, n. 3, p. 263-75, 2016.

RUIZ, H. K. *et al.* New amphotericin B-gamma cyclodextrin formulation for topical use with synergistic activity against diverse fungal species and *Leishmania* spp. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 473, n. 1-2, p. 148-157, 2014.

RAMBALI, B. *et al.* Itraconazole Formulation Studies of the Melt-Extrusion Process with Mixture Design. *Drug Development And Industrial Pharmacy*, v. 29, n. 6, p. 641-652, 2003.

ROJEWSKA, M. *et al.* Physicochemical and release studies of new mucoadhesive fluconazole delivery systems. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 566, p. 11-20, 2019.

SANJUAN, V. R. *et al.* Stability, biological and biopharmaceutical evaluation of the inclusion complexes of the antifungal and antiprotozoal drug candidate 2-(2-nitrovinyl) furan (G-0) with beta cyclodextrin derivatives. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 58, p. 101767, 2020

SANTANA, N. A. Atividade antifúngica e sistemas para encapsulação do óleo essencial de folhas de *Eugenia brejoensis* mazine (*Myrtaceae*) [Dissertação]. Recife: Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológica, 2016.

SULTAN, A. S. *et al.* Evaluation of the Antifungal and Wound-Healing Properties of a Novel Peptide-Based Bioadhesive Hydrogel Formulation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 63, n. 10, p. 1-11, 2019.

SILVA, I. R. *et al.* Improving the solubility of an antifungal thiazolyl hydrazone derivative by cyclodextrin complexation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 156, p. 105575, 2021.

SERRANO, D. R. *et al.* A novel formulation of solubilised amphotericin B designed for ophthalmic use. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 437, n. 1–2, p. 80-82, 2012.

TSINMAN, K. *et al.* Ranking Itraconazole Formulations Based on the Flux through Artificial Lipophilic Membrane. **Pharmaceutical Research**, v. 35, n. 8, 2018.

URBAN, A. M. *et al.* Efetividade antifúngica de fármacos complexados com ciclodextrinas. **Revista saúde**, v. 10, n. 1-2, p. 97-110, 2016.

VAKA, S.R.K. *et al.* **Excipients for Amorphous Solid Dispersions (Chapter 4)**. *Advances in Delivery Science and Technology*, 2014.

VALKOVA, T. V.; PERLOVICH, G. L. Comparative analysis of solubilization and complexation characteristics for new antifungal compound with cyclodextrins. Impact of cyclodextrins on distribution process. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 154, p. 105531, 2020.

VENTURINI, C. G. *et al.* Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Quim. Nova**, v. 31, n. 2, p. 360-368, 2008.

YOO, S. D. *et al.* Bioavailability of Itraconazole in Rats and Rabbits After Administration of Tablets Containing Solid Dispersion Particles. **Drug Development And Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 1, p. 27-34, 2000.

YANG, F. *et al.* Co-delivery of terbinafine hydrochloride and urea with an in situ film-forming system for nail targeting treatment. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 585, p. 119497, 2020.

CAPÍTULO 14

IMPORTÂNCIA DAS FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS ANTIFÚNGICOS

João Alberto Lins de Lima

Bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA
Instituição: Centro Universitário Brasileiro, Departamento de Farmácia
Endereço: Rua Padre Inglês – Boa vista, Recife – PE, Brasil.
E-mail: joaoalbertolim@outlook.com.br

Izaulinda Marquez da Rocha Campelo

Bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA
Instituição: Centro Universitário Brasileiro, Departamento de Farmácia
Endereço: Rua Padre Inglês – Boa vista, Recife – PE, Brasil.
E-mail: girbicampelo@hotmail.com

Salatiel Henrique Pereira de Lima

Bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA
Instituição: Centro Universitário Brasileiro, Departamento de Farmácia
Endereço: Rua Padre Inglês – Boa vista, Recife – PE, Brasil.
E-mail: salatielhenrique@hotmail.com

Otávio Campelo Ramos

Graduando em Psicologia pelo Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA
Instituição: Centro Universitário Brasileiro, Departamento de Farmácia
Endereço: Rua Padre Inglês – Boa vista, Recife – PE, Brasil.
E-mail: otaviocramos@gmail.com

Caio José Anselmo da Silva

Bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA
Instituição: Centro Universitário Brasileiro, Departamento de Farmácia
Endereço: Rua Padre Inglês – Boa vista, Recife – PE, Brasil.
E-mail: caiodias294@gmail.com

Thalita Soares de Souza

Bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA
Instituição: Centro Universitário Brasileiro, Departamento de Farmácia
Endereço: Rua Padre Inglês – Boa vista, Recife – PE, Brasil.
E-mail: caiodias294@gmail.com

Aline Cláudia Almeida de Britto Silva

Graduanda em Farmácia pela Universidade Salgado de Oliveira
Instituição: Universidade Salgado de Oliveira, Departamento de Farmácia
Endereço: Rua Lambari, 10, Trindade – São Gonçalo – RJ, Brasil
E-mail: allbritto11@gamil.com

Arnon de Melo Andrade Júnior

Mestre em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco- UFPE
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil.

RESUMO: As infecções fúngicas (IFs) são uma das doenças de maior agravo no âmbito clínico, causando a morte de mais de um milhão de pessoas por ano, havendo recentemente, mais 150 milhões de novos casos de alta gravidade em todo o mundo. De acordo com os dados epidemiológicos, a grande maioria das infecções fúngicas são ocasionadas por cepas do gênero *Cândida* e *Aspergillus*, que somadas ocasionam mais de 1 milhão de IFs por ano em todo o mundo. Dessa forma, diversas terapias macro e micromoleculares vêm sendo investigadas, tendo como principal objetivo, atuar sobre os mecanismos de resistência produzida por estas cepas ou afetar alvos que comprometam diretamente essa resposta adaptativa dos patógenos. Dentre as diversas alternativas existentes, a abordagem computacional vem se mostrando bastante promissora, devido à realização de um conjunto de estratégias previamente estabelecidas realizadas através da abordagem fisiológica, um planejamento racional de fármacos com base nas estruturas do alvo farmacológico, permitindo o desenvolvimento de substância com maior seletividade e menores efeitos colaterais. Sendo assim, este capítulo aborda algumas ferramentas computacionais de fácil acesso, que podem ser utilizadas para o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos com base nessa abordagem.

ABSTRACT: Fungal infections (IFs) are one of the most serious diseases in the clinical scope, causing the death of more than one million people per year, with recently, more than 150 million new cases of high severity worldwide. According to epidemiological data, the vast majority of fungal infections are caused by strains of the genus *Candida* and *Aspergillus*, which together cause more than 1 million FIs per year worldwide. Thus, several macro and micromolecular therapies have been investigated, with the main objective of acting on the resistance mechanisms produced by these strains or affecting targets that directly compromise this adaptive response of pathogens. Among the various existing alternatives, the computational approach has shown itself to be very promising, due to the realization of a set of previously established strategies carried out through the physiological approach, a rational planning of drugs based on the structures of the pharmacological target, allowing the development of a substance with greater selectivity and fewer side effects. Therefore, this chapter addresses some computational tools that are easily accessible, which can be used for the development of new antifungal drugs based on this approach.

1. INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas (IFs) são umas das doenças de maior agravo no âmbito clínico, causando a morte de mais de um milhão de pessoas por ano, havendo recentemente, mais 150 milhões de novos casos de alta gravidade em todo o mundo. Dentre os diversos fatores associados a esse aumento no número de casos, destaca-se o uso inadequado dos medicamentos antifúngicos que acabam promovendo o desenvolvimento de mecanismos de resistência capazes de inviabilizarem a ação de medicamentos eficientes no tratamento (KAINZ *et al.*, 2020).

Além do aumento no número de casos, temos também uma elevação das taxas de mortalidade da doença, sendo esse fato justificado pelo aumento no número de pessoas acometidas que já apresentam alguma comorbidade como por exemplo a síndrome da imunodeficiência humana adquirida (AIDS), doença que compromete de forma contundente o sistema imunológico dos pacientes, promovendo uma resposta mais agressiva por parte dos microrganismos (LIMPER *et al.*, 2017).

Outro fator cada vez mais recorrente que está relacionado com o aumento da virulência fúngica, consiste na deposição destes microrganismos em alguns acessórios utilizados na administração parenteral como os catéteres e também em válvulas cirúrgicas, que são objetos propícios para a fixação dos fungos através da formação de biofilmes, sendo esse um dos principais mecanismos responsáveis pelo aumento da gravidade da infecção (RUBIN; HARI; NITHYANAND, 2020; WALKER *et al.*, 2020).

Todos esses fatores tem como consequência uma grande perda de eficácia terapêutica dos diversos medicamentos utilizados, havendo inclusive algumas cepas principalmente do gênero *Cândida* que já são resistentes a praticamente todos os medicamentos utilizados na clínica. Esse é o caso da *Cândida auris*, descrita recentemente como a primeira cepa multi-resistente no território nacional (CHAABANE *et al.*, 2019; PASQUALOTTO; SUKIENNIK; MEIS, 2019; SPETTEL *et al.*, 2019).

De acordo com os dados epidemiológicos, a grande maioria das infecções fúngicas são ocasionadas por cepas do gênero *Cândida* e *Aspergillus*, que somadas ocasionam mais de 1 milhão de IFs por ano em todo o mundo. Outro ponto a ser levado em consideração, consiste na quimioterapia utilizada no tratamento, no qual

grande parte das classes medicamentosas tratam-se de fármacos presentes há bastante tempo no mercado, não havendo, portanto, o surgimento de novas entidades químicas que permitiram uma maior versatilidade de mecanismos ação (BAJPAI et al., 2019; KAINZ et al., 2020).

Todos esses fatores demonstram a necessidade de que novas substâncias sejam desenvolvidas para o tratamento das IFs, visto que grande parte da terapia utilizada na clínica já não apresenta a eficiência necessária. Dessa forma, diversas terapias macro e micromoleculares vêm sendo investigadas, tendo como principal objetivo, atuar sobre os mecanismos de resistência produzida por estas cepas ou afetar alvos que comprometam diretamente essa resposta adaptativa dos patógenos (DE ALMEIDA *et al.*, 2019).

Dentre as diversas alternativas existentes, a abordagem computacional vem se mostrando bastante promissora, devido à realização de um conjunto de estratégias previamente estabelecidas, que permitem o desenvolvimento de novas moléculas com base nos fragmentos moleculares presentes nos microrganismos patogênicos. Esta atividade realizada através da abordagem fisiológica, consiste em um planejamento racional de fármacos com base nas estruturas do alvo farmacológico, permitindo o desenvolvimento de substância com maior seletividade e menores efeitos colaterais (HOWARD *et al.*, 2020).

Além disso, essa estratégia permite uma determinação preliminar de propriedades físico-químicas (FQ), farmacocinéticas (FC) e farmacodinâmicas (FD), antes mesmo da realização de qualquer síntese de compostos e sua avaliação em testes experimentais. Esse fator é uma das principais vantagens atreladas as ferramentas de modelagem molecular, evitando que uma variedade de moléculas com baixa atividade e/ou alta toxicidade venham ser sintetizadas, reduzindo o tempo e custo associado ao desenvolvimento de novos candidatos (SHAZAN; GIRIJA; PRIYADHARSINI, 2019).

Esse fato justifica, o emprego da química computacional em laboratórios de pesquisa acadêmicos bem como por parte da indústria farmacêutica, que investem grande parte de seus recursos no planejamento de fármacos auxiliados por computador. Com os avanços obtidos no isolamento de estruturas cristalográficas e também pela engenharia genética, é possível obter informações cada vez mais fidedignas sobre as macromoléculas diretamente relacionadas com a doença (ROY *et al.*, 2019).

Entretanto, os testes teóricos realizados através das ferramentas *in silico* não são exatos o suficiente para que os testes experimentais sejam abolidos, haja vista a complexidade existente em um sistema biológico que apresenta uma enorme quantidade de variáveis que estão fora do escopo da modelagem molecular, que se baseia diretamente nas características da própria molécula ou em sua interação apenas com o alvo investigado (KAR; LESZCZYNSKI, 2020).

Além disso, existe uma variedade de metodologias que podem ser aplicadas, no qual nem todas as ferramentas disponibilizadas apresentam resultados estatisticamente significativos capazes de prever as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas de novos compostos (IWANIAK *et al.*, 2019; DASTI *et al.*, 2020; SHARMA *et al.*, 2020).

Sendo assim, a escolha do método a ser utilizado depende de uma variedade de fatores que devem ser levados em consideração, como por exemplo, os custos associados ao uso desses softwares. Embora a maioria dos programas mais eficazes de previsão possuam um elevado custo para sua utilização, existem programas disponíveis gratuitamente que possuem um robusto banco de dados, contendo uma variedade de parâmetros FQs, FCs e FDs que permitem realizar previsões destas importantes propriedades, servindo como uma ferramenta indispensável para pesquisadores interessados na realização de um planejamento racional de fármacos (JIA *et al.*, 2020).

Estes resultados podem fornecer informações importantes para a realização de ensaios posteriores que podem ser aplicados a estes compostos para o desenvolvimento de novos derivados ou análogos, permitindo a obtenção de novas substâncias para o tratamento das IFs em menor tempo e com as propriedades desejadas. Sendo assim, este capítulo aborda algumas ferramentas computacionais de fácil acesso, que podem ser utilizadas para o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos.

2. AVALIAÇÃO *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS (FQ)

Antes que qualquer substância possa ser ter suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas investigadas, se faz necessário avaliar parâmetros relacionados inerentemente as moléculas investigadas, sendo estas características determinadas a partir do estudo FQ dos compostos (HASHIDA, 2020).

Estas propriedades permitem avaliar se as moléculas em estudo podem ser direcionadas para os testes pré-clínicos e clínicos, visto que as características de cada molécula têm um papel fundamental na própria solubilidade dos compostos, que precisam apresentar uma afinidade adequada para os solventes ou veículos utilizados nos testes posteriores, ter uma afinidade ou biodisponibilidade adequada, bem como apresentar elementos químicos que contribuam de maneira significativa na interação com seu alvo farmacológico (LIMA *et al.*, 2020).

Dessa forma, para o estudo e desenvolvimento de fármacos existem uma variedade de parâmetros que podem ser utilizados, no qual grande parte dos trabalhos realizados através da abordagem computacional utilizam principalmente os seguintes parâmetros: peso molecular (PM), área de superfície polar (PSA), coeficiente de partição (P), coeficiente de difusão (D), fração de carbonos do tipo sp^3 , coeficiente de solubilidade (S), número de doadores (DH) e aceptores (AH) de ligação de hidrogênio e refratividade molar (RM) (MIGNANI *et al.*, 2018).

Mesmo que os parâmetros sejam restritos as características gerais de cada molécula, seu papel acaba sendo preponderante para as propriedades FC e FD, pois cada parâmetro interfere diretamente nas ações que o organismo realiza sobre o fármaco durante seu período de transporte até o local de ação bem como nas ações que o fármaco realiza sobre o organismo através da sua potência e atividade intrínseca (ALQAHTANI, 2017).

O PM tem uma influência importante na fase de absorção pela barreira intestinal, que é caracterizada por apresentar junções firmes que regulam a passagem de substâncias de acordo com o seu peso. Dessa forma, moléculas de baixo PM são capazes de atravessar mais facilmente essa barreira pela via paracelular, enquanto substância com PM mais elevado só conseguem atravessar essa barreira através do transporte transcelular, exigindo um maior custo energético do organismo, que deve promover essa passagem com o auxílio de estruturas carreadoras presentes na membrana dos enterócitos (KARASOV, 2017).

A PSA descreve a capacidade de solvatação de moléculas pequenas, sendo esse parâmetro determinante para solubilidade dos compostos bem como sua posterior biodisponibilidade, sendo estes ambos parâmetros farmacocinéticos também determinados através dos coeficientes de partição (P) e difusão (D), que descrevem a afinidade das moléculas por solventes orgânicos em relação a sua afinidade pela água, seja para as moléculas nos estados neutros (P) ou ionizados

(D). Já o coeficiente de solubilidade (S) descreve apenas as características de solubilidade dos compostos em relação aos solventes utilizados, baseando-se no ponto de fusão das moléculas (DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017).

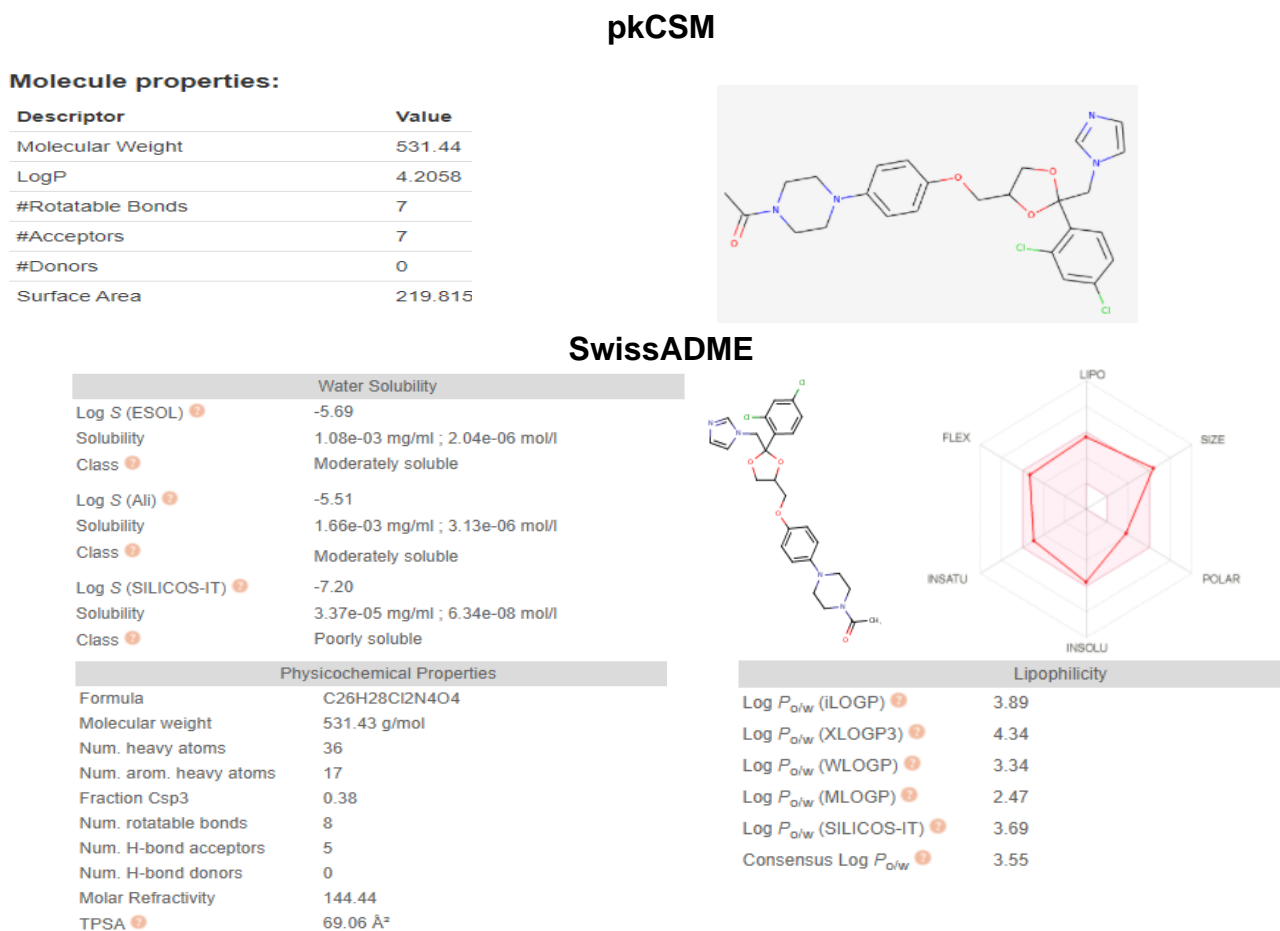
Em relação interações intermoleculares, temos as ligações de hidrogênio, uma das propriedades FQ de maior utilidade para o desenvolvimento de fármacos, pois essa interação contribui tanto para solubilidade, biodisponibilidade, permeação, e principalmente na fase FD através da interação entre o fármaco e o receptor. A RM embora menos relevante, também é bastante utilizada pois descreve a polaridade da molécula, uma propriedade que se correlaciona com a grande maioria dos parâmetros descritos anteriormente (SHAFIEI; ESMAEILI, 2019).

Todos estes parâmetros podem ser facilmente detectados instantaneamente através da abordagem *in silico*, sendo esse fator algo bastante vantajoso quando comparado aos métodos experimentais, que precisam realizar diversas etapas de preparo e isolamento dos compostos para que o estudo das propriedades FQ possam ser realizados (ZHANG; PEI; LAI, 2017; BIAN; XIE, 2018).

A abordagem computacional conta com um robusto banco de dados depositados sobre as propriedades FQ dos compostos que foram determinadas previamente em ensaios experimentais, sendo esses dados utilizados para construção de modelos de previsão que fazem parte das ferramentas utilizadas pelos químicos medicinais para determinar forma preliminar as propriedades teóricas dos compostos investigados.

Existem diversas ferramentas utilizadas para determinação preliminar das propriedades FQ, sendo algumas ferramentas disponíveis gratuitamente e que apresentam bons resultados teóricos. Esse é o caso das ferramentas SwissADME e pkCSM, que realizam a previsão de várias moléculas ao serem desenhadas no próprio *Front end* da plataforma utilizando apenas as estruturas no formato SMILES. As figuras abaixo demonstram exemplos de alguns fármacos antifúngicos já conhecidos que foram utilizados como moléculas testes para comparação em ambas as plataformas (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015; DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017).

Figura 1. Previsão das propriedades FQ do cetoconazol através das ferramentas pkCSM e SwissADME



Fonte: Imagens diretas das plataformas pkCSM e SwissADME.

Como é possível visualizar a plataforma SwissADME fornece uma maior variedade de informações além das propriedades FQ básicas, realizando inclusive a construção de um gráfico de propriedades classificados através das propriedades de lipossolubilidade, tamanho, polaridade, flexibilidade, insaturações e insolubilidade. Sendo assim, fármacos com as características FQ apropriadas devem estar presente na região em rosa claro, que descreve o score de biodisponibilidade oral, uma metodologia utilizada por esta ferramenta que permite prever se as moléculas apresentam características FQ apropriadas para serem administrados pela via oral.

3. AVALIAÇÃO EM *IN SÍLICO* DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS (FC)

As propriedades farmacocinéticas abordam todos os fatores relacionados ao transporte do fármaco no meio biológico, desde fase de administração até a excreção, tendo como principal objetivo descrever as ações que organismo realiza

sobre o fármaco durante seu movimento no meio biológico (JABLONKA *et al.*, 2019).

Os fenômenos FCs são sistematicamente divididos nas fases de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) devendo estas etapas serem investigadas antes mesmo das propriedades FDs, visto que as substâncias administradas principalmente pela via oral durante estas fases, podem promover respostas fora da janela terapêutica, seja devido a uma redução da sua concentração desejada por conta de uma baixa biodisponibilidade pré ou pró-sistêmica, ou devido ao excesso de concentração plasmática do fármaco, que pode desencadear respostas tóxicas para o organismo (YANG *et al.*, 2019).

Esse último fator está relacionado diretamente com a etapa de metabolismo ou biotransformação, que é um conjunto de reações químicas realizadas por biomacromoléculas capazes de modificar as estruturas dos compostos administrados, gerando metabólitos ativos, inativos ou tóxicos, havendo também a possibilidade de interação sinérgica ou antagônica com os sítios de biotransformação pelos fenômenos de inibição ou indução enzimática que são um dos principais responsáveis pela ocorrência de interações medicamentosas (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2019).

Dessa forma, fica bastante clara a importância de se determinar previamente as propriedades FC dos compostos, principalmente em relação as moléculas antifúngicas, que são bastante descritas na literatura pela sua capacidade de atuarem como inibidores enzimáticos. Este fenômeno foi correlacionado com as interações intermoleculares existentes entre os elementos eletrofílicos presentes no sítio ativo das estruturas de biotransformação com os grupos nucleofílicos presentes em fármacos antifúngicos (ANDRADE *et al.*, 2019).

Os azóis, uma das principais classes utilizadas no tratamento de IFs são um grande exemplo de moléculas que atuam como inibidores enzimáticos irreversíveis, devido a presença de átomos de nitrogênio básicos em sua estrutura, a exemplo do cetoconazol, que é um dos principais compostos que interagem com o complexo do citocromo P450 (CYP450), inibido a capacidade de biotransformação destas enzimas microsossomais hepáticas (DE ALMEIDA *et al.*, 2019; VERMA *et al.*, 2020).

Desta forma, grande parte das ferramentas computacionais de previsão, utilizam esse complexo CYP450 como um dos parâmetros de maior importância para as propriedades FC, visto que grande parte dos fármacos administrados pela via oral são metabolizados pelas enzimas desse complexo presentes na membrana

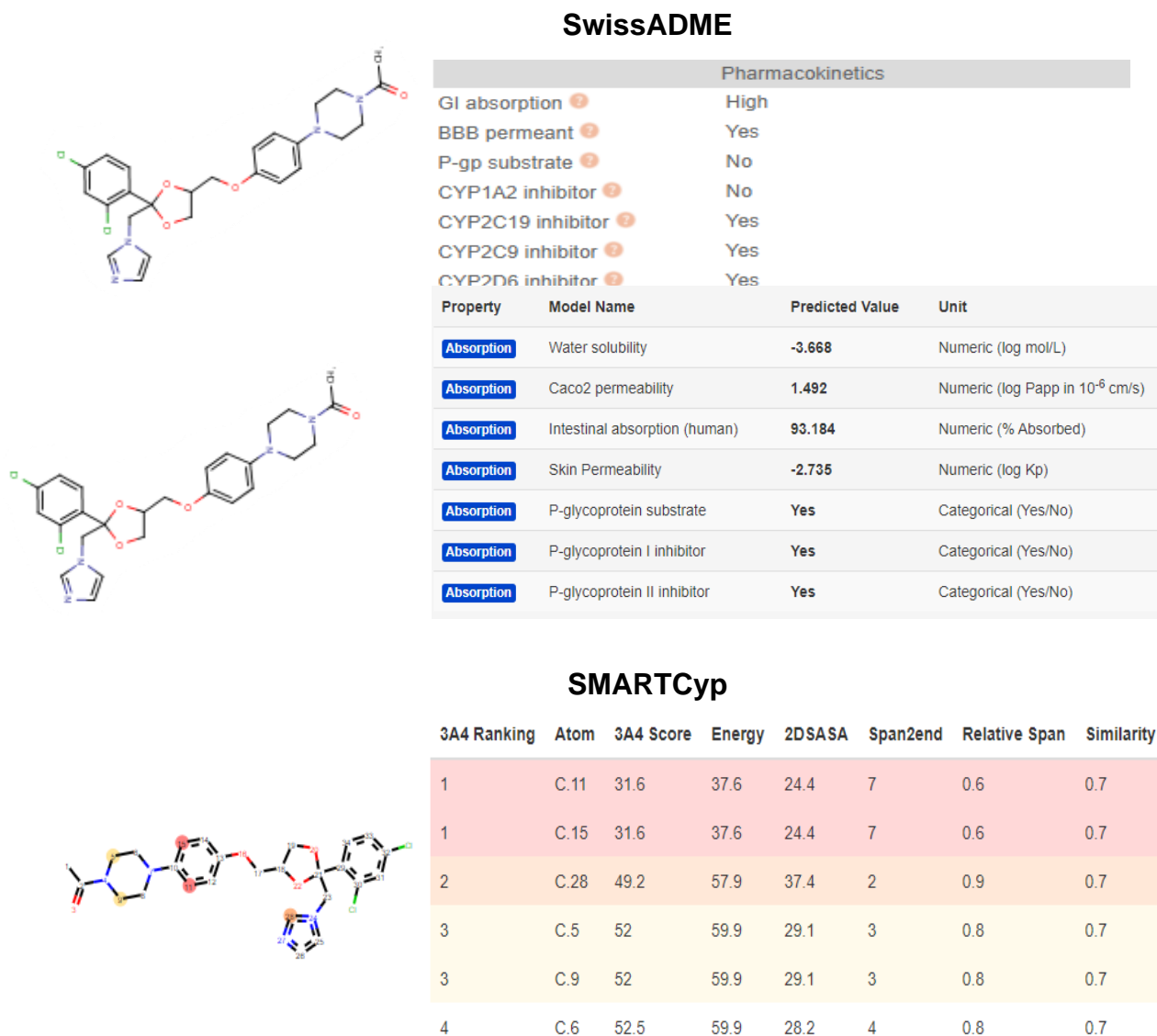
do retículo endoplasmático dos hepatócitos (LI) (GUENGERICH, 2020). Para avaliação desta e outras propriedades FC também temos diversas ferramentas de fácil acesso, como o SwissADME, já descrito anteriormente, bem como outras ferramentas gratuitas como SMARTCyp e MetaPrint e MetaPred, todos capazes de prever a interação de qualquer composto desenhado com o CYP450, detectando principalmente quais os grupamentos estão suscetíveis a primeira fase do metabolismo denominada de oxidação. As figuras abaixo mostram os resultados obtidos em relação a predição das propriedades FC do cetoconazol utilizando as ferramentas descritas (OLSEN *et al.*, 2019).

Além da interação com o citocromo, algumas ferramentas como o SwissADME e pKCSM também são capazes de avaliar outras propriedades FC como permeabilidade em barreiras intestinais, hematoencefálicas e pele a partir da capacidade das substâncias em serem absorvidas *in vitro* em células de adenocarcinoma de cólon humano tipo 2 (Caco-2), ou *in vivo* utilizando dados obtidos de absorção em modelo de roedores (ratos), e também a partir de dados de permeabilidade cutânea (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015; DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017).

Ambas as plataformas também avaliam a capacidade das substâncias em interagirem com a glicoproteína P (gp-P), uma proteína responsável por expulsar ativamente as moléculas do fármaco que chegam da corrente sanguínea durante o processo de distribuição tecidual (OTSUKA *et al.*, 2020).

A figura abaixo demonstra os resultados teóricos obtidos das propriedades FC do cetoconazol feitos com todas as ferramentas descritas aqui

Figura 2. Avaliação *in silico* das propriedades FC do cetoconazol utilizando as ferramentas pkCSM, SwissADME, SMARTCyp, MetaPrint e MetaPred respectivamente.



Fonte: Retirado diretamente das plataformas SwissADME, pkCSM e SMARTCyp.

Fazendo uma comparação entre as três ferramentas em relação a todas as fases relacionadas a FC, percebe-se que nem todas descrevem os mesmos tipos de parâmetros, no qual as duas primeiras plataformas (SwissADME e pkCSM) englobam muitas fases do processo de transporte, enquanto que a última ferramenta (SMARTCyp), tem como foco apenas a fase de metabolização pelas enzimas microsossomais. Entretanto, esta última, consegue inclusive prever quais são os sítios lábeis metabolicamente que estão presentes nas moléculas, sendo esse parâmetro bastante norteador para otimização dos compostos estudados que apresentem propriedades indesejadas (MONTEFIORI *et al.*, 2019).

Ainda assim, existem alguns parâmetros semelhantes calculados pelas ferramentas, podendo ser feita uma comparação entre os próprios softwares e também uma comparação destes resultados com os experimentais. Em relação as fases de biodisponibilidade, permeabilidade e distribuição podem ser feitas comparações entre as ferramentas SwissADME e pkCSM, no qual descreveram uma alta absorção para o cetoconazol pelo trato intestinal e uma baixa permeabilidade no tecido cutâneo (SCHNECKERNER *et al.*, 2019).

Além disso, outro ponto semelhante entre as plataformas foi demonstrado pela interação do cetoconazol com a gp-P, no qual tanto a ferramenta SwissADME (não mostrado) quanto a ferramenta pkCSM descrevem o cetoconazol como um ligante inibitório para esta proteína, de modo que sua entrada em barreiras especializadas acaba sendo facilitada, podendo ocasionar por exemplo toxicidade a nível do sistema nervoso central (LEOPOLDO *et al.*, 2019).

Outro resultando semelhante foi obtido na comparação feita entre a ferramenta SwissADME e SMARTCyp com relação a fase metabolização pelas isoformas do CYP450, no qual ambas as ferramentas descreveram que o cetoconazol apresenta a isoforma 3A4 como a principal subfamília responsável pela interação com esse fármaco que é capaz de promover a inibição enzimática desse complexo, o que pode ocasionar em interações medicamentosas caso essa substância seja administrada em conjunto com outras substâncias que sejam metabolizadas por esta mesma isoforma (LI *et al.*, 2020).

Independentemente de qual plataforma seja utilizada, vale destacar que os resultados teóricos encontrados estão de acordo com os resultados experimentais, podendo então serem utilizados na previsão de novas moléculas, norteando a escolha dos melhores compostos que devem ser ensaiados. Estes resultados também fornecem dados suficientes para que novas modificações das estruturas já sintetizadas possam ser realizadas, no qual os resultados obtidos a partir destas ferramentas podem ser considerados como um fator decisivo para otimização de compostos *hits* ou *leads* (KRITSI *et al.*, 2019).

4. AVALIAÇÃO *IN SÍLICO* DAS PROPRIEDADES FARMACODINÂMICAS (FD)

A farmacodinâmica, embora seja uma fase muitas vezes dependente das propriedades farmacocinéticas, apresenta da mesma forma, grande relevância para o estudo de qualquer molécula bioativa. Nesta fase tem-se como principal objetivo

descrever as ações que o fármaco desempenha sobre o organismo. Para isso, se faz necessário entender qual ou quais são os alvos farmacológicos envolvidos com a resposta biológica das moléculas, sendo este fator fundamental para determinar qual deve ser o mecanismo de ação do fármaco em estudo (RODRIGUES *et al.*, 2020).

É nesta fase que podemos ver claramente a grande contribuição feita pela abordagem computacional, pois grande parte dos mecanismos de ação que são descobertos bem como o desenvolvimento de novos compostos são feitos principalmente a partir da análise interação entre o ligante e o alvo farmacológico diretamente. Essa abordagem é possível graças aos avanços obtidos nas técnicas de isolamento de estruturas por meio da engenharia genética e biologia molecular bem como na eficiência das elucidações estruturais proteicas que são promovidas pelos estudos cristalográficos que permitem identificar os principais sítios e domínios de importância para promoção da atividade farmacológica (KAIRYS *et al.*, 2019).

A partir de bancos de dados mundiais de estruturas cristalográficas que estão disponíveis gratuitamente como o Protein Data Bank (PDB) é possível a realizar ensaios computacionais que simulam a interação direta entre os fármacos (ligantes) com seus possíveis alvos farmacológicos, sendo os valores destas interações descritos em termos de energia livre, um parâmetro termodinâmico bastante empregado pelo químicos medicinais para avaliar afinidade das moléculas investigadas (CARRARA *et al.*, 2017).

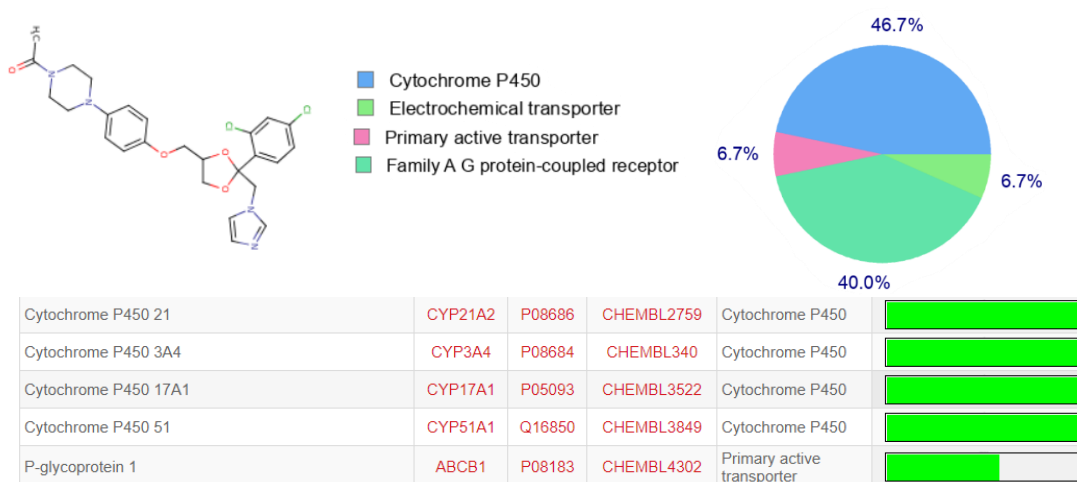
Essa estratégia chamada de ancoramento ou *docking* molecular, é sem dúvida a principal ferramenta utilizada pela abordagem computacional para determinar as propriedades dos compostos em estudo, tendo como principal finalidade determinar qual deve ser o principal alvo relacionado com as atividades de compostos já estudados em ensaios experimentais, sendo, portanto, uma técnica implementada com o objetivo de justificar ou corroborar com alvos previstos no ensaio experimental (TORRES *et al.*, 2019).

Dessa forma, essa metodologia acaba não sendo tão favorável quando utilizamos moléculas novas que se quer passaram por ensaios pré-clínicos, sendo necessário realizar um grande levantamento bibliográfico para estimar qual alvo farmacológico deve ser utilizado nos estudos de interação com moléculas completamente inovadoras. Além disso, no caso de novos fármacos antifúngicos, esse fator pode se tornar um grande obstáculo, devido à grande variabilidade de alvos presentes nas cepas que podem interagir com o mesmo ligante (CELY-

VELOZA; COY-BARREIRA, 2019).

Entretanto, já existem ferramentas capazes de prever quais são possíveis alvos que as novas moléculas desenhadas podem alcançar, baseando-se nas técnicas de homologia, estes softwares são capazes de estimar a probabilidade de uma nova estrutura interagir com certos alvos já descritos experimentalmente. Uma das ferramentas de grande utilidade é o *SwissTargetPrediction* que é capaz de estimar previamente quais são os possíveis alvos sobre os quais as moléculas em investigação podem atuar. A figura abaixo também realizada com o cetoconazol demonstra a previsão dos principais alvos nos quais esta molécula pode interagir, sendo os alvos de maior probabilidade relacionados possivelmente com seu mecanismo de ação.

Figura 3. Uso da ferramenta SwissTargetPrediction para previsão dos alvos do cetoconazol



Fonte: Retirado diretamente da ferramenta SwissTargetPrediction.

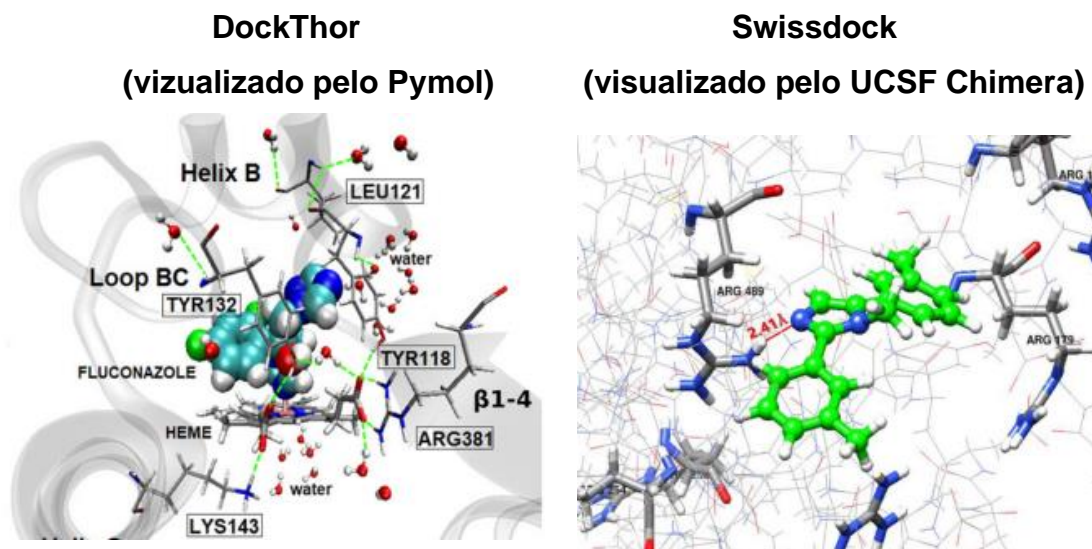
Os resultados teóricos dos alvos preditos corroboram bem com os resultados experimentais acerca de quais são os principais alvos proteicos do fármaco utilizado como exemplo. No caso do cetoconazol, seu principal alvo farmacológico que é descrito pela FD acaba sendo justamente um alvo que faz parte da fase FC (citocromo P450), no qual este fármaco apresenta uma grande afinidade pelas isoformas de CYP presentes nas cepas fúngicas, inibindo um dos processos metabólicos como a desmetilação, uma etapa essencial para transformação do lanosterol no metabólito ergosterol. Esse tipo de lipídeo é o principal componente da membrana fúngica, onde a inibição da atividade metabólica causa uma desestabilização da membrana plasmática das células dos fungos, causando uma

variedade de alterações que resultam em sua apoptose (VUPPALA *et al.*, 2019).

Esses resultados podem então ser utilizados para investigação de como ocorre de fato a interação do fármaco com seu alvo farmacológico, sendo esta atividade avaliada através da técnica de *docking* molecular. Esta metodologia pode ser aplicada com o auxílio de diversas ferramentas que também estão disponíveis gratuitamente e são de fácil acesso. Uma revisão recente feita por Kumar e Kumar em 2019 descreve uma lista contendo cerca de 40 ferramentas de *docking* molecular, sendo grande parte desses softwares disponível para uso seja por pesquisadores ou estudantes interessados em realizar este tipo de abordagem.

Entre as ferramentas descritas, destacamos o uso das ferramentas DockThor e Swissdock, ferramentas *on-lines*, gratuitas e de fácil utilização, no qual o usuário não precisa de nenhum treinamento específico para realização de cada etapa, bastando apenas selecionar as variáveis (ligantes, cofatores e o alvo desejado) de maneira bastante intuitiva. Diversos trabalhos publicados recentemente em estudos de modelagem molecular para o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos vêm utilizando estas ferramentas mostrando a praticidade e eficiência dos seus resultados de previsão (SAHNOUN *et al.*, 2018; FERRAZ *et al.*, 2019; MELO *et al.*, 2019; TIGHADOUNINI *et al.*, 2019; TOUBI *et al.*, 2019; TILAKVIJAY; BABU; UMA, 2019; SIQUEIRA; MARTINEZ, 2019;). A figura abaixo mostra dois trabalhos publicados recentemente que realizaram um *docking* molecular nas ferramentas DockThor e Swissdock utilizando o fármaco fluconazol e derivados imidazólicos respectivamente.

Figura 4. Docking molecular feito com o uso das ferramentas DockThor e Swissdock.



Fonte: SIQUEIRA; MARTINEZ, 2019; BOUCHAL et al., 2019.

Os resultados são avaliados em termos de energia livre de ligação (ΔG), um parâmetro termodinâmico que descreve a energia relacionada a interação entre o fármaco com seu sítio ativo. Quanto menor o valor da energia (mais negativo) maior será a estabilidade e conseqüentemente maior será a interação entre o alvo e o ligante, sendo assim os valores calculados pelas ferramentas são utilizados comparando-se as energias do mesmo ligante com as isoformas presentes no microrganismo e no hospedeiro humano. No primeiro trabalho, os autores demonstraram um baixíssimo valor de ΔG (-11,898 kcal/mol) para interação do fluconazol com a isoforma fúngica quando comparada a isoforma presente no *Homo sapiens* (-0,432 kcal/mol), sendo esses valores suficientes para comprovar uma afinidade do fluconazol pela enzima fúngica (SIQUEIRA; MARTINEZ, 2019).

Já o segundo estudo teve como objetivo o desenvolvimento de novos derivados a partir do fluconazol, sendo feita agora uma comparação da interação do derivado com o fluconazol frente as cepas de *Sacharomyces cerevisiae*. O derivado apresentou um ΔG de -6,791 kcal/mol enquanto que o fluconazol (não mostrado) apresentou um ΔG de -7,337 kcal/mol, tendo o derivado, portanto, uma menor afinidade. Ainda assim esses valores são próximos o suficiente para considerar esse candidato promissor.

5. CONCLUSÃO

De acordo com o que foi visto nesse capítulo, as IFs são consideradas um dos grandes problemas de saúde no Brasil e no mundo, havendo constantes relatos de surgimento de cepas resistentes a uma grande quantidade de medicamentos considerados bem eficientes no tratamento. Dessa forma a busca por novos compostos antifúngicos é imperativa para que possa haver uma mudança de panorama em relação a farmacoterapia, que é composta em sua grande maioria por medicamentos com baixa seletividade e efeitos colaterais diversos.

Sendo assim, o desenvolvimento de fármacos baseados diretamente nas estruturas relacionadas com a doença a partir da abordagem fisiológica permite que a produção de novos medicamentos possa ser feita com bases nas características de cada cepa, evitando que estes microrganismos consigam se desvencilhar dos mecanismos de ação de novas drogas.

Isto só é possível devido a uma meticulosa análise preliminar de um grande conjunto de variáveis que devem ser analisadas em todas as fases de desenvolvimento de um novo candidato, algo que só pode ser feito com o auxílio da abordagem computacional, que permite a realização de ensaios prévios *in silico* cada vez mais acurados, capazes de descrever quais são os principais fatores que podem melhorar ou atrapalhar as ações farmacológicas de novos compostos. Desta forma, fica bastante evidente que o emprego da química computacional, mostra-se cada vez mais como uma das abordagens de maior valia para a inovação terapêutica.

REFERÊNCIAS

ALQAHTANI, Saeed. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**, v. 13, n. 11, p. 1147-1158, 2017.

ANDRADE, Raul J. et al. Drug-induced liver injury. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1, p. 1-22, 2019.

BAJPAI, Vivek K. et al. Invasive fungal infections and their epidemiology: measures in the clinical scenario. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, p. 1-9, 2019.

BIAN, Yuemin; XIE, Xiang-Qun Sean. Computational fragment-based drug design: current trends, strategies, and applications. **The AAPS journal**, v. 20, n. 3, p. 59, 2018.

BOUCHAL, Btissam et al. Identification of novel antifungal agents: antimicrobial evaluation, SAR, ADME-Tox and molecular docking studies of a series of imidazole derivatives. **BMC chemistry**, v. 13, n. 1, p. 1-12, 2019.

CARRARA, Letizia et al. Current mathematical models for cancer drug discovery. **Expert opinion on drug discovery**, v. 12, n. 8, p. 785-799, 2017.

CELY-VELOZA, W.; COY-BARRERA, E. Exploration of α -Pyridone-containing compounds as multitarget antifungals. **Planta Medica**, v. 85, n. 18, p. P-315, 2019.

CHAABANE, Farid et al. Review on antifungal resistance mechanisms in the emerging pathogen *Candida auris*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2788, 2019.

DAINA, Antoine; MICHIELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific reports**, v. 7, p. 42717, 2017.

DASTI, Alessandro et al. RNA-centric approaches to study RNA-protein interactions in vitro and in silico. **Methods**, v. 178, p. 11-18, 2020.

DE ALMEIDA, Rodrigo FM et al. New diphenylphosphane derivatives of ketoconazole are promising antifungal agents. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2019.

FERRAZ, Witor Ribeiro et al. Ligand and structure-based virtual screening applied to the SARS-CoV-2 main protease: an in silico repurposing study. **Future Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 20, p. 1815-1828, 2020.

FERREIRA, Leonardo LG; ANDRICOPULO, Adriano D. ADMET modeling approaches in drug discovery. **Drug discovery today**, v. 24, n. 5, p. 1157-1165, 2019.

GUENGERICH, F. Peter. A history of the roles of cytochrome P450 enzymes in the toxicity of drugs. **Toxicological research**, p. 1-23, 2020.

HASHIDA, Mitsuru. Role of pharmacokinetic consideration for the development of drug delivery systems: A historical overview. **Advanced drug delivery reviews**, 2020.

HOWARD, Kaitlind C. et al. A comprehensive overview of the medicinal chemistry of antifungal drugs: perspectives and promise. **Chemical Society Reviews**, v. 49, n. 8, p. 2426-2480, 2020.

IWANIYAK, Anna et al. Elucidation of the role of in silico methodologies in approaches to

studying bioactive peptides derived from foods. **Journal of Functional Foods**, v. 61, p. 103486, 2019.

JABLONKA, Laura et al. Advanced in silico modeling explains pharmacokinetics and biodistribution of temoporfin nanocrystals in humans. **Journal of Controlled Release**, v. 308, p. 57-70, 2019.

JIA, Chen-Yang et al. A drug-likeness toolbox facilitates ADMET study in drug discovery. **Drug discovery today**, v. 25, n. 1, p. 248-258, 2020.

KAINZ, Katharina et al. Fungal infections in humans: the silent crisis. **Microbial Cell**, v. 7, n. 6, p. 143, 2020.

KAIRYS, Visvaldas et al. Binding affinity in drug design: experimental and computational techniques. **Expert opinion on drug discovery**, v. 14, n. 8, p. 755-768, 2019.

KARASOV, William H. Integrative physiology of transcellular and paracellular intestinal absorption. **Journal of Experimental Biology**, v. 220, n. 14, p. 2495-2501, 2017.

KRITSI, Eftichia et al. Novel hit compounds as putative antifungals: The case of *Aspergillus fumigatus*. **Molecules**, v. 24, n. 21, p. 3853, 2019.

LEOPOLDO, Marcello et al. An updated patent review on P-glycoprotein inhibitors (2011-2018). **Expert opinion on therapeutic patents**, v. 29, n. 6, p. 455-461, 2019.

LIMA, João Alberto Lins et al. Avaliação teórica das propriedades farmacocinéticas, físico-químicas e farmacodinâmicas do composto isolado de valeriana officinalis em transtorno de ansiedade. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 74751-74762, 2020.

LIMPER, Andrew H. et al. Fungal infections in HIV/AIDS. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. e334-e343, 2017.

LI, Xia et al. A physiologically based pharmacokinetic model of voriconazole integrating time-dependent inhibition of CYP3A4, genetic polymorphisms of CYP2C19 and predictions of drug–drug Interactions. **Clinical pharmacokinetics**, v. 59, n. 6, p. 781-808, 2020.

MELO, Maria CA et al. Inhibition of the hemolytic activity caused by *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin through isatin-Schiff copper (II) complexes. **FEMS microbiology letters**, v. 363, n. 1, p. fnv207, 2016.

MIGNANI, Serge et al. Present drug-likeness filters in medicinal chemistry during the hit and lead optimization process: how far can they be simplified?. **Drug discovery today**, v. 23, n. 3, p. 605-615, 2018.

MONTEFIORI, Marco et al. Fast Methods for Prediction of Aldehyde Oxidase-Mediated Site-of-Metabolism. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 17, p. 345-351, 2019.

OLSEN, Lars et al. SMARTCyp 3.0: enhanced cytochrome P450 site-of-metabolism prediction server. **Bioinformatics**, v. 35, n. 17, p. 3174-3175, 2019.

OTSUKA, Yukio et al. Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling for the Prediction of a Drug–Drug Interaction of Combined Effects on P-glycoprotein and Cytochrome P450 3A. **CPT: pharmacometrics & systems pharmacology**, v. 9, n. 11, p. 659-669, 2020.

PASQUALOTTO, Alessandro C.; SUKIENNIK, Teresa CT; MEIS, Jacques F. Brazil is so far free from *Candida auris*. Are we missing something?. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 23, n. 3, p. 149-150, 2019.

RODRIGUES, Aldenora MX et al. In-silico studies of Riparin B in the design of drugs: Physicochemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. **BioRxiv**, 2020.

ROY, Kunal (Ed.). **In silico drug design: repurposing techniques and methodologies**. Academic Press, 2019.

RUBINI, Durairajan; HARI, B. Narayanan Vedha; NITHYANAND, Paramasivam. Chitosan coated catheters alleviates mixed species biofilms of *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans*. **Carbohydrate Polymers**, v. 252, p. 117192, 2020.

SAHNOUN, Mouna et al. Apigenin isolated from *A. americana* encodes Human and *Aspergillus oryzae* S2 α -amylase inhibitions: credible approach for antifungal and antidiabetic therapies. **Journal of food science and technology**, v. 55, n. 4, p. 1489-1498, 2018.

SHAFIEI, Fatemeh; ESMAEILI, Elham. QSAR models to predict physico-chemical Properties of some barbiturate derivatives using molecular descriptors and genetic algorithm-multiple linear regressions. **Quarterly Journal of Iranian Chemical Communication**, v. 7, p. 170-179, 2019.

SHARMA, Shweta et al. Mining of potential dipeptidyl peptidase-IV inhibitors as anti-diabetic agents using integrated in silico approaches. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 38, n. 18, p. 5349-5361, 2020.

SCHNECKENER, Sebastian et al. Prediction of oral bioavailability in rats: transferring insights from in vitro correlations to (deep) machine learning models using in silico model outputs and chemical structure parameters. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 59, n. 11, p. 4893-4905, 2019.

SPETTEL, Kathrin et al. Analysis of antifungal resistance genes in *Candida albicans* and *Candida glabrata* using next generation sequencing. **PloS one**, v. 14, n. 1, p. e0210397, 2019.

SIQUEIRA, Tayane Honorato; MARTINEZ, Leandro. Molecular simulations of fluconazole-mediated inhibition of sterol biosynthesis. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, 2019.

SHAHZAN, M. Sohaib; GIRIJA, AS Smiline; PRIYADHARSINI, J. Vijayashree. A computational study targeting the mutated L321F of ERG11 gene in *C. albicans*, associated with fluconazole resistance with bioactive compounds from *Acacia nilotica*. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 29, n. 4, p. 303-309, 2019.

TORRES, Pedro HM et al. Key topics in molecular docking for drug design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4574, 2019.

TILAKVIJAY, Jakkanaboina; BABU, Kandimalla Vivek; UMA, Addepally. Virtual screening of novel compounds as potential ER-alpha inhibitors. **Bioinformation**, v. 15, n. 5, p. 321, 2019.

TIGHADOUINI, Said et al. Novel β -keto-enol pyrazolic compounds as potent antifungal agents. Design, synthesis, crystal structure, DFT, homology modeling, and docking studies. **Journal of chemical information and modeling**, v. 59, n. 4, p. 1398-1409, 2019.

TOUBI, Yahya et al. Synthesis, Antimicrobial Screening, Homology Modeling, and Molecular

Docking Studies of a New Series of Schiff Base Derivatives as Prospective Fungal Inhibitor Candidates. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3250, 2019.

VERMA, Abhishek Kumar et al. Inhibition of multidrug resistance property of *Candida albicans* by natural compounds of *parthenium hysterophorus* L. An In-Silico approach. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 9, n. 3, p. 55-64, 2020.

VUPPALA, Srimai et al. Structure-based lead optimization to improve the antifungal potency of the tetrahydroimidazo pyridine inhibitors targeted to *Candida albicans* dihydrofolate reductase and lanosterol 14-alpha-demethylase. **Medicinal Chemistry Research**, v. 28, n. 10, p. 1674-1682, 2019.

WALKER, Jennifer N. et al. High-resolution imaging reveals microbial biofilms on patient urinary catheters despite antibiotic administration. **World journal of urology**, v. 38, n. 9, p. 2237-2245, 2020.

YANG, Hongbin et al. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. **Bioinformatics**, v. 35, n. 6, p. 1067-1069, 2019.

ZHANG, Weilin; PEI, Jianfeng; LAI, Luhua. Computational multitarget drug design. **Journal of chemical information and modeling**, v. 57, n. 3, p. 403-412, 2017.

CAPÍTULO 15

COMPLEXO *Sporothrix schenckii* E ESPOROTRICOSE: UMA REVISÃO

Amanda Virgínia Barbosa

Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco-UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: amanda.virginia@ufpe.br

Bárbara de Azevedo Ramos

Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco-UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: barbara.azevedo@ufpe.br

Ana Vitória Araújo Lima

Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco-UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: ana.vitorialima@hotmail.com

Sivoneide Maria da Silva

Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco-UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: sivoneide.maria@ufpe.br

Francisco Henrique da Silva

Acadêmico de Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Bioquímica
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: fh96986778@gmail.com

Márcia Vanusa da Silva

Professora Associada do Departamento de Bioquímica Universidade Federal de Pernambuco-UFPE
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: marciavanusa@yahoo.com.br

RESUMO: *Sporothrix* corresponde a um gênero de fungos cosmopolitas pertencentes ao filo Ascomycota, que incluem indivíduos sapróbios e parasitas de vertebrados e plantas. O complexo de espécies *Sporothrix schenckii* são fungos dimórficos que possuem parede celular e produzem melanina. Algumas espécies pertencentes ao complexo *S. schenckii* são causadores da criptococose, uma micose subcutânea aguda ou crônica causada pelo contato traumático com material contaminado com esporos ou por animais doentes. O diagnóstico para a doença é

realizado através de cultura e o tratamento envolve a terapia com itraconazol, anfotericina B, terbinafina e uma solução saturada de iodeto de potássio. No entanto, devido a toxicidade e ao aumento da resistência, as terapias usuais podem ser drasticamente comprometidas. Desse modo, terapias alternativas utilizando compostos naturais de plantas e o desenvolvimento de uma vacina são possibilidades interessantes. Assim, pesquisas que visem o desenvolvimento de novas drogas, sintéticas ou naturais, são significativamente importantes.

ABSTRACT: *Sporothrix* corresponds to a genus of cosmopolitan fungi belonging to the Ascomycota phylum, which include saprobic individuals and parasites of vertebrates and plants. The complex os *Sporothrix schenckii* species are dimorphic fungi that have a cell wall and produce melanin. Some species belonging to the *S. schenckii* complex cause cryptococcosis, an acute or chronic subcutaneous mycosis caused by contact with material contaminated with spores or by sick animals. The diagnosis for the disease is made by culture and treatment involves therapy with itraconazole, amphotericin B, terbinafine and a saturated solution of potassium iodide. However, due to toxicity and increased resistance, the usual therapies can be dramatically compromised. Thus, alternative therapies using natural plants compounds and the development of a vaccine are interesting possibilities. Thus, research aimed at the development of new drugs, synthetic or natural, is significantly important.

1. COMPLEXO *Sporothrix schenckii*

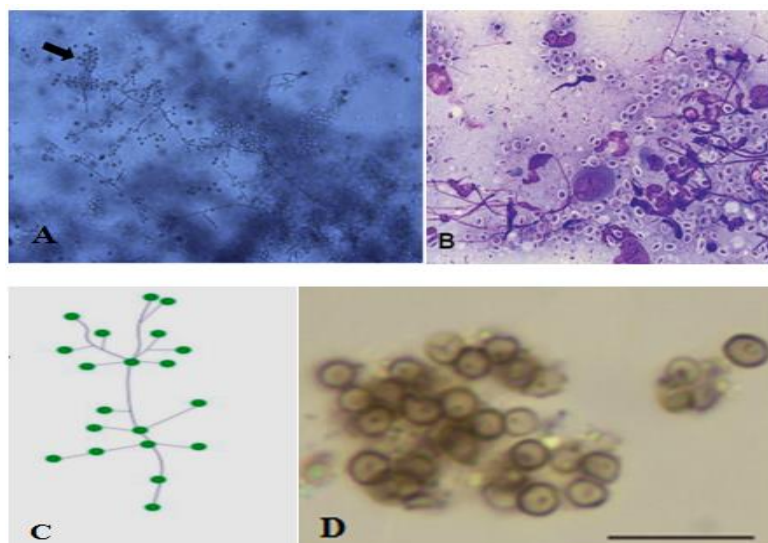
Sporothrix corresponde a um gênero de fungos cosmopolitas pertencentes ao filo Ascomycota, que incluem indivíduos sapróbios e parasitas de vertebrados e plantas (LÓPEZ-ROMERO *et al.*, 2011). Das 51 espécies descritas para o gênero, a maior parte delas corresponde a indivíduos não patogênicos de hábitos ambientais que se desenvolvem em madeira em decomposição, plantas e no solo (GREMIÃO *et al.*, 2017).

Sporothrix schenckii lato sensu é um complexo de espécies formado por *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix luriei*, *Sporothrix schenckii* stricto sensu e *Sporothrix globosa* e ambas compõem o denominado clado clínico, espécies de importância médica, por serem mais virulentas em mamíferos. Do outro lado, tem-se a *Sporothrix mexicana* e a *Sporothrix pallida*, espécies moderadamente patogênicas que integram o clado ambiental (HAN; KANO, 2020).

O complexo de espécies *S. schenckii* são fungos dimórficos, ou seja, possuem duas formas sendo uma filamentosa e outra leveduriforme. Inicialmente, *S. schenckii* formam colônias brancas que se tornam marrons ou pretas ao passo que os conídios são produzidos. Já na fase parasitária, apresentam-se como leveduras ovais (Figura 1) (OLIVEIRA *et al.*, 2011). A capacidade de mudar sua morfologia de acordo com a temperatura, passando de um estilo de vida saprofítico micelial a 25 °C para um estado de levedura quando em contato com o hospedeiro de sangue quente (35-37 °C), corresponde a um dos principais fatores para o sucesso da infecção em mamíferos (RODRIGUES, HOOG; CAMARGO, 2016).

Esses fungos possuem parede celular e produzem melanina, que é um dos fatores de virulência desses microrganismos. As espécies que produzem mais melanina são mais infectantes do que as menos produtoras (TEXEIRA *et al.*, 2010). Ainda não foi totalmente elucidado o processo de biossíntese de melanina entre as espécies de *Sporothrix* spp. No entanto, a produção desse pigmento ocorre de maneira mais rápida e mais abundante em *S. brasiliensis* do que em *S. schenckii* (WALLER *et al.*, 2020).

Figura 1. Fotomicrografia do fungo (400x). (A) É possível observar os conidióforos contendo conídios como um buquê na ponta (seta). (B) Forma leveduriforme de *S.schenckii* (Exame direto. 10x. Coloração Romanowsky). (C) Imagem de *S. schenckii*. (D) Colônia melanizada de *S. schenckii* (25°C).



Fonte: Barraza *et al.* (2018); Silva *et al.* (2018); Jiao *et al.* (2019) e Barros; Paes; Schubach (2011).

Infecções invasivas causadas por fungos têm contribuído para aumento das taxas de morbimortalidade, principalmente de pacientes imunocomprometidos, chegando a representar até 60% das causas de óbitos (HAMILL, 2013).

Nos últimos anos, os casos de esporotricose têm aumentado consideravelmente em zonas tropicais e subtropicais (LYON *et al.*, 2003; KOVARIK; NEYRA; BUSTAMANTE, 2008), inclusive no Brasil (SCHUBACH; BARROS; WANKE, 2008; BARROS *et al.*, 2010; MADRID *et al.*, 2012).

2. ESPOROTRICOSE

A esporotricose é uma infecção causada por fungos do complexo *Sporothrix*, que acomete principalmente gatos e humanos. Esta infecção apresenta-se com altas incidências no Brasil e na China, tornando-se um alerta global (RODRIGUES, HOOG; CAMARGO, 2015).

Trata-se de uma micose subcutânea aguda ou crônica causada pelo contato traumático com material contaminado com esporos ou por animais doentes (LÓPEZ-ROMERO *et al.*, 2011). A esporotricose em humanos manifesta uma grande variação clínica e pode ser classificada como esporotricose cutânea (lesão restrita), linfocutânea (mais comum), cutânea disseminada (várias lesões no corpo), extracutânea (atinge vários órgãos e tecidos) e esporotricose pulmonar primária, neste último caso quando ocorre a inalação de conídios (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Infecções sistêmicas podem ocorrer em indivíduos imunodeprimidos, comprometendo inúmeros órgãos (ZHOU *et al.*, 2013). Uma vez dentro do hospedeiro, a fase de conídios se transforma em levedura em resposta a temperatura corporal, sendo esta a fase dominante nas infecções (BONIFAZ; VAZQUEZ-GONZALEZ, 2010).

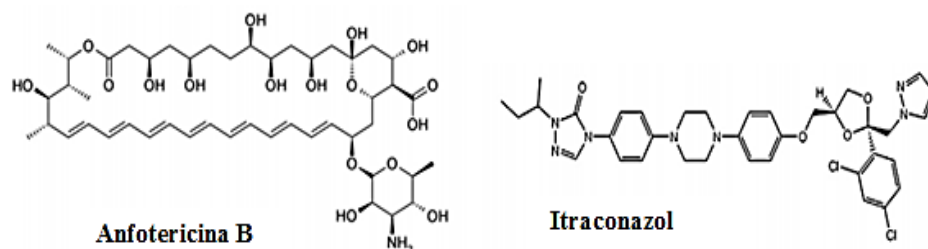
Sabe-se que fungos se adaptam bem a áreas quentes e úmidas e esses fatores favoreceu a disseminação desses microrganismos em lugares que apresentam tais características como a Austrália, China, Índia, Estados Unidos, México e Panamá (BRILHANTE *et al.*, 2017). No Brasil, a espécie mais prevalente nos casos de esporotricose felina é a *S. brasiliensis* e é considerada a mais virulenta (WALLER *et al.*, 2017), com capacidade de infectar cachorros e humanos (THOMSON *et al.*, 2019). Além disso, *S. brasiliensis* é epidêmico e encontra-se geograficamente restrito ao país (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2012). *S. schenckii* stricto sensu, *S. globosa* e *S. mexicana* também estão associadas aos casos de esporotricose (BRILHANTE *et al.*, 2017).

O estado do Rio de Janeiro vem sofrendo, nos últimos anos, surtos de esporotricose transmitidas diretamente de gatos para humanos. Esse surto epizootico continua crescente no estado e em expansão para as demais regiões do Brasil (QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019). Um estudo realizado por Silva *et al.* (2018), relatou o primeiro surto de esporotricose em felinos na região metropolitana do Recife.

2.1 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

O padrão-ouro utilizado para diagnóstico da esporotricose é a cultura, no entanto, outras ferramentas como análises sorológicas, histopatológicas e moleculares podem ser utilizadas para auxiliar na detecção dessas infecções (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011). O sucesso do tratamento depende diretamente de um diagnóstico rápido e seguro, pois os padrões de sensibilidade aos antifúngicos são diferentes entre as espécies do complexo *Sporothrix* (GREMIÃO *et al.*, 2017). Independentemente da espécie causadora da infecção, a esporotricose pode ser tratada com itraconazol, anfotericina B, terbinafina e uma solução saturada de iodeto de potássio por até 6 meses (Figura 2) (KAUFFMAN; HAJJEH; CHAPMAN, 2000).

Figura 2. Estrutura química dos antifúngicos Anfotericina B e Itraconazol.



Fonte: Nett; Andes (2016).

O Itraconazol é um antifúngico triazólico com amplo espectro de atividade. Ele age inibindo a 14 α -desmetilase, enzima dependente do citocromo P450, resultando na diminuição do ergosterol e acúmulo de 14 α -metilesteróis causando defeitos na membrana e afetando sua permeabilidade. Comporta-se como uma droga fungistática, ou seja, inibe o crescimento fúngico, no entanto, doses altas podem causar a morte desses patógenos (JAIN; SEHGAL, 2003). A terbinafina é um fármaco sintético derivado da alilamina sendo utilizado desde 1996, no tratamento de micoses. Atua especificamente na biosíntese de ergosterol (AJIT, *et al.*, 2003).

Já a anfotericina B é um antifúngico macrolídeo da classe dos polienos, utilizado na clínica desde 1959, e produzido através da fermentação pelo *Streptomyces nodosus* (HAMILL, 2013). Seu uso é indicado em casos de infecções mais severas com altas taxas de sucesso, no entanto, há casos em que os pacientes respondem lentamente ao tratamento ou a terapia é ineficaz e os mesmos desenvolvem uma infecção crônica (ALMEIDA-PAES, *et al.*, 2016), comprometendo drasticamente o quadro clínico desses indivíduos. Seu mecanismo de ação ocorre por interação com o ergosterol, um dos principais componentes da membrana fúngica, comprometendo a permeabilidade da mesma (HAMILL, 2013).

A anfotericina B apesar de ser um potente antifúngico, seu uso é restrito em decorrência de alguns efeitos colaterais, incluindo toxicidade renal e hepática (NETT; ANDES, 2016).

Vale ressaltar que devido o alto risco das terapias antifúngicas sistêmicas, é importante isolar e identificar corretamente o patógeno, tal prática auxilia na escolha do tratamento terapêutico mais adequado (JAIN; SEHGAL, 2003).

3. RESISTÊNCIA FÚNGICA

De acordo com as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) padronizadas pelo Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, em inglês) e pelo Comitê Europeu de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana (EUCAST, em inglês), cepas fúngicas com valores da CIM $\geq 8\mu\text{g} / \text{mL}$ são consideradas resistentes (WALLER *et al.*, 2020).

A escolha adequada da terapia antifúngica tem relação direta com o agente causador da infecção e seu perfil de susceptibilidade, desse modo, é crucial o conhecimento sobre o mecanismo de ação e perfil de resistência às drogas antifúngicas. Muitas cepas já são resistentes às drogas da classe dos triazólicos, como o itraconazol, em consequência do seu imenso uso clínico (CUENCA-ESTRELLA, 2010).

Um estudo realizado por Gutierrez-Galhardo e colaboradores (2010), verificou a susceptibilidade antifúngica de 91 linhagens de *S. schenckii* e os resultados mostraram resistência para fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol e terbinafina. Cepas de *S. brasiliensis* já são descritas como resistentes aos antifúngicos comumente utilizados no tratamento da esporotricose (WALLER *et al.*, 2017). Almeida-Paes *et al.*, (2016), investigaram se a produção de melanina interfere na ação do antifúngico terbinafina e concluíram que a melanina produzida por *S. brasiliensis* e *S. schenckii* protegem esses patógenos da ação da droga.

O aumento de casos de infecções fúngicas é preocupante devido ao número limitado de drogas antifúngicas, pois tanto a toxicidade quanto a resistência comprometem significativamente seu uso e eficácia. Todas as espécies do complexo *S. schenckii* de importância clínica já foram relatadas em infecções persistentes, o que pode indicar resistência antifúngica (SÁNCHEZ-HERRERA, *et al.*, 2020).

Um fator relevante que contribuiu para a resistência antimicrobiana e colabora com a redução da eficácia terapêutica é a capacidade que muitos microrganismos possuem inclusive os fungos, em formar biofilmes (BRILHANTE, *et al.*, 2017). A adesão a uma superfície é um fator fundamental para a formação do biofilme, e espécies do complexo *S. schenckii* na forma de leveduras possuem alta capacidade de aderência às células do epitélio. Assim, esses fungos conseguem aderir aos tecidos do hospedeiro e até em dispositivos médicos implantados e formar o biofilme (BRILHANTE, *et al.*, 2018).

4. AVANÇOS TERAPÊUTICOS

O aumento de cepas resistentes é um alerta para a saúde pública, pois, reduz drasticamente as opções terapêuticas. Assim, são importantes pesquisas que visem à descoberta de novos agentes antifúngicos inclusive, de origem natural. Extratos vegetais são ricos em compostos com ação medicinal. Essas substâncias já são bem descritas na literatura com caracterização e atividades biológicas bem definidas. Os flavonoides como a quercetina e rutina, e alguns ácidos fenólicos, apresentam atividade antifúngica contra *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Candida albicans* e também para *S. schenckii* (WALLER *et al.*, 2017). Desse modo, é importante que outros compostos produzidos pelas plantas também possam ser explorados quanto à atividade antifúngica.

O desenvolvimento de uma vacina eficaz contra a esporotricose é uma alternativa interessante. A produção de uma vacina é um caminho possível uma vez que uma resposta humoral específica contra *Sporothrix* já foi relatada. *Sporothrix* 3-carboximuconato ciclase (Gp70 e Gp60) emerge como um alvo promissor para estudos de vacinação uma vez que essas glicoproteínas já foram reconhecidas por anticorpos no soro de felinos infectados (GREMIÃO *et al.*, 2017).

5. CONCLUSÃO

Fungos do complexo *S. schenckii* são patógenos causadores da esporotricose, uma infecção fúngica invasiva que pode ser fatal. Esses microrganismos apresentam diversas características associadas aos seus fatores de virulência inclusive, resistência aos antifúngicos. Assim, devido à limitada disponibilidade de agentes antifúngicos, pesquisas que visem o desenvolvimento de novas drogas, sintéticas ou naturais, são significativamente importantes.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AJIT, C. *et al.* Terbinafine-Associated Hepatotoxicity. **The American Journal of the Medical Sciences** , 325(5):292-295, 2003.
- ALMEIDA-PAES, R. *et al.* Melanins Protect *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* from the Antifungal Effects of Terbinafine. **PLoS ONE** 11(3): e0152796, 2016.
- ALMEIDA-PAES, R. *et al.* Refractory sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in humans appears to be unrelated to in vivo resistance. **Medical Mycology**, 00, 1–11, 2016.
- BARRAZA, L. L. *et al.* Facial cutaneous sporotrichosis in a boy. **The Journal of Emergency Medicine**, Vol. -, No. -, pp. 1–2, 2018.
- BARROS, M. B. L. *et al.* Sporotrichosis: development and challenges of an epidemic . **Rev Panam Salud Publica**. 27 : 455 – 460, 2010.
- BARROS, M. B. L.; PAES, R. A.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews**, 24(4): 633–654, 2011.
- BONIFAZ, A.; VAZQUEZ-GONZALEZ, D. Sporotrichosis: an update. **Giornale italiano di dermatologia e venereologia: organo ufficiale, Societa italiana di dermatologia e sifilografia**. 145(5): 659-673, 2010.
- BRILHANTE, R. S. N. *et al.* Antifungal susceptibility of *Sporothrix schenckii* complex biofilms. **Medical Mycology**, 56(3) 297-306, 2017.
- BRILHANTE, R. S. N. *et al.* Potassium iodide and miltefosine inhibit biofilms of *Sporothrix schenckii* species complex in yeast and filamentous forms. **Medical Mycology**, Vol. 00, No. 00, 2018.
- CUENCA-ESTRELLA, M. Antifungal agents in the treatment of systemic infections: Relevance of mechanism of action, activity profile and resistances. **Revista Espanola de Quimioterapia: Publicacion Oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia**. 23(4):169-176, 2010.
- GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. *et al.* Antifungal susceptibility profile in vitro of *Sporothrix schenckii* in two growth phases and by two methods: microdilution and E-test. **Mycoses**. 53(3):227–231, 2010.
- GREMIAO, I. D. F. *et al.* Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathog** 13(1): e1006077, 2017.
- HAMILL, R. J. Amphotericin B Formulations: A Comparative Review of Efficacy and Toxicity. **Drugs** 73(9):919–934, 2013.
- HAN, H. S.; KANO, R. Feline sporotrichosis in Asia. **Brazilian Journal of Microbiology**. Doi: 10.1007/s42770-020-00274-5
- JAIN, S.; SEHGAL, V. Itraconazole versus terbinafine in the management of onychomycosis: an overview. **Journal of Dermatological Treatment** 14(1), 30–42, 2003.
- JIAO, Q. *et al.* The complex role of mast cells in fungal infections. **Experimental Dermatology**. 28:749–755, 2019.

- KAUFFMAN, C. A.; HAJJEH, R.; CHAPMAN, S.W. Practice guidelines for the management of patients with sporotrichosis. For the Mycoses Study Group, Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis.** vol.30 (pg. 684-7), 2000.
- KOVARIK, C. L.; NEYRA, E.; BUSTAMANTE, B. Evaluation of cats as the source of endemic sporotrichosis in Peru. *Med Mycol*; 46 : 53 – 56, 2008 .
- LÓPEZ- ROMERO, E. *et al.* *Sporothrix schenckii* complex and sporotrichosis, an emerging health problem. **Future Microbiol.** 6(1), 85–102, 2011.
- LYON, G. M. *et al.* Population-based surveillance and a case-control study of risk factors for endemic lymphocutaneous sporotrichosis in Peru. *Clin Infect Dis*; 36(1) : 34 – 39, 2003.
- MADRID, I. M. *et al.* Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. **Mycopathologia**; 173 : 265 – 273, 2012.
- NETT, J. E.; ANDES, D. R. Antifungal Agents Spectrum of Activity, Pharmacology, and Clinical Indications. **Infect Dis Clin N Am** 30(1), 51-83, 2016.
- OLIVEIRA, M. M. E. *et al.* Phenotypic and Molecular Identification of *Sporothrix* Isolates from an Epidemic Area of Sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia** 172(4):257–267, 2011.
- OLIVEIRA, M. M. E. *et al.* Molecular identification of the *Sporothrix schenckii* complex. *Rev Iberoam Micol.*31(1):2–6, 2014.
- QUEIROZ-TELLES, F.; BUCCHERI, R.; BENARD, G. Sporotrichosis In Immunocompromised Hosts. **J. Fungi**, 5, 8, 2019.
- RODRIGUES, A. M.; HOOG, S.; CAMARGO, Z. P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Medical Mycology**, Early Online: 1–8, 2012.
- RODRIGUES, A. M.; HOOG, G. S.; CAMARGO, Z. P. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. **PLoS Negl Trop Dis** 9(12), 2015.
- RODRIGUES, A. M.; HOOG, S.; CAMARGO, Z. P. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. *PLoS Pathog* 12(7): e1005638, 2016.
- SÁNCHEZ-HERRERA, R. *et al.* Analysis of biofilm formation by *Sporothrix schenckii*. **Medical Mycology**, Vol. 00, No. 00, 1-10, 2020.
- SCHUBACH, A.; BARROS, M. B. L.; WANKE, B. Epidemic sporotrichosis. **Current Opinion in Infectious Diseases.** 21(2): 129-133, 2008.
- SILVA, G. M. *et al.* Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. **Pesq.Vet. Bras.** 38(9):1767-1771, 2018.
- TEIXEIRA, P. A. C. *et al.* L-DOPA accessibility in culture medium increases melanin expression and virulence of *Sporothrix schenckii* yeast cells. **Med. Mycol.** 48(5), 687–695, 2010.
- THOMSON, J. *et al.* An atypical cause of sporotrichosis in a cat. **Medical Mycology CaseReports.** 23, 72–76, 2019.

WALLER, S. B. *et al.* Plants from Lamiaceae family as source of antifungal molecules in humane and veterinary medicine. **Microbial Pathogenesis**. 104, 232–237., 2017.

WALLER, S. B. *et al.* Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2020. 10.1007/s42770-020-00307-z

ZHOU, X. *et al.* Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Fungal Diversity**. 66, 153–165,2013.

SOBRE OS ORGANIZADORES

Sivoneide Maria da Silva

Possui Graduação em Ciências Biológicas/Licenciatura pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE (2014) e Mestrado em Ciências Biológicas, área de concentração Biotecnologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - PPGCB - UFPE (2017). Atualmente é aluna de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia - PPGBqF - UFPE. Tem experiência em Microbiologia clínica e ambiental, atuando com Biologia Molecular de Microrganismos e Biofilmes Bactrianos.

Francisco Henrique da Silva

Acadêmico em Farmácia no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Atualmente participa de projetos de extensão na área de bioprospecção de compostos bioativos do Bioma Caatinga, desenvolve pesquisas relacionadas a perfil de resistência microbiana de organismos multi-droga resistentes no laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco. desenvolvendo pesquisa na área de produtos naturais e sintéticos frente a patógenos microbianos de interesse clínico. É Membro do Grupo de pesquisa dos compostos bioativos das florestas sazonalmente secas da América do Sul, onde associa os conhecimentos populares aos saberes científicos.

Amanda Virginia Barbosa

Possui graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE (2014) e Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - PPGCB - UFPE (2017). Atualmente, aluna de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - PPGCB – UFPE.

Matheus Alves Siqueira de Assunção

Acadêmico em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Atualmente participa de projeto de extensão na área de saúde do Hospital da Mulher de Recife - HMR, desenvolve pesquisas relacionadas ao desenvolvimento embrionário e toxicidade no Laboratório de Toxicidade e Comunicação Celular do Departamento de Histologia e Embriologia do Centro de Biociências. Desenvolve trabalhos relacionados ao estudo de algas e seu potencial de cicatrização e antimicrobiano pelo Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco-UFPE. Desenvolve um projeto de pesquisa intitulado "Variação espacial e sazonalidade de artrópodes associados a Ipomoea carnea subs.fistulosa (Convolvulaceae) na área de Caatinga", vinculado ao Laboratório de Interações Multitróficas - LIM do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Fálba Bernadete Ramos dos Anjos

Mestrado em Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco e Doutorado em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará. Professor da Universidade

Federal de Pernambuco. Atuando na área de Saúde Pública em Projetos de Extensão, nas maternidades e Projetos de Pesquisa com meio ambiente e em estudos com Etnofarmacologia; Ecotoxicidade e Embriotoxicidade. Realiza monitoramento da Costa do Estado de Pernambuco, evidenciando os efeitos da ação antrópica nos Ecossistemas Costeiros, evidenciando os impactos ambientais através de ouriços-do-mar, macroalgas e suas relações com os organismos marinhos presentes no habitat estudado, considerando sua distribuição geomorfológica. Avaliação da atividade de exsudatos naturais e outros biocompostos e a o seu comportamento na comunicação celular.

Agência Brasileira ISBN
ISBN: 978-65-992783-3-4