



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

**AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE AO ANTIFÚNGICO ANFOTERICINA B
(AmB) DE FUNGOS OPORTUNISTAS ISOLADOS DE AMBIENTES IMPACTADOS**

INGRID LEÃO PERDOMO

Foz do Iguaçu
2025

**AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE AO ANTIFÚNGICO ANFOTERICINA B (AmB) DE
FUNGOS OPORTUNISTAS ISOLADOS DE AMBIENTES IMPACTADOS**

INGRID LEÃO PERDOMO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos

Coorientadora: Profa. Dra. Nathália Corrêa Chagas de Souza


Foz do Iguaçu
2025

INGRID LEÃO PERDOMO


AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE AO ANTIFÚNGICO ANFOTERICINA B (AmB) DE FUNGOS OPORTUNISTAS ISOLADOS DE AMBIENTES IMPACTADOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **RAFAELLA COSTA BONUGLI SANTOS**
Data: 21/03/2025 08:32:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientadora: Profa. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos
UNILA

Documento assinado digitalmente
 **MICHEL RODRIGO ZAMBRANO PASSARINI**
Data: 21/03/2025 09:34:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini
UNILA

Documento assinado digitalmente
 **MILENE MIRANDA ALMEIDA LIRA**
Data: 21/03/2025 08:47:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Milene Miranda Almeida Lira
UNILA

Foz do Iguaçu, 18 de março de 2025.

RESUMO

Os fungos representam um dos grupos de organismos mais diversos existentes e desempenham papéis cruciais na decomposição de matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e na produção de medicamentos. No entanto, eles também podem atuar como patógenos de humanos e os fungos oportunistas, em particular, provavelmente evoluíram devido às pressões de seleção, permitindo assim o estabelecimento no hospedeiro mamífero. Contudo, esses organismos possuem uma capacidade de virulência inerente baixa e causam doenças em hospedeiros com um sistema imune enfraquecido. O tratamento de infecções fúngicas é desafiador devido à restrita diversidade de agentes antifúngicos, bem como ao aumento da resistência a esses medicamentos. As mudanças ambientais, como o aquecimento global e a poluição, contribuem para a propagação de fungos resistentes, o que representa um problema de saúde pública. Dessa forma, o presente trabalho avaliou a susceptibilidade de fungos oportunistas isolados de ambientes impactados por atividade antrópicas ao antifúngico Anfotericina B (AmB), com base na metodologia de referência E.DEF. 9.4 do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) e analisou o impacto das alterações ambientais na possível aquisição de resistência dos fungos ao agente antifúngico. Foram avaliados 27 fungos filamentosos depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos de Importância Biotecnológica e Ambiental (CCMIBA), isolados de sedimentos a partir de três pontos da região de Arroio Dourado, em Foz do Iguaçu, Paraná. O primeiro ponto de coleta (P1) está localizado antes do antigo lixão, influenciado pelas grandes áreas de cultivo de milho e soja; o segundo ponto (P2) está localizado após a região do antigo lixão e com grande influência da atividade antrópica, como assentamentos, moradias ilegais e descarte de esgoto doméstico sem tratamento; já o terceiro ponto de amostragem (P3) se localiza onde o córrego se junta ao Rio Tamanduá, onde seu fluxo aumenta substancialmente. A maioria dos fungos testados, 51,9%, apresentaram alta resistência à Anfotericina B. A média e a baixa resistência foram identificadas em 22,2% e 25,9% dos fungos, respectivamente. Esses resultados sugerem que, para a maioria dos fungos, é necessária uma concentração elevada de Anfotericina B para exercer uma ação antifúngica eficaz. Ao relacionar os resultados com os pontos de coleta, o P1 teve a maior contribuição para a alta resistência, 25,9%, seguido pelo P2 (14,8%) e pelo P3, que apresentou a menor contribuição para a resistência alta, 11,1%. Já em relação aos gêneros testados, os isolados do gênero *Trichoderma* apresentaram a segunda maior proporção de resistência alta (14,8%), seguidos por *Aspergillus* (3,7%) e *Penicillium* (3,7%). Além disso, a maior proporção para alta resistência (18,5%) foi observada em isolados ainda não identificados, o que destaca a importância da identificação taxonômica para compreender melhor os mecanismos de resistência. O trabalho evidenciou a capacidade de sobrevivência e adaptação dos fungos frente às pressões ambientais, cenário que ressalta a importância de desenvolver práticas mais sustentáveis, como a redução do descarte inadequado de contaminantes, uma vez que esses fatores podem contribuir para o desenvolvimento de cepas resistentes.

Palavras-chave: Fungos oportunistas; Susceptibilidade antifúngica; Anfotericina B; Poluição ambiental; Resistência antimicrobiana.

RESUMEN

Los hongos representan uno de los grupos de organismos más diversos que existen y desempeñan papeles cruciales en la descomposición de la materia orgánica, el ciclo de los nutrientes y la producción de medicamentos. Sin embargo, también pueden actuar como patógenos del ser humano y, en particular, los hongos oportunistas probablemente han evolucionado debido a presiones de selección, lo que les ha permitido establecerse en el hospedador mamífero. Sin embargo, estos organismos tienen una baja capacidad de virulencia inherente y causan enfermedades en huéspedes con un sistema inmunitario debilitado. El tratamiento de las infecciones fúngicas supone un reto debido a la restringida diversidad de agentes antifúngicos, así como al aumento de la resistencia a estos fármacos. Los cambios ambientales, como el calentamiento global y la contaminación, contribuyen a la propagación de hongos resistentes, lo que representa un problema de salud pública. Por lo tanto, este estudio evaluó la susceptibilidad de hongos oportunistas aislados de entornos afectados por actividades antropogénicas al fármaco antifúngico Anfotericina B (AmB), basándose en la metodología de referencia E.DEF. 9.4 del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) y se analizó el impacto de los cambios ambientales en la posible adquisición de resistencia fúngica al antifúngico. Se evaluaron 27 hongos filamentosos depositados en la Colección de Cultivos de Microorganismos de Importancia Biotecnológica y Ambiental (CCMIBA), aislados de sedimentos de tres puntos de la región de Arroio Dourado, en Foz do Iguaçu, Paraná. El primer punto de colecta (P1) está localizado antes del antiguo basurero, influenciado por grandes áreas de cultivo de maíz y soja; el segundo punto (P2) está localizado después del antiguo basurero y está fuertemente influenciado por la actividad antropogénica, como asentamientos, viviendas ilegales y eliminación de aguas residuales domésticas no tratadas; mientras que el tercer punto de muestreo (P3) está localizado donde el arroyo se une al río Tamandúá, donde su caudal aumenta sustancialmente. La mayoría de los hongos analizados, el 51,9%, mostraron una alta resistencia a la anfotericina B. Se identificó resistencia media y baja en el 22,2% y el 25,9% de los hongos, respectivamente. Estos resultados sugieren que, para la mayoría de los hongos, se requiere una concentración elevada de Anfotericina B para ejercer una acción antifúngica eficaz. Al relacionar los resultados con los puntos de recogida, P1 tuvo la mayor contribución a la alta resistencia, un 25,9%, seguido de P2 (14,8%) y P3, que tuvo la menor contribución a la alta resistencia, un 11,1%. En cuanto a los géneros analizados, los aislados del género *Trichoderma* presentaron la segunda mayor proporción de alta resistencia (14,8%), seguidos de *Aspergillus* (3,7%) y *Penicillium* (3,7%). Además, la mayor proporción de resistencias elevadas (18,5%) se observó en aislados que aún no habían sido identificados, lo que pone de relieve la importancia de la identificación taxonómica para comprender mejor los mecanismos de resistencia. El trabajo puso de relieve la capacidad de los hongos para sobrevivir y adaptarse a las presiones medioambientales, un escenario que subraya la importancia de desarrollar prácticas más sostenibles, como la reducción de la eliminación inadecuada de contaminantes, ya que estos factores pueden contribuir al desarrollo de cepas resistentes.

Palabras clave: Hongos oportunistas; Sensibilidad a los antifúngicos; Anfotericina B; Contaminación ambiental; Resistencia a los antimicrobianos.

ABSTRACT

Fungi represent one of the most diverse groups of organisms in existence and play crucial roles in the decomposition of organic matter, nutrient cycling and the production of medicines. However, they can also act as pathogens of humans and opportunistic fungi, in particular, have probably evolved due to selection pressures, thus allowing establishment in the mammalian host. However, these organisms have a low inherent virulence capacity and cause disease in hosts with a weakened immune system. The treatment of fungal infections is challenging due to the restricted diversity of antifungal agents, as well as the increase in resistance to these drugs. Environmental changes, such as global warming and pollution, contribute to the spread of resistant fungi, which represents a public health problem. Therefore, this study assessed the susceptibility of opportunistic fungi isolated from environments impacted by anthropogenic activities to the antifungal drug Amphotericin B (AmB), based on the reference methodology E.DEF. 9.4 of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and analyzed the impact of environmental changes on the possible acquisition of fungal resistance to the antifungal agent. The study evaluated 27 filamentous fungi deposited in the Culture Collection of Microorganisms of Biotechnological and Environmental Importance (CCMIBA), isolated from sediments from three points in the Arroio Dourado region, in Foz do Iguaçu, Paraná. The first collection point (P1) is located before the old dump, influenced by large areas of corn and soybean cultivation; the second point (P2) is located after the old dump and is heavily influenced by anthropogenic activity, such as settlements, illegal housing and the disposal of untreated domestic sewage; while the third sampling point (P3) is located where the stream joins the Tamanduá River, where its flow increases substantially. Most of the fungi tested, 51.9%, showed high resistance to Amphotericin B. Medium and low resistance were identified in 22.2% and 25.9% of the fungi, respectively. These results suggest that, for most fungi, a high concentration of Amphotericin B is required to exert an effective antifungal action. When relating the results to the collection points, P1 had the highest contribution to high resistance, 25.9%, followed by P2 (14.8%) and P3, which had the lowest contribution to high resistance, 11.1%. In terms of the genera tested, isolates from the genus *Trichoderma* had the second highest proportion of high resistance (14.8%), followed by *Aspergillus* (3.7%) and *Penicillium* (3.7%). In addition, the highest proportion of high resistance (18.5%) was observed in isolates that had not yet been identified, which highlights the importance of taxonomic identification in order to better understand resistance mechanisms. The work showed the ability of fungi to survive and adapt to environmental pressures, a scenario which highlights the importance of developing more sustainable practices, such as reducing the inappropriate disposal of contaminants, since these factors can contribute to the development of resistant strains.

Keywords: Opportunistic fungi; Antifungal susceptibility; Amphotericin B; Environmental pollution; Antimicrobial resistance.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3 DESENVOLVIMENTO	12
3.1 FUNGOS: CLASSIFICAÇÃO E DIVERSIDADE	12
3.2 FUNGOS PATOGÊNICOS E INFECÇÕES ASSOCIADAS.....	14
3.2.1 Micoses superficiais e cutâneas	14
3.2.2 Micoses subcutâneas e sistêmicas.....	15
3.2.3 Micoses oportunistas	17
3.3 DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES FÚNGICAS	19
3.4 EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES FÚNGICAS.....	20
4 ANTIFÚNGICOS	22
4.1 RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA.....	26
4.1.1 Mecanismo de resistência à Anfotericina B	27
5 INFLUÊNCIA AMBIENTAL NA DINÂMICA DAS INFECÇÕES FÚNGICAS	28
5.1 POLUIÇÃO AMBIENTAL COMO UM FATOR PREDISPONENTE À RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA	30
6 METODOLOGIA.....	31
6.1 MICRORGANISMOS.....	31
6.2 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA	32
6.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO	32
6.4 PREPARO DOS INÓCULOS.....	33
6.5 PREPARO DAS PLACAS DE MICRODILUIÇÃO	34
6.6 LEITURA DOS RESULTADOS.....	35
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
8 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

Os fungos representam cerca de 170 mil espécies catalogadas (Index Fungorum, 2025), embora estima-se que estes organismos cheguem a 3,8 milhões de espécies, representando um dos grupos de organismos mais diversos existentes (HAWKSWORTH e LUCKING, 2017). Esses organismos essenciais na decomposição de matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes, além de algumas espécies possuírem aplicações em benefício humano. Porém, muitas espécies também podem atuar como patógenos de plantas e animais, incluindo os seres humanos, o que leva à necessidade da existência de medicamentos que possam combatê-los e ao monitoramento de fungos que apresentem resistência a estes fármacos (MORAES, *et al.* 2009).

A micologia médica é o ramo da microbiologia que estuda os fungos patogênicos e busca estabelecer o diagnóstico da infecção com base na coleta e processamento das espécies (MORAES, *et al.* 2009; OLIVEIRA, 2021). As infecções mais relevantes do ponto de vista médico causadas pelos fungos são as micotoxicoses, ocasionadas pela ingestão de fungos produtores de substâncias tóxicas como alcalóides e aflatoxinas, e as micoses, por sua vez ocasionadas pelo crescimento excessivo de fungos e que são classificadas em micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas, de acordo com os tecidos que o patógeno coloniza (FERNANDES e MUÑOZ [s.d]).

Essas infecções representam um problema de saúde global, em especial as micoses sistêmicas, que estão associadas a níveis de mortalidade significativos. Elas, em sua maioria, ocorrem em casos de imunodeficiência do hospedeiro, estando estreitamente associadas com o conceito de infecção oportunista (IDEMYOR, 2003). Sendo assim, os estudos com fungos oportunistas têm se mostrado cada vez mais relevantes devido ao número crescente de infecções fúngicas, sobretudo causadas por espécies anteriormente não classificadas como patogênicas humanas (RODRIGUES *et al.*, 2022).

Gostincar *et al.* (2018) elucidaram que os patógenos oportunistas de humanos provavelmente sofreram um processo de exaptação, ou seja, originalmente evoluíram para propósitos diferentes que não a infecção do hospedeiro humano, como a tolerância ao stress ambiental e às altas temperaturas. Porém, juntamente a essa adaptação, os fungos podem ter desenvolvido a capacidade de prevalecer no corpo de mamíferos, sugerindo que os fungos termotolerantes, em geral, podem ser vistos como potenciais agentes patogênicos oportunistas, evidenciando a importância do monitoramento, diagnóstico e tratamento adequado dessas infecções.

Os compostos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas são restritos. Esse problema é atribuído à natureza eucariótica dos fungos e a semelhança da membrana plasmáticas deles com a dos mamíferos, o que torna os antifúngicos intrinsecamente difíceis de atingir seus alvos sem causar efeitos tóxicos às células humanas (MSG ERC, s.d.). O crescente desafio da resistência aos medicamentos e as possíveis interações adversas entre eles são fatores que também têm limitado a eficácia das opções terapêuticas disponíveis (CARMO *et al.*, 2023).

A resistência de um patógeno a um medicamento pode ser definida como a capacidade de sobrevivência e crescimento de um agente infeccioso em presença de concentrações deste composto que normalmente seriam suficientes para suprimir ou matar a sua população. Ou seja, é a capacidade do patógeno de resistir aos efeitos do medicamento, resultando em uma possibilidade elevada de falha terapêutica (PFALLER, 2012). Essa resistência representa um problema de saúde pública devido à limitação dos tratamentos disponíveis, aumentando assim os níveis de morbidade e mortalidade (CARMO *et al.*, 2023).

As alterações ambientais são fatores extremamente relevantes ao falarmos da prevalência das infecções fúngicas e da resistência de fungos aos agentes antimicrobianos. O aumento da temperatura média global e as consequências geradas impactam na adaptação do comportamento humano e na expansão das áreas nas quais os fungos conseguem sobreviver no ambiente (RHIJN e BROMLEY, 2021).

Além disso, diversos estudos têm relatado a relevância da poluição ambiental no surgimento e propagação de agentes patogênicos resistentes a medicamentos. Isso fica evidente nas estações de tratamento de águas residuais, que possuem uma grande diversidade de microrganismos e elevadas cargas de antimicrobianos, metais pesados e outros biocidas, criando um ambiente propício para o desenvolvimento de microrganismos oportunistas resistentes (SERAPICOS, 2008; SAMROT *et al.*, 2023; KALLI *et al.*, 2023).

Visto que a resistência antifúngica representa um problema de saúde pública devido à limitação dos tratamentos disponíveis, torna-se evidente a necessidade urgente de acompanhar e conhecer a suscetibilidade antifúngica de microrganismos ambientais (BERTO e HERMES, 2023). Desta forma, o presente trabalho visa determinar a ocorrência de fungos oportunistas resistentes a antimicrobianos, isolados a partir de regiões impactadas, o que contribuirá para a compreensão da prevalência de organismos resistentes nesses ambientes e para políticas públicas que previnam ou mitiguem situações semelhantes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a susceptibilidade ao antifúngico Anfotericina B (AmB) de fungos oportunistas isolados do Arroio Dourado, Foz do Iguaçu/PR, região impactada por atividades antrópicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Reativar os fungos da Coleção de Cultura de Microrganismos de Importância Biotecnológica e Ambiental (CCMIBA) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), isolados de ambientes impactados;
- Cultivar os fungos em ágar extrato de malte 2% (MA2);
- Selecionar as cepas esporuladas;
- Realizar o teste de sensibilidade à Anfotericina B (AmB);
- Relacionar os resultados obtidos com os pontos de coleta de cada fungo para analisar o possível impacto das alterações ambientais na aquisição de resistência.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 FUNGOS: CLASSIFICAÇÃO E DIVERSIDADE

De acordo com os registros no *Index Fungorum*, de 2025, um projeto sediado no Royal Botanical Gardens da Inglaterra para listar as espécies conhecidas de fungos, os fungos representam cerca de 170 mil espécies catalogadas, embora estime-se que estes organismos cheguem a 3,8 milhões de espécies, representando um dos grupos de organismos mais diversos existentes (HAWKSWORTH e LUCKING, 2017). Acredita-se que muitos deles estejam localizados em habitats pouco explorados, particularmente em regiões de *hotspot* de biodiversidade (WU *et al.*, 2019), o que dificulta a descoberta e o mapeamento de novas espécies devido à alta densidade biológica e às ameaças de exploração ambiental.

Os fungos possuem características específicas que permitem diferenciá-los de outros organismos. Como já conhecido e bem estabelecido pela literatura, eles são organismos eucarióticos, ubíquos e heterotróficos, e de acordo com a estrutura somática, eles podem ser classificados como leveduras, fungos filamentosos ou uma combinação das duas formas, os chamados fungos dimórficos. Quanto à reprodução fúngica, ela pode ocorrer de forma sexuada ou assexuada e suas estruturas reprodutivas, na forma de esporos ou conídios, ao encontrarem um substrato adequado, desenvolvem novas estruturas vegetativas e reprodutivas (SANTOS, 2015).

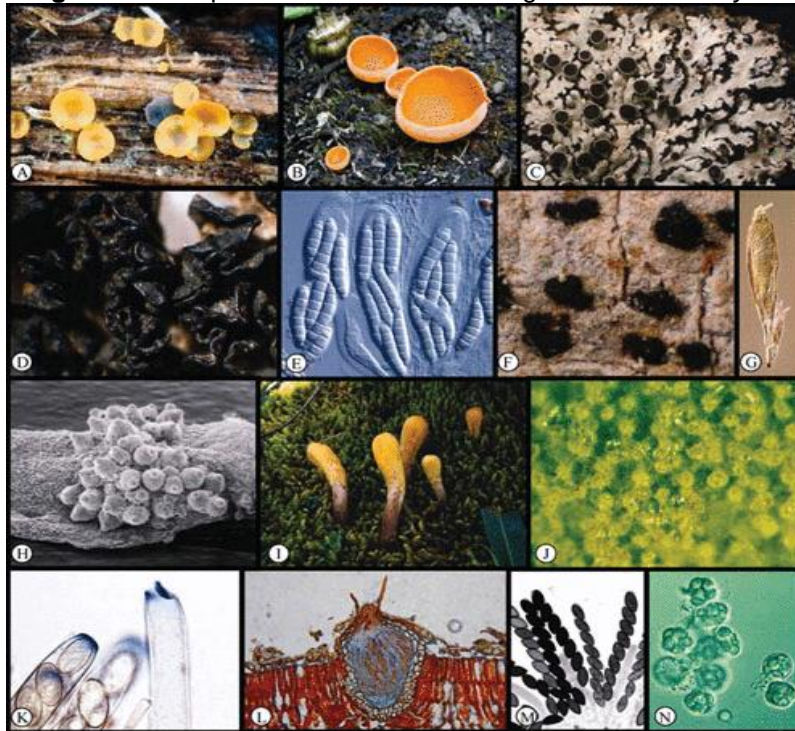
Esses organismos podem ainda ser divididos em saprófitos, aqueles que obtêm energia de matéria orgânica morta; parasitas, que parasitam organismos vivos e são capazes de causar doenças ou simbiontes, os quais estabelecem uma relação benéfica com um indivíduo autotrófico. Estes tipos fúngicos podem exercer tais características de forma facultativa ou obrigatória, assim, os parasitas e saprófitos facultativos são capazes de causar doenças ou de viver em restos orgânicos, enquanto os obrigatórios seguem exclusivamente um tipo de relação (MORAES, *et al.* 2009). Dessa forma, vale ressaltar que apesar de os fungos serem muito relevantes na decomposição da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes, eles podem também atuar como patógenos de plantas, de outros fungos e de animais, incluindo os seres humanos.

O Reino *Fungi*, de acordo com Merényi *et al.*, (2023), é composto por pelo menos 10 filos principais: *Aphelida*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Chytridiomycota*, *Mucoromycota*, *Olpidiomycota*, *Microsporidia*, *Sanchytriomycota* e *Zoopagomycota*. Os estudos filogenéticos, bem como de biodiversidade são de extrema

importância visto que esses organismos desempenham papéis essenciais nos ecossistemas e presume-se uma alta diversidade ainda não caracterizada. Eles permitem classificar os fungos com base em suas características particulares e podem ajudar na identificação daqueles que contribuem para o meio ambiente e para a vida humana, assim como identificar, proteger e prevenir desastres incorridos por fungos patogênicos (WU *et al.*, 2019).

Dentre os filos fúngicos, o *Ascomycota* (Imagem 1) se destaca como o mais abundante, representando cerca de 83 mil espécies catalogadas (SHEN *et al.*, 2020). Neste filo, alguns organismos se sobressaem por suas aplicações em benefício humano, por exemplo, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, é um importante organismo utilizado em processos industriais de fermentação alcoólica, sendo uma das espécies mais importantes do ponto de vista econômico.

Imagem 1. Exemplos de diversidade de fungos do filo *Ascomycota*.



(A) Orbiliomycetes. (B) Pezizomycetes. (C) Lecanoromycetes. (D) Lichinomycetes. (E) Dothideomycetes. (F) Arthoniomycetes. (G) Laboulbeniomycetes. (H) Sordariomycetes. (I) Leotiomycetes. (J) Eurotiomycetes. (K) Pezizomycetes. (L) Dothideomycetes. (M) Sordariomycetes. (N) Eurotiomycetes. Fonte: Spatafora *et al.*, (2017).

Dos ascomicetos filamentosos, o gênero *Penicillium* se destaca por ser responsável pela produção de penicilina, um antibiótico que atua contra uma vasta gama de bactérias e é considerado como uma revolução no tratamento de infecções bacterianas (SANTOS, 2015). Em contrapartida, os estudos sobre os fungos ascomicetos são numerosos e críticos

dada a onipresença e a frequência com que eles atuam como patógenos humanos. Dentre os principais gêneros de fungos patogênicos inseridos no filo *Ascomycota* estão *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Sporothrix* spp., *Histoplasma* sp. e *Paracoccidioides* spp. (HEITMAN, 2011).

3.2 FUNGOS PATOGÊNICOS E INFECÇÕES ASSOCIADAS

Apesar de mais de 100 mil espécies de fungos já terem sido catalogadas, apenas algumas centenas delas são conhecidas por serem patogênicas humanas e, dentre essas, a maioria só é capaz de causar doenças em indivíduos com um fator predisponente, como a imunodeficiência (ABDOLI *et al.* 2022).

Para produzir infecção em humanos, os fungos precisam ser tolerantes a altas temperaturas (37 °C ou acima), ter capacidade de invadir o hospedeiro humano para atingir o tecido que irá parasitar, realizar lise e digestão do tecido humano e possuir estratégias de evasão imunológica (LASS-FLORL e STEIXNER, 2023). Portanto, acredita-se que a capacidade da maioria dos fungos de infectar humanos seja uma consequência da maneira como eles se adaptaram ao seu nicho ecológico e, portanto, são frequentemente considerados patógenos acidentais (BAKER *et al.* 2022).

As infecções mais relevantes do ponto de vista médico causadas pelos fungos são as micotoxicoses, ocasionadas pela ingestão de fungos produtores de substâncias tóxicas, como alcalóides e aflatoxinas, e as micoses, por sua vez ocasionadas pelo crescimento excessivo de fungos no organismo, sendo classificadas em micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas, de acordo com os tecidos que o patógeno coloniza (FERNANDES e MUÑOZ [s.d]).

3.2.1 Micoses superficiais e cutâneas

As micoses superficiais e cutâneas são caracterizadas pela infecção causada principalmente por fungos dermatófitos, filamentosos e queratinofílicos capazes de degradar a queratina de tecidos como unhas, pele e pelo. Essas infecções são muito semelhantes quanto às manifestações clínicas, que podem ser manchas de colorações variáveis, bolhas, fissuras e escamas e quanto à forma de adquiri-las, geralmente através do contato com animais ou outras pessoas infectadas (MORAES, *et al.* 2009).

Sendo assim, as micoses superficiais e cutâneas diferem entre si em relação à profundidade da infecção e a resposta imune gerada, sendo a primeira responsável por atingir a camada mais superficial da epiderme e a haste livre dos pelos, não provocando resposta inflamatória do hospedeiro e a última por atingir toda a espessura da córnea da epiderme, além da parte queratinizada intrafolicular do pelo e unha, causando muitas vezes reação inflamatória do hospedeiro (MEZZARI, 2017).

No geral, essas dermatofitoses são causadas por fungos dos gêneros *Trichophyton* spp., *Microsporum* spp. e *Epidermophyton* spp. e são classificadas de acordo com a localização em que o dermatófito desenvolve a lesão (Imagem 2) como tinea pedis (pés), tinea cruris (virilha), tinea corporis (tronco, ombros e braços), tinea unguium (unhas), tinea barbae (barba e pescoço) e tinea capitis (couro cabeludo) (SILVESTRE e QUEIROZ-FERNANDES, 2021).

Imagem 2. Exemplos de micoses superficiais e cutâneas.








A e B) *Tinea corporis*. C) *Tinea capitis*.

Fonte: Adaptado Centers for Disease Control and Prevention, 2021.

3.2.2 Micoses subcutâneas e sistêmicas

As micoses subcutâneas atingem tecidos mais profundos da pele, como a derme e a hipoderme, e são causadas por fungos sapróbios que vivem no solo e na vegetação, pela inoculação desses patógenos através de lesões por cortes e feridas, sendo por isso também chamadas também de micoses de implantação (CARRASCO-ZUBER *et al.* 2016). A classificação epidemiológica mais relevante desse tipo de micose compreende as doenças: esporotricose, lobomicose, feohifomicose, cromoblastomicose e mucormicose (PEREIRA, 2021), as quais estão representadas no quadro 1.

Quadro 1. Micoses subcutâneas mais relevantes do ponto de vista epidemiológico.

Doença	Fungo causador	Lesões características
Esporotricose	<i>Sporothrix</i> spp.	 Lesão linfocutânea causada por <i>S. brasiliensis</i> . Fonte: Fichman <i>et al.</i> , 2018.
Lobomicose	<i>Lacazia loboi</i>	 Lesão queloidiforme. Fonte: Talhari <i>et al.</i> , 2010.
Feohifomicose	<i>Exophiala</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. e <i>Wangiella</i> spp.	 Nódulo fibrótico causado por <i>Exophiala xenobiotica</i> . Fonte: Espanhol <i>et al.</i> , 2020.
Cromoblastomicose	<i>Fonsecaea</i> spp.	 Placas verrucosas causadas por <i>F. pedrosoi</i> . Fonte: Gon <i>et al.</i> , 2023.
Mucormicose	<i>Rhizopus</i> spp., <i>Rhizomucor</i> spp., <i>Mucor</i> spp., <i>Lichtheimia</i> spp., <i>Cunninghamella</i> spp.	 Necrose cutânea. Fonte: Marques <i>et al.</i> , 2010.

Fonte: Autor.

Ao referir-se às infecções fúngicas como “profundas”, alguns autores concordam que tanto as micoses subcutâneas quanto as micoses sistêmicas podem ser assim classificadas, sobretudo, porque as micoses subcutâneas podem ocasionalmente se espalhar para outros locais e causar infecção sistêmica. Porém, para diferenciar esses dois tipos de infecção, pode-se classificar as micoses sistêmicas como aquelas adquiridas por meio da inalação de esporos dos fungos (MORAES *et al.* 2009).

Na maioria dos fungos causadores de infecções sistêmicas, o hospedeiro é infectado durante a esporulação e após a inalação ocorre uma mudança morfológica do microrganismo, que passa da forma saprófita para a forma parasitária. Fungos que apresentam esta capacidade são chamados de termodimórficos. Com isso, a infecção primária associada a este tipo de fungo é pulmonar, podendo depois ser disseminada pelo corpo ocasionando lesões extrapulmonares. Essa infecção pode apresentar-se como

assintomáticas até doenças fatais, a depender do estado imunológico do paciente e da exposição do hospedeiro ao patógeno (ARENAS, 2012).

O diagnóstico das micoses sistêmicas causadoras de doença pulmonar é desafiador devido ao fato de serem clinicamente semelhantes a outras doenças pulmonares, como a tuberculose e a pneumonia, bacteriana ou viral, e pela escassez de ensaios diagnósticos padronizados. Ademais, este tipo de doença necessita geralmente de um tratamento prolongado com antifúngicos, havendo a necessidade de monitoramento frequente. Assim, fica evidente que as micoses sistêmicas representam um potencial problema de saúde pública por apresentarem, além dos fatores citados, um potencial risco de surtos (SALZER, 2018).

3.2.3 Micoses oportunistas

Por fim, as infecções fúngicas oportunistas são causadas por fungos que possuem uma capacidade de virulência inerente baixa, porém provocam doenças em hospedeiros com um sistema imune enfraquecido. Elas podem se manifestar através de infecções tanto superficiais quanto sistêmicas sendo que o segundo caso, em sua maioria, ocorre em situações de imunodeficiência do hospedeiro, estando estreitamente associada com o conceito de infecção oportunista (IDEMYOR, 2003).

Desta forma, considera-se como população de risco para o desenvolvimento de micoses oportunistas pacientes que realizaram transplantes de órgãos ou medula óssea e outros procedimentos cirúrgicos; que utilizam dispositivos protéticos; submetidos à quimioterapia, radioterapia e administração de amplo espectro de antibióticos; pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (RODRIGUES *et al.*, 2022).

Os estudos com fungos oportunistas têm se mostrado cada vez mais relevantes devido ao número crescente de infecções fúngicas, sobretudo por espécies anteriormente desconhecidas como patogênicas humanas. Como será abordado nas seções posteriores, os patógenos oportunistas de humanos provavelmente sofreram um processo de exaptação, ou seja, originalmente evoluíram para propósitos diferentes que não a infecção do hospedeiro humano, como a tolerância ao stress ambiental e a diferentes temperaturas. Porém, juntamente a essa adaptação, os fungos oportunistas ao desenvolverem a capacidade de sobreviver a 37 °C, podem desenvolver também a capacidade de prevalecer no corpo de mamíferos (GOSTINCAR *et al.*, 2018). Sendo assim, em um contexto de

mudanças climáticas e aquecimento global, é extremamente importante o monitoramento deste tipo de infecção.

Pode-se dizer ainda que os fungos são extremamente importantes em relação às infecções nosocomiais, especialmente os oportunistas. As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são definidas como aquelas adquiridas após a admissão do paciente no hospital. Elas representam um grave problema de saúde pública por aumentarem significativamente os níveis de morbidade, mortalidade e custos no cuidado aos pacientes (BRASIL, 2021). As taxas de IRAS nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) são mais acentuadas devido a aplicação de procedimentos invasivos como sondas vesicais, cateteres venosos e ventilação mecânica, além de períodos de internação prolongados e a vasta utilização antimicrobianos, por exemplo (MESQUITA *et al.*, 2023).

Além dos tratamentos invasivos mencionados anteriormente, o perfil de gravidade dos pacientes internados nas UTIs é um fator que contribui para o desenvolvimento de imunossupressão grave, favorecendo a infecção por esses agentes oportunistas (MESQUITA *et al.*, 2023). Esses organismos se destacam pela resistência e persistência em uma ampla variedade de ambientes e pelo desafio no diagnóstico, que geralmente envolve a cultura fúngica ou diagnóstico molecular, uma vez que a análise histopatológica da amostra clínica possui baixa acurácia (RODRIGUES *et al.*, 2022).

Recentemente, devido à pandemia do vírus SARS-CoV-2, têm-se adotado a terapia imunossupressora para mitigar a hiperinflamação e a síndrome da tempestade de citocinas em pacientes com COVID-19, reduzindo assim a taxa de mortalidade desses pacientes. Porém, juntamente a essa estratégia, foi observado um aumento de infecções fúngicas oportunistas em coinfeção com o SARS-CoV-2, principalmente ocasionadas por espécies de *Aspergillus* e *Candida*, além de casos de Mucormicose e Criptococose (ABDOLI *et al.*, 2022; BHOTLA *et al.*, 2021). Apesar das micoses oportunistas terem manifestações clínicas variáveis de acordo com a comorbidade do paciente, o tempo de exposição ao patógeno e a via de infecção, estima-se que a mortalidade dessas infecções chegue a 44 % em pacientes hospitalizados (RODRIGUES *et al.*, 2022).

Sendo assim, a caracterização e monitoramento dos fungos em ambientes hospitalares é uma importante medida para reduzir substancialmente as taxas de morbidade, mortalidade e os altos custos hospitalares. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a adesão a programas de prevenção e controle das IRAs reduz em cerca de 70% o número deste tipo de infecção (BRASIL, 2021). Ademais, as infecções fúngicas são de interesse especial pelo aumento da ocorrência de resistência aos

agentes antifúngicos atualmente disponíveis e utilizados na rotina médica (RUIZ e PEREIRA, 2016).

Os fungos *Candida* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. são muito comuns quando falamos sobre patógenos oportunistas e são responsáveis por causar as doenças candidíase, aspergilose e fusariose, respectivamente. Porém, outros fungos como *Penicillium* spp., *Curvularia* spp. e *Acremonium* spp. também têm se estabelecido como agentes infecciosos prevalentes em indivíduos imunocomprometidos. Com exceção do gênero *Candida* (que é geralmente um comensal no organismo de seres humanos), esses fungos são geralmente conhecidos como saprófitos ou patógenos de plantas, porém, em situações favoráveis, podem atuar como patógenos humanos (MARANHÃO *et al.*, 2019).

A espécie *Saccharomyces cerevisiae*, por exemplo, apresenta dualidade quanto à segurança e à patogenicidade oportunística, pois apesar de ser amplamente utilizada em processos fermentativos e conhecida como uma espécie não patogênica, tem sido relacionada a infecções em pacientes imunocomprometidos. Essa dualidade está associada à enorme diversidade de cepas existentes e habilidades específicas desenvolvidas para finalidades industriais, evidenciando a necessidade de atenção às atividades antropogênicas propensas a gerar estirpes fúngicas oportunistas (PÉREZ-TORRADO e QUEROL, 2015)

3.3 DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES FÚNGICAS

A visualização de estruturas fúngicas através da análise histológica em amostras de biópsias ou tecidos fixados é a principal técnica para o diagnóstico de infecções fúngicas cutâneas. No entanto, a falha no diagnóstico pode ser ocasionada pela alteração da aparência clínica das estruturas dos fungos e pela má qualidade do material fornecido para teste (HOWELL, 2023). No caso de infecções fúngicas invasivas, a cultura micológica de fluídos e a microscopia correspondem ao padrão ouro para o diagnóstico. A cultura recupera o organismo infectante, permite a avaliação de suscetibilidade a medicamentos e pode detectar múltiplos patógenos. No entanto, assim como a histologia, a especificidade desses métodos é limitada (AKINOSOGLU, 2024).

Dadas as limitações das abordagens diagnósticas tradicionais histopatológicas e baseadas em cultura, os métodos moleculares desempenham um papel importante no diagnóstico de infecções fúngicas invasivas. Testes baseados na amplificação de ácido nucleico, como ensaios de Reação de Cadeia em Polimerase (PCR) e Sequenciamento de

Nova Geração (NGS) têm sido usados para oferecer maior sensibilidade e menores tempos de resposta. Porém, ainda existem barreiras ao uso dessas técnicas, com destaque à falta de protocolos unificados para uso o clínico rotineiro (PHAM *et al.*, 2024).

Apesar do diagnóstico confirmatório de uma suspeita de infecção fúngica ser desafiador, o tratamento precoce é essencial para reduzir a mortalidade. Sendo assim, ele pode precisar ser iniciado antes de a espécie específica ter sido identificada, necessitando-se de um amplo espectro de ação dos antimicrobianos. Além disso, fatores como suspeita empírica, efeitos adversos e interações com outros tratamentos devem ser considerados (AKINOSOGLOU, 2024).

3.4 EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES FÚNGICAS

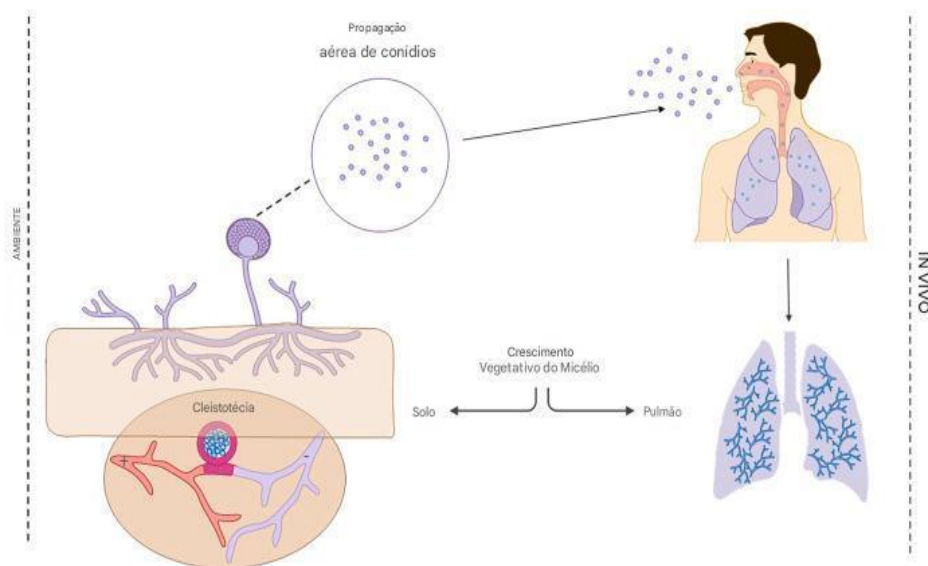
A incidência e a prevalência das espécies de fungos são variáveis entre as diferentes áreas do mundo devido às variações climáticas e outros fatores ambientais que afetam a disseminação destes microrganismos. A área tropical, que abrange a América Central e do Sul, África Equatorial, sul da Ásia, norte da Austrália e as ilhas do Caribe e Sudeste Asiático, possui características climáticas relevantes que a torna ideal para o crescimento e disseminação de diversas espécies fúngicas, como a alta umidade e altas temperaturas (CIGHIR, 2024).

No Brasil, as micoses sistêmicas não são doenças de notificação compulsória, porém, através de análises retrospectivas de casos ou estudo de isolados/linhagens de coleções de apoio à pesquisa é realizado o levantamento de prevalência dessas infecções no país. De acordo com o trabalho de Suehara e Silva (2023), no qual foi realizada uma revisão integrativa da literatura para determinar a prevalência de fungos anemófilos no Brasil, os gêneros mais prevalentes são *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. e *Fusarium* sp.

Dentre os fungos oportunistas, destaca-se o gênero *Aspergillus*, do filo *Ascomycota*. *Aspergillus* spp são causadoras da aspergilose, uma micose de relevância epidemiológica no Brasil. Esse gênero abrange centenas de espécies, sendo frequentemente identificadas como as principais responsáveis por infecções sistêmicas por fungos e que afetam aproximadamente 300.000 pessoas por ano. Essas infecções possuem uma taxa de letalidade estimada em até 50% quando tratadas ou de até 99% quando não tratadas (LASS-FLORL e STEIXNER, 2023).

A aspergilose é causada pela inalação de esporos do fungo filamentososo, comumente presente em ambientes como solo, vegetais ou matéria orgânica em decomposição, como representado na Imagem 3. Essa infecção é considerada oportunista, pois a inalação dos conídios, a forma infectante do *Aspergillus*, é bastante comum devido à abundância desses fungos no ambiente. No entanto, pessoas imunocomprometidas enfrentam um risco maior de desenvolverem problemas de saúde decorrentes desse fungo (CDC, 2022).

Imagem 3. Representação da inalação de esporos de fungos filamentosos e consequente infecção das vias aéreas.



Fonte: Adaptado de Lass-Flörl e Steixner, 2023.

A aspergilose pode se manifestar como as formas de doença: invasiva/sistêmica, pulmonares e extrapulmonares. Em relação às formas pulmonares, há o aspergiloma, a doença brônquica superficial, a alveolite alérgica extrínseca e a doença broncopulmonar alérgica. As formas extrapulmonares podem se manifestar através de sinusite, otite, endoftalmite e endocardite, por exemplo (AMORIM *et al.*, 2004). As espécies causadoras de infecções mais comuns são *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavi*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus usti* e *Aspergillus terrei* (LASS-FLÖRL e STEIXNER, 2023).

Apesar de amplamente conhecido como não patogênico de humanos e não ser classificado como destaque epidemiológico no Brasil, o gênero *Trichoderma*, tem se destacado pelo aumento de relatos de infecções humanas (SANTOS e SANTOS, 2023). Os fungos desse gênero são comumente encontrados no solo e possuem importância

biotecnológica como agentes de biocontrole e biofertilizante (SANDOVAL-DENIS *et al.*, 2014)

A espécie que causa infecções humanas com mais frequência é a *Trichoderma longibrachiatum* e a infecção ocorre através de fontes ambientais, como ar e solo, por meio de trauma penetrante ou inalação de esporos. Essas infecções causam, em casos mais graves, infecção pulmonar invasiva e infecção do sistema nervoso central (SNC) com mortalidade associada de cerca de 53% (SAL *et al.*, 2022).

Atualmente, não há diretrizes baseadas em evidências para o tratamento clínico de infecções invasivas *por Trichoderma* e os isolados normalmente apresentam concentração inibitória mínima (CIM), ou seja, a menor concentração de um agente antimicrobiano que inibe o crescimento visível do microrganismo, relativamente altos *in vitro* aos medicamentos antifúngicos. (SAL *et al.*, 2022; SANDOVAL-DENIS *et al.*, 2014).

Vale ressaltar, novamente, que as infecções sistêmicas estão intimamente relacionadas ao conceito de fungos oportunistas, uma vez que muitos fungos só conseguem estabelecer infecções profundas em indivíduos imunocomprometidos (IDEMYOR, 2003). Porém, o número de trabalhos disponíveis sobre a epidemiologia das infecções fúngicas é escasso, evidenciando a negligência em relação a essas infecções e a necessidade de um monitoramento frequente.

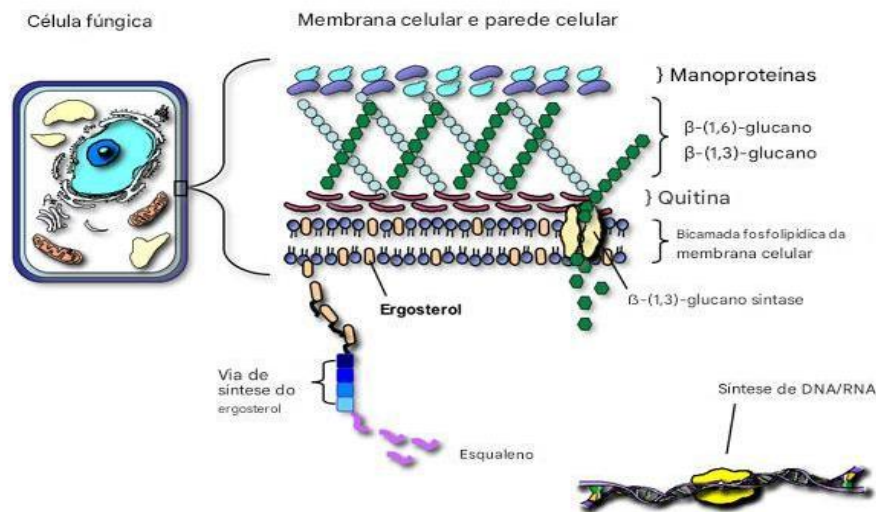
3.4 ANTIFÚNGICOS

Como foi abordado nas seções anteriores, as infecções fúngicas representam um problema de saúde global e as micoses sistêmicas, em especial, estão associadas a níveis de mortalidade significativos. Por isso, o monitoramento dessas infecções juntamente com o diagnóstico e o tratamento adequado são essenciais para evitar surtos epidemiológicos. A diversidade de compostos disponíveis para tratar infecções fúngicas é restrita, esse problema é atribuído à natureza eucariótica dos fungos e a semelhança da membrana plasmática dos fungos com a dos mamíferos, o que faz com que os antifúngicos sejam intrinsecamente difíceis de atingir seus alvos sem os efeitos tóxicos às células humanas (CARMO *et al.*, 2023).

As opções terapêuticas antifúngicas aprovadas atualmente têm como alvo principal o ergosterol na membrana celular do fungo ou o 1,3- β -D-glucano na parede celular do fungo, como ilustrado na imagem 4. Essas classes incluem os azóis (fluconazol, itraconazol, posaconazol, voriconazol e isavuconazol), as equinocandinas (casposfungina, micafungina

e anidulafungina), a flucitosina e os polienos (anfotericina B, nistatina e natamicina). Embora antifúngicos mais recentes tenham contribuído positivamente para o tratamento de pacientes com micoses invasivas, estes medicamentos são frequentemente limitados pela toxicidade, pelas interações medicamentosas e pela necessidade de administração intravenosa (WIEDERHOLD, 2018).

Imagem 4. Representação de uma célula fúngica descrevendo as principais características da membrana e da parede celular.



Fonte: Adaptado de MSG ERC, s.d.

Os antifúngicos da classe dos azóis são comumente utilizados para tratar infecções fúngicas invasivas através das vias oral ou intravenosa. Eles inibem a enzima lanosterol 14- α -esterol-desmetilase esgotando o conteúdo de ergosterol na membrana celular. Assim, a estrutura e as funções da membrana são alteradas e o crescimento do fungo é inibido. Embora os azóis sejam considerados medicamentos de primeira escolha em muitos casos clínicos, a classe apresenta uma série de problemas relevantes, como interações medicamentosas potencialmente perigosas com o sistema enzimático do citocromo P450 (responsável pelo metabolismo de fármacos, toxinas e hormônios), absorção errática, farmacocinética não linear e eventos adversos agudos (DAELE *et al.*, 2019).

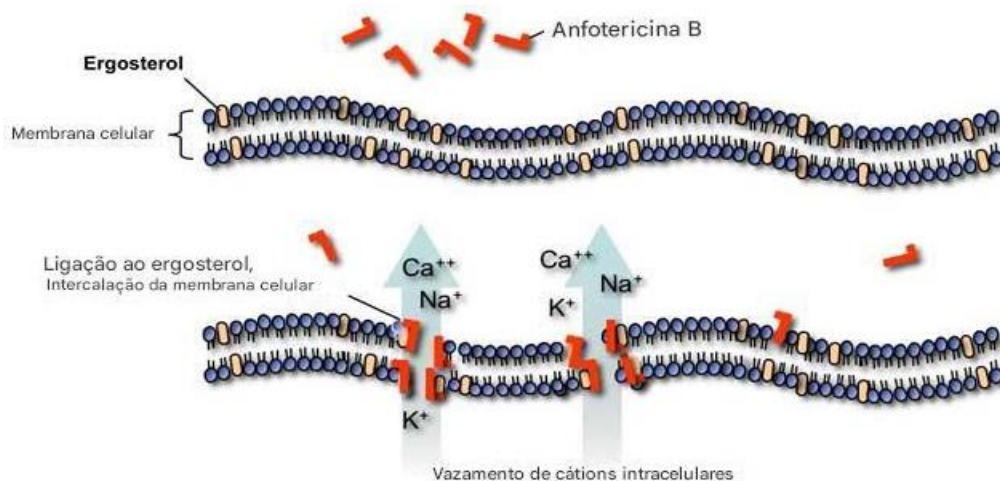
As equinocandinas inibem a 1,3- β -D-glucano sintase e, assim, interrompem a biossíntese de 1,3- β -D-glucano, um componente chave da parede celular do fungo. Isto causa a formação de uma parede celular defeituosa associada à instabilidade celular, causando lise em leveduras e crescimento irregular das hifas em fungos filamentosos (PFALLER, 2012). Essa classe apresenta poucas interações medicamentosas clinicamente

significativas e um perfil de tolerabilidade e toxicidade muito favorável. Porém, só estão disponíveis como terapia intravenosa (DAELE *et al.*, 2019).

A flucitosina está disponível em formulação oral e intravenosa e atua interferindo na síntese dos ácidos nucleicos. Esse medicamento é convertido no composto tóxico 5-fluorouracil, que interfere na síntese do DNA e RNA (PERFEITO, 2017). Além da flucitosina possuir efeitos adversos como a depressão da medula óssea, ela não é usada rotineiramente em monoterapia porque é propensa a levar ao desenvolvimento de resistência aos medicamentos, sendo então principalmente utilizada em combinação com polieno ou azóis para tratar fungos emergentes multirresistentes (DAELE *et al.*, 2019). Considera-se que a flucitosina sozinha tem atividade fungistática e combinada com a Anfotericina B, tem efeito fungicida (CARMO *et al.*, 2023).

O polieno anfotericina B (AmB) atua ligando-se ao ergosterol, resultando em aumento da permeabilidade da membrana plasmática e vazamento de componentes intracelulares, o que subsequentemente leva à morte celular. Um dos modelos mais estudados para esta ação do polieno é o de formação de poros (imagem 5), no qual os polienos e o ergosterol interagem para formar um complexo semelhante a um canal iônico que vaza íons e pequenas moléculas orgânicas da célula (CAROLUS *et al.*, 2020). No entanto, mesmo sem a formação de poros, a conexão e sequestro do ergosterol é suficiente para danificar as células devido aos múltiplos processos celulares nos quais o ergosterol está envolvido, como endocitose, fusão de vacúolos e estabilização de proteínas (CAVASSIN *et al.*, 2021).

Imagem 5. Modelo de formação de poros da interação da anfotericina B com o ergosterol.



Fonte: Adaptado de MSG ERC, s.d.

A AmB está disponível sob três formulações injetáveis: complexo lipídico (ABLC), lipossomal (L-AmB) e desoxicolato (AmBd), as quais apresentam diferenças bioquímicas e farmacocinéticas. A ausência de uma versão oral deve-se à baixa absorção pelo trato gastrointestinal (SES-DEF, 2018; CARMO *et al.*, 2023). A L-AmB age liberando o antifúngico diretamente na parede celular do fungo. O lipossomo se rompe, permitindo que a AmB atravesse a parede e se ligue ao ergosterol da membrana celular; a AmBd é uma solução coloidal onde a parte hidrofóbica se liga ao ergosterol na membrana do fungo (AKINOSOGLOU, 2024). Por outro lado, a ABLC depende de lipases fúngicas para induzir a liberação nos tecidos (CAVASSIN *et al.*, 2021).

A escolha da formulação de Anfotericina B depende da localização da infecção e da afinidade da molécula por certos órgãos. De acordo com a Secretaria de Saúde do Distrito Federal (2018), recomenda-se a AmBd preferencialmente na população neonatal; a L-AmB para infecções de sistema nervoso central e leishmaniose, e a ABLC preferencialmente em infecções pulmonares, infecção fúngica invasiva e candidíase disseminada. É importante destacar que as recomendações devem ser ajustadas de acordo com a avaliação da equipe de infectologia do local.

No tratamento precoce de infecções fúngicas invasivas, a escolha de um antifúngico eficaz e de amplo espectro é essencial, pois o patógeno geralmente é desconhecido. Devido à sua ampla cobertura antimicrobiana e potencial mínimo para interações medicamentosas, a Anfotericina B (AmB) é frequentemente recomendada (AKINOSOGLOU, 2024) e pode ser utilizada como profilaxia em pacientes neutropênicos e para o tratamento de micoses sistêmicas invasivas (ANVISA, 2018). A aplicação da terapia antifúngica combinada é amplamente aceita para maximizar o efeito antifúngico através do efeito sinérgico atacando os mesmos ou diferentes alvos nas células fúngicas (CAVASSIN *et al.*, 2021).

No entanto, assim como outras classes de antifúngicos, a AmB pode se ligar ao colesterol nas membranas celulares de mamíferos, o que pode levar à nefrotoxicidade, um efeito colateral comum associado (AKINOSOGLOU, 2024). Nesse sentido, estudos para melhorar as preparações lipídicas como veículos para novas formulações, como híbridos lipídico-polímero têm sido desenvolvidos como uma estratégia para mitigar os efeitos colaterais (CAVASSIN *et al.*, 2021).

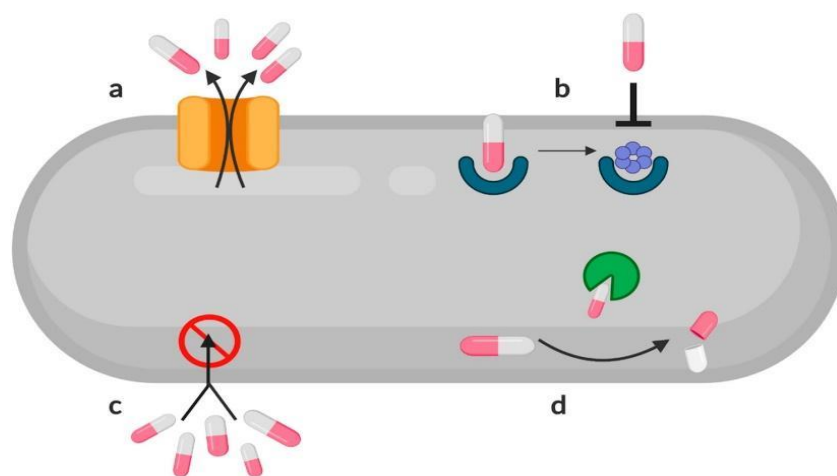
3.4.1 Resistência antifúngica

A resistência de um patógeno a um medicamento é definida pela situação em que o agente patogênico é capaz de sobreviver e se multiplicar em presença de concentrações do medicamento que normalmente seriam suficientes para suprimir ou matar a sua população. Ou seja, é a capacidade do patógeno de resistir aos efeitos do medicamento, resultando em uma possibilidade elevada de falha terapêutica (PFALLER, 2012).

A resistência dos fungos aos medicamentos antifúngicos pode ser classificada como intrínseca (primária), aquela que está naturalmente presente no fungo e está relacionada com a fisiologia do organismo, ou adquirida (secundária), a qual as espécies desenvolvem a capacidade de resistir à atividade de um agente antifúngico que anteriormente era eficaz, sendo motivada pelo uso inadequado de medicamentos antifúngicos (LASS-FLORL e STEIXNER, 2023).

A resistência natural ou adquirida de algumas espécies frente aos antifúngicos é o fator de maior importância que, juntamente com os efeitos adversos e a toxicidade de alguns fármacos, justifica a carência na produção de novas drogas, bem como o aumento na pesquisa de outros compostos com melhores perfis microbiológicos (BERTO e HERMES, 2023). Os principais mecanismos de resistência antimicrobiana são: efluxo de agentes antimicrobianos; modificação do local alvo do agente antimicrobiano; redução na permeabilidade da membrana e inativação do agente antimicrobiano, exemplificados na imagem 6.

Imagem 6. Mecanismos de resistência antimicrobiana.



- a) Efluxo de agentes antimicrobianos, b) modificação do local alvo do agente antimicrobiano, c) redução na permeabilidade da membrana e d) inativação do agente antimicrobiano.

Fonte: Alderton *et al.*, 2021.

A resistência aos agentes antifúngicos representa um problema de saúde pública devido a limitação dos tratamentos disponíveis, aumentando assim, os níveis de morbidade e mortalidade. A necessidade de testes de suscetibilidade antifúngica, portanto, é motivada pelo número crescente de infecções fúngicas invasivas, pelo uso crescente de agentes antifúngicos e pelo reconhecimento da resistência antifúngica como um importante problema clínico (PFALLER, 2012).

O teste de susceptibilidade de fungos a medicamentos antifúngicos prevê a resposta terapêutica para certas combinações organismo-medicação e é medida *in vitro* usando a concentração inibitória mínima (CIM), ou seja, a menor concentração de um agente antimicrobiano que inibe o crescimento visível do microrganismo (BERTO e HERMES, 2023).

As metodologias de referência para esses testes são do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), as quais são muito semelhantes quanto à realização e permitem a discriminação entre estirpes susceptíveis e resistentes, com base na medição da CMI. Esses testes representam uma ferramenta essencial para o norteamo da conduta clínica e para a identificação de resistência fúngica.

3.4.2 Mecanismo de resistência à Anfotericina B

Como citado anteriormente, o antifúngico poliênico anfotericina B (AmB) se liga ao ergosterol das membranas, gerando aumento da permeabilidade celular e o vazamento de componentes intracelulares, o que pode ser letal para as células fúngicas. Sendo assim, a depleção de genes envolvidos na biossíntese do ergosterol, como os genes ERG, está associada ao surgimento de organismos resistentes à AmB. No entanto, a exclusão dos genes ERG acarreta perda substancial de aptidão, como redução à tolerância a estresses oxidativos e à altas temperaturas, morte por neutrófilos e comprometimento no processo de filamentação e invasão de tecidos (COHEN, 2016).

Segundo CAVASSIN *et al.* (2021), a AmB é agente o antifúngico com o mais amplo espectro de ação e menor potencial de resistência de qualquer agente antifúngico conhecido, o que pode ser atribuído ao fato de que uma vez que a molécula pode perturbar simultaneamente todos os processos celulares que dependem do ergosterol da membrana, uma série de mutações seriam necessárias para provocar uma alteração relevante, causando assim resistência.

3.5 INFLUÊNCIA AMBIENTAL NA DINÂMICA DAS INFECÇÕES FÚNGICAS

De acordo com a Organização Meteorológica Mundial (WMO, 2025), a temperatura média global em janeiro de 2025 bateu o recorde de aumento de 1,75° C, em comparação com as temperaturas da era pré-industrial. Devido a esse aumento de temperatura, podemos observar diversas alterações ambientais como o aumento da temperatura e do nível das águas do mar, aumento nos níveis de radiação ultravioleta e de dióxido de carbono (CO₂) e redução na disponibilidade de nutrientes.

Pode-se ressaltar a mudança do clima como um fator impulsionador de alteração demográfica em função das condições locais, conduzindo à migração forçada das pessoas que vivem em regiões expostas, aumentando a conectividade global e a propagação de doenças infecciosas. As alterações demográficas também alteram as paisagens competitivas, favorecendo assim as espécies que têm flexibilidade para se adaptarem rapidamente, e expandem a gama de locais adequados para a sobrevivência de um determinado patógeno (BAKER *et al.*, 2022).

Estas mudanças além de impactarem na adaptação do comportamento humano, podem expandir as áreas nas quais os fungos conseguem sobreviver no ambiente (RHIJN e BROMLEY, 2021). Sendo assim, existe uma grande preocupação de como as alterações climáticas irão afetar a frequência, o tipo, as taxas de morbidade e mortalidade das doenças infecciosas fúngicas. Estas questões, apesar de ainda não serem bem elucidadas devido à falta de dados a longo prazo, já são apoiadas por um conjunto crescente de evidências.

Além disso, como já foi dito, um pequeno número de espécies fúngicas são capazes de sobreviver em altas temperaturas, portanto, poucos fungos são patógenos humanos. Porém, a crescente das temperaturas globais pode contribuir para a evolução dos fungos, selecionando os que têm um metabolismo mais adequado para sobreviver em ambientes mais quentes, incluindo o corpo humano. Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 2022), as alterações climáticas têm efeitos, para além do impacto ambiental e adaptação dos patógenos, diretamente na saúde humana. A poluição do ar, diminuição da qualidade da água e temperaturas extremas, por exemplo, podem ser fatores predisponentes a reduzirem a capacidade imune das pessoas, favorecendo a infecção por micoses oportunistas.

Gostincar *et al.* (2018) elucidaram o fato de que as características que conferem virulência em fungos oportunistas provavelmente evoluíram devido às pressões de seleção,

as quais promoveriam principalmente a sobrevivência do fungo no ambiente, mas como efeito colateral não intencional a essa adaptação, também permitiram o estabelecimento no hospedeiro mamífero, a chamada exaptação. Os autores também demonstraram que os patógenos humanos oportunistas se diferem em poucas características, além do crescimento a 37°C, dos parentes não patogênicos, sugerindo que os fungos termotolerantes, em geral, podem ser vistos como potenciais agentes patogênicos oportunistas.

Em relação ao aumento da distribuição de infecções fúngicas devido a alterações ambientais, um estudo realizado por Schneider, em 1997, descreveu um surto de coccidioidomicose no condado de Ventura após o terremoto de janeiro de 1994, centrado em Northridge, Califórnia, EUA, onde foram identificados 203 casos de coccidioidomicose duas semanas após o terremoto. O surto da infecção foi associado ao desastre ambiental devido a localização e ao momento dos casos, sugerindo que o surto foi causado pelo espalhamento dos esporos pelas nuvens de poeira geradas pelo terremoto. Este foi o primeiro relato de um surto de coccidioidomicose após um terremoto.

Outro estudo realizado por Fanfair *et al.*, em 2012, analisou casos de mucormicose, uma infecção fúngica causada por fungos adquiridos no ambiente, após o tornado de 22 de maio de 2011 em Joplin, Missouri, EUA. No trabalho, os pacientes analisados tinham sofrido danos graves em decorrência do tornado e, por isso, a infecção foi associada a traumas penetrantes e ao aumento de morbidade e mortalidade substanciais, evidenciando os desastres naturais como influência na ocorrência de infecções necrosantes dos tecidos moles.

Ademais, acredita-se que as alterações climáticas podem ter sido um fator determinante no surgimento do agente patogênico multirresistente *Candida auris*. Esse fungo surgiu em vários continentes ao mesmo tempo e demonstrou ter maior termotolerância em comparação com outras espécies de fungos estreitamente relacionadas, que talvez tenham evoluído em resposta ao aquecimento global (BAKER *et al.*, 2022). Esses dados inferem que ao longo dos anos têm-se acumulado evidências sobre o impacto das mudanças climáticas na incidência, distribuição e mortalidade nas doenças infecciosas, sobretudo nas infecções fúngicas.

3.6 POLUIÇÃO AMBIENTAL COMO UM FATOR PREDISPONENTE À RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA

Diversos estudos têm relatado a relevância do ambiente no surgimento e propagação de agentes patogênicos resistentes a medicamentos. De particular preocupação estão as estações de tratamento de águas residuais, que são reconhecidas como um dos principais focos para a propagação da resistência aos medicamentos devido à grande diversidade de microrganismos existentes nesses ambientes juntamente às elevadas cargas de antimicrobianos, metais pesados e outros biocidas, levando à resistência por pressão seletiva (SAMROT *et al.*, 2023).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (2023), o uso indevido e excessivo de antimicrobianos em humanos, animais e plantas são os principais impulsionadores do desenvolvimento de patógenos resistentes a medicamentos. As águas residuais municipais representam a principal fonte de produtos farmacêuticos liberados no meio ambiente pois os antimicrobianos administrados nem sempre são completamente metabolizados pelo organismo, sendo eliminados por meio da urina e das fezes, chegando assim às estações de tratamento águas residuais (KALLI *et al.*, 2023).

Os resíduos hospitalares, o descarte direto de medicamentos não utilizados e tratamento inadequado de efluentes industriais também contribuem com a prevalência desses compostos no ambiente (SAMROT *et al.*, 2023). A presença de antimicrobianos em concentrações sub-inibitórias, juntamente à diversidade das comunidades microbianas, favorece a permanência de microrganismos resistentes por meio de pressão seletiva e estimula a transferência horizontal de genes de resistência. (KALLI *et al.*, 2023).

Ademais, em um estudo desenvolvido por Caicedo-Bejarano *et al.* (2023), foi avaliada a suscetibilidade aos agentes antifúngicos fluconazol e à anfotericina B em fungos presentes em água potável e em águas residuais com a presença de metais pesados. Foi constatada a presença de uma quantidade significativamente maior de fungos nas águas residuais, com prevalência do gênero *Candida* em todas as amostras, incluindo os patógenos oportunistas *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*.

Os resultados demonstraram ainda que as águas residuais podem ter contribuído para a resistência fúngica em contraposição com as amostras de água potável, em que a resistência antifúngica foi menor. Esses resultados ressaltam a importância de monitorar a resistência antifúngica em diferentes fontes de água, especialmente em ambientes contaminados.

4 METODOLOGIA

4.1 MICRORGANISMOS

No estudo foram avaliados 27 fungos filamentosos depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos de Importância Biotecnológica e Ambiental (CCMIBA) pelo estudo de CONTRERAS (2024). Os fungos foram isolados de sedimento a partir de três pontos da região de Arroio Dourado, localizada no sudeste da cidade de Foz do Iguaçu, no estado do Paraná, utilizando-se meios enriquecidos para a seleção de degradadores de poluentes ambientais.

O arroio, representado na imagem 7, está situado no meio de uma área de agricultura intensiva e extensiva, compreendendo várias nascentes e desaguando no Rio Tamanduá. A jusante, na junção entre o Arroio Dourado e o Rio Tamanduá, há uma captação de água utilizada pela Companhia de Saneamento (SANEPAR). O Arroio Dourado também é caracterizado pelo fato de que, ao longo de seu curso recebe resíduos de diferentes culturas vegetais, bem como por lixiviados do antigo aterro não sanitário da cidade.

Imagem 7. Mapa do Arroio Dourado (Foz do Iguaçu – PR), destacando os três pontos de coleta das amostras de sedimento de onde foram isolados os fungos.



Fontes: Edunila, 2019; Programa Pedala Paraná, 2022; Google Earth.

O primeiro ponto de coleta (P1) está localizado antes do antigo lixão, influenciado pelas grandes áreas de cultivo de milho e soja e teve 12 isolados; o segundo ponto (P2), com 10 isolados, está localizado após a região do antigo lixão e com grande influência da atividade antrópica, como assentamentos, moradias ilegais e descarte de esgoto doméstico sem tratamento. O terceiro ponto de amostragem (P3) teve quatro isolados e se localiza onde o córrego se junta ao Rio Tamanduá, onde seu fluxo aumenta substancialmente.

4.2 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA

Os fungos preservados foram reativados em ágar extrato de malte 2% (MA2) e incubados a 28° C por cerca de 14 dias, para induzir a formação de esporos. Após o crescimento, os fungos esporulados foram selecionados para serem submetidos ao teste de resistência antifúngica. As cepas foram testadas com o antifúngico Anfotericina B (AmB), obtido através da empresa Merk KGaA (registro HRB 5899) em sua forma pura e sem excipientes, com potência de 750 mg/L. A metodologia para o teste de sensibilidade seguiu a metodologia de referência E.DEF. 9.4 do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2022) para fungos filamentosos, a qual inclui o cultivo das estirpes em microplacas de 96 poços e a avaliação visual da concentração mínima inibitória (CIM).

4.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO

Inicialmente, foram preparadas soluções de estoque de AmB, a partir das quais foram obtidas as soluções de trabalho. Assim, para o preparo da solução de estoque de AmB, foram pesados 21,3 mg do antifúngico em balança analítica, diluídos em 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) em um tubo tipo Falcon e homogeneizados com agitador giratório, para obtenção da concentração de 1.600 mg/L. Foram testadas três concentrações do antifúngico: 0,016 mg/L, 1 mg/L e 8 mg/L, portanto, a partir da solução de estoque de AmB, foram preparadas as soluções de trabalho conforme a tabela 1 de diluição da metodologia EUCAST E.DEF. 9.4 (2022):

Tabela 1. Esquema de preparação das diluições dos antifúngicos com concentração final de 0,016 a 16 mg/L.

Etapa	Concentração (mg/L)	Fonte	Volume do antifúngico (µL)	Volume do solvente (µL)	Concentração intermediária (mg/L)	Concentração (mg/L) após diluição 1:100 com meio RPMI 2% G (2x concentrado)
1	1.600	Estoque	200	0	1.600	16
2	1.600	Estoque	100	100	800	8
3	1.600	Estoque	50	150	400	4
4	1.600	Estoque	50	350	200	2
5	200	Etapa 4	100	100	100	1
6	200	Etapa 4	50	150	50	0,5
7	200	Etapa 4	50	350	25	0,25
8	25	Etapa 7	100	100	12,5	0,125
9	25	Etapa 7	50	150	6,25	0,06
10	25	Etapa 7	50	350	3,125	0,03
11	3,125	Etapa 10	100	100	1,562	0,016

Fonte: EUCAST – Documento Definitivo E.DEF. 9.4 (2022).

O meio Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) é um meio sintético rico em aminoácidos, vitaminas e sais inorgânico que permite a criação de um ambiente *in vitro* semelhante ao que ocorre em fluidos corporais humanos durante infecções fúngicas (VAHEDI-SHAHANDASHTI *et al.*, 2023). Sendo assim, o EUCAST (2022) recomenda o uso do RPMI como meio base para avaliar a eficácia do medicamento contra isolados fúngicos devido ao alto nível de concordância interlaboratorial.

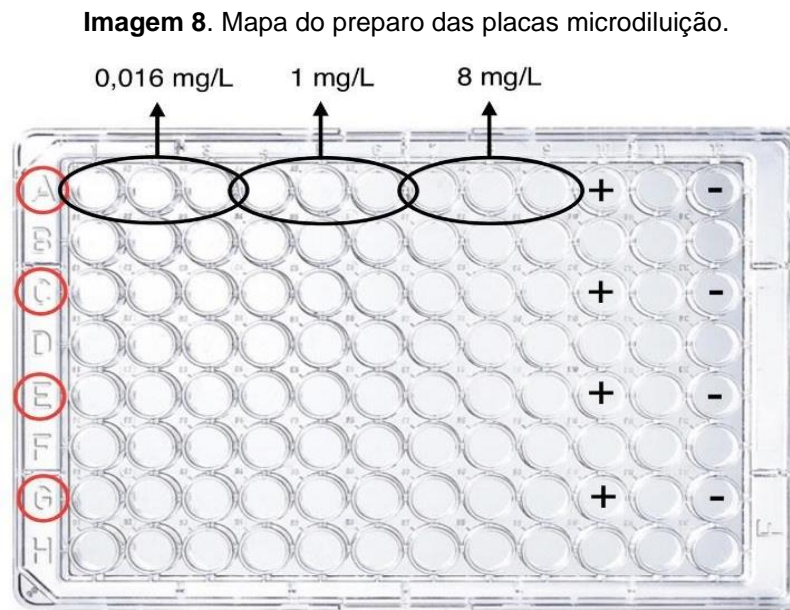
Dessa forma, ao obter as concentrações intermediárias de 1,562 mg/L, 100 e 800 mg/L, foram retirados 100 µL de cada tubo e transferidos para tubos com 9,9 mL do meio de cultura RPMI 1640 suplementado com 2% de glicose (com L-glutamina e indicador de pH e sem bicarbonato), correspondendo a diluição 1:100. A partir dessas diluições, foram obtidas as concentrações finais de 0,016 mg/L, 1 mg/L e 8 mg/L de antifúngico em meio de cultura.

4.4 PREPARO DOS INÓCULOS

Cada placa de fungo foi coberta com 5 mL de água destilada estéril e 5 µL de Tween 20 e raspada com uma alça de inoculação descartável. As suspensões foram transferidas para tubos tipo Falcon estéril, com auxílio de pipeta Pasteur estéril. Posteriormente, foram realizadas diluições de 1:100 da suspensão de esporos em água destilada estéril, para a padronização de 2,5 - 10 x 10⁵ esporos/mL, a qual foi monitorada através da contagem de esporos em câmara de Neubauer.

4.5 PREPARO DAS PLACAS DE MICRODILUIÇÃO

Ante à obtenção do inóculo, iniciou-se a montagem das microplacas. Cada microplaca foi utilizada para o cultivo de quatro fungos, submetidos ao teste de resistência com a AmB. Para isso, as linhas A, C, E e G da microplaca de 96 poços corresponderam cada uma a um fungo testado, pulando-se uma linha entre elas a fim de evitar contaminação, como demonstrado na imagem 8.



Fonte: autora.

As concentrações de antifúngico testadas foram realizadas em triplicata, sendo os poços das colunas 1, 2 e 3 referentes à concentração 0,016 mg/L; os das colunas 4,5 e 6 à concentração 1 mg/L e os das colunas 7,8 e 9 referentes à concentração 8 mg/L, em todas as linhas. Sendo assim, cada um desses poços foi inoculado com 100 uL de meio de cultura com antifúngico em suas respectivas concentrações e com 100 uL das suspensões do inóculo.

O poço da coluna 10 de cada linha correspondeu ao controle positivo do teste, o qual continha 100 uL da suspensão do inóculo mais 100 uL de meio de cultura livre de antifúngico. Em contrapartida, o poço da coluna 12 de cada linha correspondeu ao controle negativo do teste, contendo apenas o meio de cultura com antifúngico, na concentração de 8 mg/L. Após o preparo das microplacas, elas foram incubadas em estufa a 28° C por 24-48h.

4.6 LEITURA DOS RESULTADOS

As placas incubadas foram avaliadas visualmente, comparando-se o crescimento fúngico de cada poço com as concentrações de antifúngico, em relação aos controles de crescimento positivo e negativo, de acordo com o documento E.DEF. 9.4 (EUCAST, 2022). Cada poço teste foi classificado de acordo com a redução de crescimento em comparação com o controle positivo e classificados em: opticamente claro ou 100% da redução do crescimento; aproximadamente 75% de redução do crescimento; aproximadamente 50% de redução do crescimento; aproximadamente 25% de redução do crescimento e nenhuma redução do crescimento (0%). Os poços da coluna 10 (controle positivo) e os poços da coluna 12 (controle negativo), serviram de referências para as classificações nenhuma redução do crescimento e 100% da redução do crescimento, respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria dos fungos testados mostrou resistência total ou parcial nas concentrações mais baixas de Anfotericina B (0,016 mg/L e 1 mg/L), com suscetibilidade significativa geralmente observada apenas na concentração mais alta (8 mg/L). Esses resultados sugerem que, para a maioria dos fungos, é necessária uma concentração elevada de Anfotericina B para exercer uma ação antifúngica eficaz, indicando uma resistência relativamente alta a doses menores do antifúngico. Sendo assim, a concentração de 8 mg/L se mostrou a mais eficaz como Concentração Inibitória Mínima (CIM) para as amostras, conforme pode ser observado na tabela 2.

Tabela 2. Redução visual do crescimento dos fungos isolados do Arroio Dourado (Foz do Iguaçu – PR) em relação às concentrações 0,016, 1 e 8 mg/L do antifúngico Anfotericina B (AmB).

■ Resistência alta (RA) ■ Resistência média (RM) ■ Resistência baixa (RB)

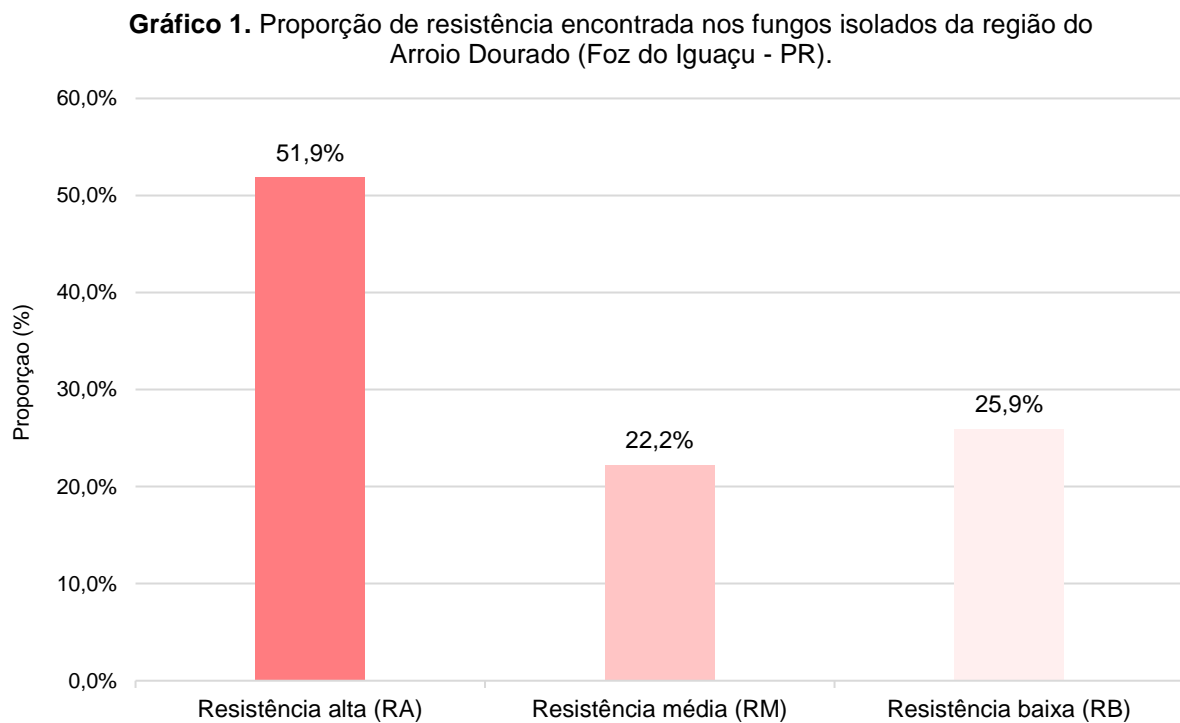
Fungo	ID CCMIBA	Ponto de coleta	Redução do crescimento em relação ao poço controle		
			0,016 mg/L	1 mg/L	8 mg/L
<i>Trichoderma</i> sp.	201	1	25%	50%	75%
<i>Trichoderma</i> sp.	202	3	0%	50%	75%
<i>Trichoderma</i> sp.	203	2	0%	50%	100%
<i>Epicoccum</i> sp.	204	2	0%	25%	100%

<i>Trichoderma</i> sp.	206	1	25%	25%	75%
<i>Trichoderma</i> sp.	207	2	0%	25%	75%
<i>Trichoderma</i> sp.	208	2	25%	25%	100%
NI	214	3	0%	50%	75%
NI	218	1	0%	75%	100%
NI	221	1	0%	75%	75%
NI	222	1	25%	50%	100%
<i>Aspergillus</i> sp.	223	2	25%	25%	100%
<i>Clonostachys</i> sp.	224	3	0%	0%	75%
<i>Clonostachys</i> sp.	225	2	0%	0%	100%
<i>Penicillium</i> sp.	226	1	25%	50%	75%
NI	229	3	25%	50%	100%
<i>Talaromyces</i> sp.	230	2	0%	50%	100%
Pleosporales (ordem)	231	1	25%	50%	75%
NI	234	2	0%	0%	75%
<i>Aspergillus</i> sp.	236	1	0%	0%	100%
<i>Geotrichum</i> sp.	238	2	0%	0%	0%
<i>Penicillium</i> sp.	239	2	0%	75%	100%
NI	241	1	0%	0%	25%
NI	242	1	0%	25%	50%
<i>Aspergillus</i> sp.	243	1	-	50%	100%
<i>Aspergillus</i> sp.	244	2	0%	0%	75%
<i>Penicillium</i> sp.	245	1	0%	25%	100%

Fonte: autora.

A alta resistência à Anfotericina B foi observada em 14 fungos, classificados como altamente resistentes devido ao crescimento de 25% ou mais, em relação aos controles utilizados, na concentração de 8 mg/L. Isso indica que, mesmo na concentração de 8 mg/L, o antifúngico reduziu entre 0 a 75%, conforme tabela 2, do crescimento desses isolados. Desses, sete fungos foram isolados do ponto de coleta 1 (201, 206, 221, 226, 231, 241 e 242), quatro foram isolados do ponto de coleta 2 (207, 234, 238 e 244) e três fungos isolados do ponto de coleta 3 (202, 214 e 224).

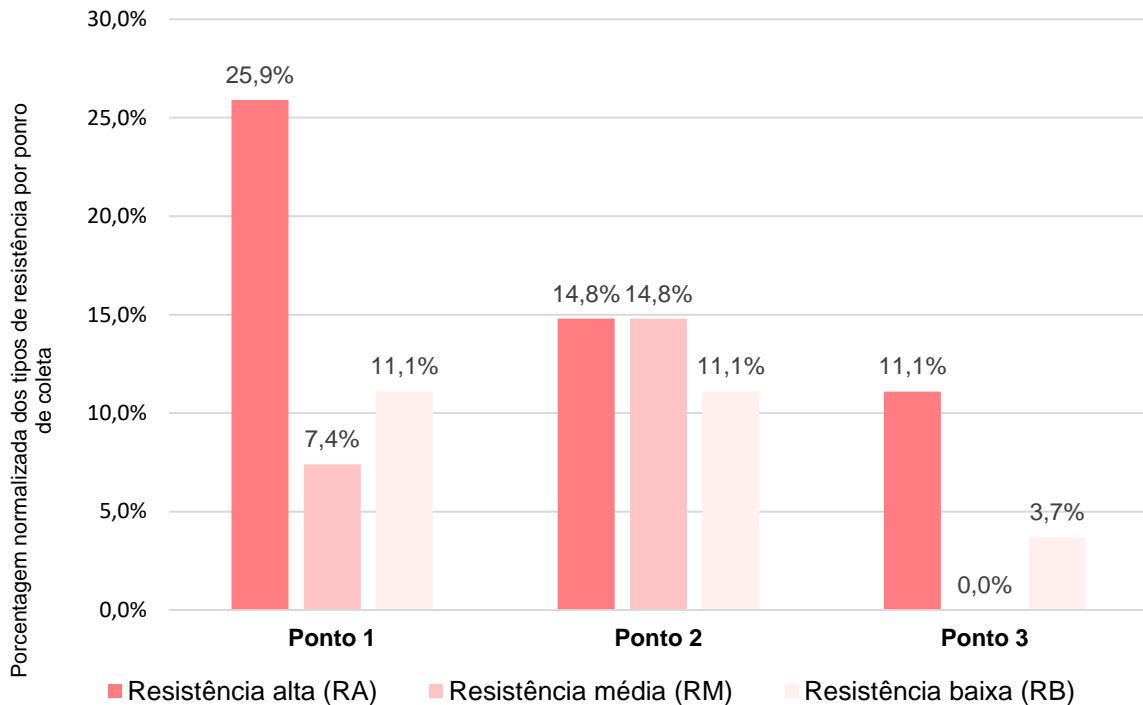
A moderada resistência foi observada em seis fungos, os quais apresentaram altos níveis de resistência (redução do crescimento em até 25%) nas concentrações de 0,016 mg/L e 1 mg/L, mas total susceptibilidade à concentração de 8 mg/L. Desses, dois foram isolados do ponto de coleta 1 (236 e 245), quatro isolados do ponto de coleta 2 (204, 208, 223 e 225) e nenhum do ponto de coleta 3. Por fim, os fungos classificados com baixa resistência foram sete no total, com crescimento reduzido de 50% ou mais a 1 mg/L e total susceptibilidade à concentração de 8 mg/L. Desses fungos, três foram isolados do ponto de coleta 1 (218, 222 e 243), três do ponto de coleta 2 (203, 230 e 239) e um fungo isolado do ponto de coleta 3 (229). A proporção dos fungos testados em relação à resistência está representada no gráfico 1.



Fonte: autora.

Foi realizada a co-relação entre os tipos de resistência encontrados entre os isolados e os respectivos pontos de coleta (gráfico 2). O ponto 1, localizado antes do antigo lixão e influenciado por grandes áreas de cultivo de milho e soja, apresentou a maior contribuição para resistência alta (RA), com 25,9% do total; teve 7,4% de resistência média (RM) e 11,1% de resistência baixa (RB). A alta proporção de resistência alta encontrada nesse ponto pode estar relacionada à carga de pesticidas encontrada nesse ambiente (Kalli *et al.* 2023).

Gráfico 2. Contribuição dos tipos de resistência dos fungos isolados da região do Arroio Dourado (Foz do Iguaçu - PR) em função dos pontos de coleta.



Fonte: autora.

Estima-se que os resíduos de pesticidas equivalem a um terço da massa total de pesticidas aplicada, sendo o excedente despejado nos recursos ambientais e utilizado pelos microrganismos como fontes de carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre para o crescimento (RAMAKRISHNAN, 2019). Segundo Kalli *et al.* (2023), além do aumento da carga microbiana na presença de grandes quantidades de nutrientes, a transferência de genes de resistência é aumentada nessas condições, o que pode ser explicado pelas altas taxas de divisão celular e, conseqüentemente, a probabilidade de mutações e recombinações genéticas

Além disso, devido às semelhanças nas respostas microbianas de adaptação às pressões de seleção de pesticidas e substâncias antimicrobianas, os microrganismos que sobrevivem em ambientes contaminados com pesticidas têm maiores chances de possuir resistência antimicrobiana como uma característica funcional excedente (RAMAKRISHNAN, 2019).

O ponto 2, situado após o antigo lixão e influenciado por assentamentos humanos e descarte de esgoto doméstico sem tratamento, apresentou a mesma proporção entre resistência alta (RA) e resistência média (14,8%), sendo o ponto com a segunda maior

contribuição para RA. Em relação à resistência baixa (RB), esse ponto contribuiu com 11,1%. As águas residuais municipais são a principal fonte de produtos farmacêuticos e outros estressores químicos, que entram no meio ambiente devido ao tratamento inadequado ou descarte incorreto (SAMROT *et al.*, 2023). A presença de resíduos de antimicrobianos juntamente às complexas comunidades microbianas propicia o desenvolvimento de microrganismos resistentes e a promoção da transferência horizontal de genes resistentes (KALLI *et al.*, 2023).

O equilíbrio entre os tipos de resistência encontrados nesse ponto pode indicar que, embora o descarte de resíduos orgânicos e contaminantes como medicamentos e produtos químicos influencie a dinâmica microbiana, ele não promove um predomínio claro de fungos altamente resistentes ou pouco resistentes, uma vez que as concentrações e os tipos de químicos presentes nas estações de tratamento de águas residuais dependem dos produtos usados na indústria ou pelo consumidor (SAMROT *et al.*, 2023).

O ponto 3, localizado onde o córrego se junta ao Rio Tamanduá e o fluxo de água aumenta substancialmente, apesar do menor número de isolados, contribuiu com 11,1% para a resistência alta (RA), não apresentou resistência média (RM) e teve uma baixa contribuição para resistência baixa (RB) (3,7%). Apesar da maior diluição de contaminantes devido ao aumento do fluxo de água, é possível que o impacto cumulativo das condições observadas nos pontos anteriores tenha contribuído para a presença predominante de fungos mais resistentes nesse local, porém, é importante destacar que o número reduzido de isolados pode impactar na baixa diversidade de resistência.

Em relação aos gêneros/ grupos testados, representados na tabela 3, os isolados não identificados (NI) apresentaram a maior proporção de resistência alta (RA), correspondendo a 18,5% do total, seguidos pelo gênero *Trichoderma* com 14,8%. Isso sugere que os fungos ainda não identificados podem incluir espécies com mecanismos avançados de resistência, o que reforça a necessidade de uma caracterização mais aprofundada. Já o alto nível de resistência encontrado no gênero *Trichoderma* pode estar atribuído à versatilidade metabólica e à presença de transportadores que conferem resistência a compostos tóxicos, evidenciado pelo seu papel como agente de biocontrole (DUTTA *et al.*, 2023).

Tabela 3. Proporção normalizada dos tipos de resistência (alta, média e baixa) encontrados entre os gêneros/grupo de fungos isolados da região do Arroio Dourado (Foz do Iguaçu - PR).

Gênero/ grupo	Isolados	Resistência alta	Resistência média	Resistência baixa	Total
NI	8	5 (18,5%)	0 (0%)	3 (11,1%)	29,6%
<i>Trichoderma</i>	6	4 (14,8%)	1 (3,7%)	1 (3,7%)	22,2%
<i>Aspergillus</i>	4	1 (3,7%)	2 (7,4%)	1 (3,7%)	14,8%
<i>Penicillium</i>	3	1 (3,7%)	1 (3,7%)	1 (3,7%)	11,1%
<i>Clonostachys</i>	2	1 (3,7%)	1 (3,7%)	0 (0%)	7,4%
<i>Geotrichum</i>	1	1 (3,7%)	0 (0%)	0 (0%)	3,7%
Pleosporales (ordem)	1	1 (3,7%)	0 (0%)	0 (0%)	3,7%
<i>Epicoccum</i>	1	0 (0%)	1 (3,7%)	0 (0%)	3,7%
<i>Talaromyces</i>	1	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,7%)	3,7%
Total	27	14 (51,9%)	6 (22,2%)	7 (25,9%)	100%

Fonte: autora.

Cerca de 90% dos agentes de biocontrole fúngico contra microrganismos patogênicos pertencem a diferentes cepas de *Trichoderma* (SOOD *et al.*, 2020). Os principais mecanismos associados a essa característica são: secreção de enzimas degradadoras da parede celular como quitinases, glucanases e proteases e secreção de metabólitos secundários com atividade antimicrobiana de amplo espectro que atuam como inibidor metabólico de vias transcricionais (DUTTA *et al.*, 2023).

Outra característica relevante em *Trichoderma* spp., é alta quantidade de transportadores de cassetes de ligação de ATP (transportadores ABC), responsáveis pelo transporte de diversos substratos através da membrana celular (DUTTA *et al.*, 2023). Como citado anteriormente, um dos mecanismos de resistência antimicrobiana é o efluxo dos agentes antimicrobianos, sendo uma das principais famílias de proteínas de efluxo os transportadores ABC, que atuam removendo os compostos tóxicos das células (CANNON *et al.*, 2009).

Além disso, de acordo com o trabalho de WINSK *et al.* (2022), os transportadores PDR6, do tipo ABC, estão relacionados ao tráfego de ergosterol para a membrana celular e a deleção desses transportadores pode resultar na resistência antifúngica a antifúngicos que utilizam o ergosterol para exercer sua atividade. Isso pode ocorrer em fungos que tiverem transportadores de substratos compensatórios para que a deleção de PDR6 não impacte drasticamente sua viabilidade.

O gênero *Aspergillus* apresentou uma distribuição equilibrada entre os diferentes níveis de resistência, com proporções semelhantes de resistência alta, média e baixa (3,7%, 7,4% e 3,7%, respectivamente). Apesar desse equilíbrio, *Aspergillus* spp. são conhecidas pela resistência ao AmB. A espécie *A. fumigatus* possui capacidade de adquirir resistência à AmB de forma eficiente, enquanto em outras espécies, como *A. flavus*, *A. terreus* e *Aspergillus lentulus*, a resistência intrínseca à AmB é bem reconhecida (CAROLUS *et al.*, 2020). Em 2024 a OMS classificou o *A. fumigatus* como prioridade crítica para ação contra resistência antimicrobiana. Essa categoria engloba os patógenos de maior nível de ameaça à saúde pública devido às limitadas opções de tratamento, altas taxas de mortalidade e morbidade, difícil prevenção, alta transmissão e tendências globais na aquisição de resistência (WHO, 2024).

O gênero *Geotrichum*, apesar de ter tido apenas um isolado, do ponto 2, se destacou por não ter apresentado redução do crescimento em nenhuma das concentrações testadas, indicando a necessidade de uma concentração mais elevada de Anfotericina B para exercer a ação antifúngica. *Geotrichum* é um gênero de fungos saprófitos encontrados no solo, frutas, laticínios e vegetais; também é um comensal que coloniza a pele, o trato digestivo e o trato respiratório dos humanos. No entanto, também é um patógeno oportunista emergente que, embora raro, tem altas taxas de mortalidade, sendo o *Geotrichum candidum* o patógeno mais comum (TURDA, 2013; ROMÁN-MONTEZ *et al.*, 2024).

A doença causada por *Geotrichum* spp. varia de micoses de pele à infecção disseminada. A forma cutânea da doença pode causar lesões superficiais e profundas do tecido e a geotricose sistêmica se manifesta comumente como uma infecção focal, como endocardite, meningite, osteomielite e doença pulmonar (TSHISEVHE *et al.*, 2021). Román-Montez *et al.*, (2024) e GAO *et al.* (2015) destacam que tanto as formas cutâneas quanto a forma sistêmica da infecção por *Geotrichum* possuem diagnóstico etiológico difícil, uma vez que são clinicamente semelhantes às infecções por *Candida* e *Aspergillus*. Sendo assim, os resultados obtidos neste estudo ressaltam a importância da caracterização da espécie do isolado, bem como a realização de estudos sobre sua resistência a outros antifúngicos e informações relacionadas à sua patogenicidade.

8 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que mais da metade dos fungos testados (51,9%) apresentaram alta resistência à Anfotericina B, o que representa uma preocupação devido ao fato de que este antimicrobiano é utilizado para o tratamento de infecções fúngicas invasivas quando o diagnóstico confirmatório do espécime ainda não foi realizado. A terapia empírica é uma abordagem utilizada a fim de reduzir os níveis de mortalidade, uma vez que o atraso no tratamento pode agravar o quadro dos pacientes, especialmente no caso dos imunocomprometidos, e a escolha desse antimicrobiano deve-se à ampla atividade antifúngica e do baixo potencial de interação medicamentosa associada (AKINOSOGLOU, 2024).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (2025), quase metade da população tem acesso limitado ou nenhum acesso a diagnósticos e apenas 19% das pessoas de países de baixa e média renda têm acesso a testes diagnósticos na atenção primária para orientar prescrições. Apesar da terapia empírica mitigar as taxas de mortalidades associadas ao tratamento tardio, incertezas diagnósticas resultam em prescrições de antimicrobianos que podem não ser necessários, o que impulsiona a resistência antimicrobiana (RAM). Essa problemática destaca a necessidade de diagnósticos amplamente acessíveis e confiáveis.

Em relação à influência dos pontos de coleta impactados por atividades antrópicas e a proporção de resistência entre os fungos testados, apesar de a presença de estressores ambientais (como pesticidas e antimicrobianos) nesses pontos não necessariamente terem relação direta com os resultados observados, o trabalho evidenciou a capacidade de sobrevivência e adaptação dos fungos frente às pressões ambientais. Esse cenário ressalta a importância de desenvolver práticas mais sustentáveis.

Nesse contexto, a abordagem One Health, da Organização Mundial da Saúde, reconhece a interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental e destaca a necessidade de uma abordagem integrada para combater a RAM, uma vez que ela é um reflexo da interconexão e diversidade da vida no planeta. A proteção dos habitats e a implementação de práticas seguras de saneamento e gestão de resíduos são essenciais para reduzir a pressão seletiva e prevenir infecções por organismos resistentes, contribuindo para a diminuição do uso de antimicrobianos e o controle da RAM (WHO, 2025).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLI, Amir; FALAHI, Shahab e KENARKOOHI, Azra. COVID-19-associated opportunistic infections: a snapshot on the current reports. *Clinical and Experimental Medicine*, 2022.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Informações técnicas sobre a Anfotericina B injetável. Brasil, 2018.

ALDERTON, Izzie *et al.* The role of emerging organic contaminants in the development of antimicrobial resistance. *Emerging Contaminants*, vol. 7, pags. 160-171, 2021.

AMORIM, Daniela *et al.* Infecções por *Aspergillus* spp: aspectos gerais. *Pulmão RJ*, vol. 13, no. 2, 2004.

ARENAS, Roberto; MORENO-COUTIÑO, Gabriela e WELSH, Oliverio. Classification of subcutaneous and systemic mycoses. *Clinics in Dermatology*, vol. 30, no. 4, pags. 369-371, 2012.

AKINOSOGLOU, Karolina *et al.*, Amphotericin B in the Era of New Antifungals: Where Will It Stand? *Journal of Fungi*, vol. 10, no. 278, 2024.

BAKER, Rachel *et al.* Infectious disease in an era of global change. *Nature Reviews Microbiology*, vol. 20, pags. 193–205, 2022.

BERTO, Caroline e HERMES, Djuli. Bases da resistência antifúngica: uma revisão comentada. *Ciências biológicas e da saúde: integrando saberes em diferentes contextos*, vol. 3, pags. 54-72, 2023.

BHOTLA, Haripriya *et al.* Opportunistic mycoses in COVID-19 patients/survivors: Epidemic inside a pandemic. *Journal of Infection and Public Health*, vol. 14, no. 11, pags. 1720-1726, 2021.

CAICEDO-BEJARANO, Luz Dary *et al.* Water Quality, Heavy Metals, and Antifungal Susceptibility to Fluconazole of Yeasts from Water Systems. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 20, no. 4, 2023.

CANNON, Richard *et al.* Efflux-Mediated Antifungal Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 22, no. 2, pags. 291–321, 2009.

CARMO, Anália *et al.* Antifungals: From Pharmacokinetics to Clinical Practice. *Antibiotics*, vol. 12, no. 5, 2023.

CAROLUS, Hans *et al.* Amphotericin B and Other Polyenes—Discovery, Clinical Use, Mode of Action and Drug Resistance. *Journal of Fungi*, vol. 6, no. 321, 2020.

CARRASCO-ZUBER, E. *et al.* Cutaneous Involvement in the Deep Mycoses: A Literature Review. Part I - Subcutaneous Mycoses. *Actas Dermo-Sifilográficas*, vol. 107, no. 10, pags. 806-815, 2016.

CAVASSIN, Francelise *et al.* Sixty years of Amphotericin B: An Overview of the Main Antifungal Agent Used to Treat Invasive Fungal Infections. *Infectious Diseases and Therapy*, vol. 10, pags. 115–147, 2021.

Centers for Disease Control and Prevention. Aspergillosis. 2022. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/aspergillosis/index.html>>. Acesso em: 22 de abril de 2024.

Centers for Disease Control and Prevention. Climate Effects on Health. 2022. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/climateandhealth/effects/default.htm>>. Acesso em 14 de abril de 2022.

CIGHIR, Anca *et al.* View of Invasive fungal pathogens from the tropical and temperate areas – a challenge in pathology and diagnosis. *The Journal of Infection in Developing Countries*, vol. 18, pags. 1-13, 2024.

COHEN, Eleazar B. The Role of Signaling via Aqueous Pore Formation in Resistance Responses to Amphotericin B. *ASM Journals / Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 60, no. 9, 2016.

CONTRERAS, Angie. Desenvolvimento de uma metodologia empregando quechers e HPLC para a avaliação do potencial de biodegradação de la atrazina por hongos filamentosos. Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA). 2024.

DAELE, Ruth Van *et al.* Antifungal drugs: What brings the future? *Medical Mycology*, vol. 57, no. 3, pags. S328–S343, 2019.

DUTTA, Pranab *et al.* Molecular interaction between plants and *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogens. *Frontiers in Plant Science*, vol. 14, 2023.

ESPANHOL, Clarissa *et al.* Cutaneous phaeohyphomycosis caused by *Exophiala xenobiotica*: A case report. *Medical Mycology Case Reports*, vol. 27, pags. 39-41, 2020.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Documento Definitivo E.DEF. 9.4 - Método para determinação de concentração inibitória mínima em caldo dos agentes antifúngicos para fungos filamentosos formadores de conídios. 2022. Disponível em: <<https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/08/BrCAST-EUCAS-T-E-Def-94-CIM-filamentoso-2022.pdf>>. Acesso em: 08 de março de 2025.

FAJARDO, Aline *et al.* Estudo epidemiológico das infecções fúngicas superficiais em Itajaí, Santa Catarina. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, vol. 49, no. 4, 2017.

FANFAIR, Robyn *et al.* Necrotizing Cutaneous Mucormycosis after a Tornado in Joplin, Missouri, in 2011. *The New England Journal of Medicine*, vol. 367, pags. 2214-2225, 2012.

FERNANDES, Ana Paula e MUÑOZ, Susana. Principais doenças infecciosas causadas por fungos. Principais doenças infecciosas e parasitárias e seus condicionantes em populações humanas, módulo 5, pags. 115-129.

FICHMAN, Vivian *et al.* Cryosurgery for the treatment of cutaneous sporotrichosis in four pregnant women. *Plos Neglected Tropical Diseases*, vol. 12, no. 4, 2018.

GAO, Guang-Xun *et al.* Invasive fungal infection caused by *geotrichum capitatum* in patients with acute lymphoblastic leukemia: a case study and literature review. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, vol. 8, no. 8, pags.14228-14235, 2015.

GON, Talira; GON, Trícia e GON, Airton. Tratamento bem-sucedido da cromoblastomicose pela associação entre criocirurgia e itraconazol em dose baixa. *Surgical and Cosmetic Dermatology*, vol. 15, 2023.

GOSTINCAR, Cene *et al.* Fungi between extremotolerance and opportunistic pathogenicity on humans. *Fungal Diversity*, vol. 93, pags. 195–213, 2018.

HAWKSWORTH, David L. e LUCKING, Robert. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum*, vol. 5, no. 4, 2017.

HEITMAN, Joseph. Microbial pathogens in the fungal kingdom. *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 25, no. 1, pags. 48-60, 2011.

HOWELL, S. A. Dermatopathology and the Diagnosis of Fungal Infections. *British Journal of Biomedical Science*, vol. 80, no. 11314, 2023.

IDEMYOR, Vincent. Emerging opportunistic fungal infections: where are heading? *Journal Of the National Medical Association*, vol. 95, no. 12, pags. 1211-1215, 2003.

Index Fungorum. Disponível em: <<https://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>>. Acesso em: 17 de março de 2025.

KALLI, Maria; CONSTANTINUS, Noutsopoulos e MAMAIS, Daniel. The Fate and Occurrence of Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes during Advanced Wastewater Treatment and Disinfection: A Review. *Water*, vol. 15, no. 2084, 2023.

LASS-FLORL, Cornelia e STEIXNER, Stephan. The changing epidemiology of fungal infections. *Molecular Aspects of Medicine*, vol. 94, 2023.

MARANHÃO, Fernanda *et al.* Mycoses in northeastern Brazil: epidemiology and prevalence of fungal species in 8 years of retrospective analysis in Alagoas. *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 50, no. 4, pags. 969–978, 2019.

MERÉNYI, Zsolt *et al.* Genomes of fungi and relatives reveal delayed loss of ancestral gene families and evolution of key fungal traits. *Nature Ecology & Evolution*, vol. 7, pags. 1221–1231, 2023.

MARQUES, Silvio *et al.* Mucormicose: infecção oportunistica grave em paciente imunossuprimido. Relato de caso. *Diagn Tratamento*, vol. 15, no. 2, pags. 64-8, 2010.

MESQUITA, Amanda *et al.* Infecção relacionada à assistência à saúde em Unidade de Terapia Intensiva. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, vol. 23, no. 8, 2023.

MEZZARI, Adelina *et al.* Prevalência de Micose Superficiais e Cutâneas em Pacientes Atendidos Numa Atividade de Extensão Universitária. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, vol. 21, no. 2, pags. 151-156, 2017.

MORAES, Aurea; PAES, Rodrigo e HOLANDA, Verônica. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. *Repositório Institucional da Fundação Oswaldo Cruz*, vol. 4, cap. 4, pags. 400-496, 2009.

MSG ERC. Antifungal Pharmacology. Disponível em: <<https://drfungus.org/knowledge-base/antifungal-pharmacology/>>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2025.

OHNISHI, Yumi *et al.* Doenças fúngicas sistêmicas em pacientes internados em um hospital público de referência em Belém, estado do Pará, Amazônia brasileira. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, vol. 13, 2022.

OLIVEIRA, Amauri de; STARCK, Édina e OLIVEIRA, Gabriela Gonçalves de. Doenças causadas por fungos. Editora UFFS, pags. 321-336, 2021.

PEREIRA, Gabriella. Ocorrência das infecções fúngicas subcutâneas em pacientes atendidos no laboratório de micologia médica do centro de pesquisa em medicina tropical. *Brazilian Journal of Development*, vol. 7, no. 12, pags. 121016-121029, 2021.

PÉREZ-TORRADO, Roberto e QUEROL, Amparo. Opportunistic Strains of *Saccharomyces cerevisiae*: A Potential Risk Sold in Food Products. *Frontiers in Microbiology*, vol. 6, 2015.

PERFEITO, João. The antifungal pipeline: a reality check. *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 16, pags. 603–616, 2017.

PFALLER, Michael. Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *The American Journal of Medicine*, vol. 125, no. 1, pags. S3-S13, 2012.

PFALLER, Michael *et al.* Collaborative Investigation of Variables in Susceptibility Testing of Yeasts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 34, no.9, pags. 1648-1654, 1990.

PHAM, David *et al.* Molecular Diagnostics for Invasive Fungal Diseases: Current and Future Approaches. *Journal of Fungi*, vol. 10, no. 447, 2024.

PIASECKI, Maizah. Epidemiologia das doenças fúngicas invasivas em um hospital geral de Passo Fundo - RS. Universidade Federal da Fronteira Sul, 2019.

PIGATTO, Gabriela *et al.* Prevalência de infecções fúngicas em um laboratório de análises clínicas da cidade de Veranópolis, Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 2018.

RAMAKRISHNAN, Balasubramanian *et al.* Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? *Science of The Total Environment*, vol, 654, pags. 177-189, 2019.

RHIJN, Norman van e BROMLEY, Michael. The Consequences of Our Changing Environment on Life Threatening and Debilitating Fungal Diseases in Humans. *Journal of Fungi*, vol. 7, no. 5, 2021.

RODRIGUES, Marcelo *et al.* Resistance of filamental fungi in opportunistic mycoses: literature review. *Research, Society and Development*, vol. 11, no. 4, 2022.

ROMÁN-MONTEZ, Carla; SIFUENTES-OSORNIO, José e MARTÍNEZ-GAMBOA, Areli. Cutaneous Infections by *Geotrichum* spp. *Current Fungal Infection Reports*, vol. 18, pags. 60–68, 2024.

RUIZ, Luciana e PEREIRA, Virgínia. Importância dos fungos no ambiente hospitalar. Instituto Adolfo Lutz, 2016.

SAL, Ertan *et al.* Invasive *Trichoderma* spp. infections: clinical presentation and outcome of cases from the literature and the FungiScope registry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 77, no. 10, pags. 2850–2858, 2022.

SALZER, Helmut *et al.* Diagnosis and Management of Systemic Endemic Mycoses Causing Pulmonary Disease. *Respiration*, vol. 96, no. 3, pags. 283–301, 2018.

SAMROT, Antony *et al.* Sources of Antibiotic Contamination in Wastewater and Approaches to Their Removal -s An Overview. *Sustainability*, vol. 15, no. 12639, 2023.

SANDOVAL-DENIS, Marcelo *et al.* Phylogeny of the Clinically Relevant Species of the Emerging Fungus *Trichoderma* and Their Antifungal Susceptibilities. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 52, no. 6, 2014.

SANTOS, Elisandro dos. Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos. Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

SANTOS, Uener e SANTOS, Jane. *Trichoderma* after crossing kingdoms: infections in human populations. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, vol. 26, no. 2, 2023.

SCHNEIDER, Eileen *et al.* A Coccidioidomycosis Outbreak Following the Northridge, Calif, Earthquake. *Jama Network*, vol. 277, no. 11, pags. 904-908, 1997.

Secretaria de Saúde do Distrito Federal (SES-DF). Protocolo Clínico para Uso de Anfotericina B. Comissão Permanente de Protocolos de Atenção à Saúde da SES-DF (CPPAS), 2018.

SERAPICOS, Eduarda Sofia. Prevalência de resistência a antibióticos, metais e desinfetantes em isolados de *Staphylococcus* provenientes de uma ETAR municipal. Universidade do Porto, 2008.

SHEN, Xing-Xing *et al.* Genome-scale phylogeny and contrasting modes of genome evolution in the fungal phylum Ascomycota. *Science Advances*, vol. 6, 2020.

SILVESTRE, Ellen e QUEIROZ-FERNANDES, Geisiany. Fungos dermatófitos e resistência a antifúngicos. *Interamerican Journal of Medicine and Health*, vol. 4, pags. 1-11, 2021.

SNELDERS, Eveline *et al.* Emergence of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* and Spread of a Single Resistance Mechanism. *Journal Plos Medicine*, 2008.

SOOD, Monika *et al.* Trichoderma: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants*, vol. 9, no. 762, 2020.

SPATAFORA, Joseph W. *et al.* The Fungal Tree of Life: from Molecular Systematics to Genome-Scale Phylogenies. *ASM Journals, Microbiology Spectrum*, vol. 5, no. 5, 2017.

SUEHARA, Marcelo e SILVA, Mayara. Prevalence of airborne fungi in Brazil and correlations with respiratory diseases and fungal infections. *Ciência & Saúde Coletiva*, vol. 28, no. 11, pags. 3289-3300, 2023.

TALHARI, Carolina *et al.* Lobomycose. *Anais Brasileiro de Dermatologia*, vol. 89, no. 2, 2010.

TURDA, Constanta. *Geotrichum* infecciu, clinical significance. *Anais da Universidade de Oradea, Fascículo: Ecotoxicologia, Pecuária e Tecnologias da Indústria Alimentar*, vol. 12/B, 2013.

TSHISEVHE, Vhudzani; MITTON, Barend e SKOSANA, Lebogang. Invasive *Geotrichum klebahnii* fungal infection: A case report. *Acess Microbiology*, 2021.

VAHEDI-SHAHANDASHTI, Roya; STUBENBOCK, Melaine e LASS-FLORL, Cornelia. The Influence of Medium Composition on EUCAST and Etest Antifungal Susceptibility Testing. *Journal of Fungi*, vol. 9, no. 10, 2023.

WIEDERHOLD, Nathan. The antifungal arsenal: alternative drugs and future targets. *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 51, no. 3, pags. 333-339, 2018.

WINSKI, Cristopher *et al.* An Atypical ABC Transporter Is Involved in Antifungal Resistance and Host Interactions in the Pathogenic Fungus *Cryptococcus neoformans*. *American Society for Microbiology*, vol. 13, no. 4, 2022.

World Health Organization (WHO). Action against antimicrobial resistance and fungal infections, 2024. Disponível em: <<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379434/WHO-EURO-2024-10864-50636-76606-eng.pdf?sequence=1>>. Acesso em 07 de fevereiro de 2025.

World Health Organization (WHO). Global research agenda for antimicrobial resistance in human health, 2025. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240102309>>. Acesso em 07 de fevereiro de 2025.

World Health Organization (WHO). Action against antimicrobial resistance requires a One Health approach, 2024. Disponível em: <<https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2024-9510-49282-73655>>. Acesso em: 03 de março de 2025.

World Meteorological Organization (WMO). January 2025 sees record global temperatures despite La Niña, 2025. Disponível em: <<https://wmo.int/media/news/january-2025-sees-record-global-temperatures-despite-la-nina>>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2025.

WU, Bing *et al.* Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. *Mycology: An International Journal of Fungal Biology*, vol. 10, no. 3, pags. 127–140, 2019.